



Escuela de Postgrado

CARACTERIZACIÓN DE
EFLUENTES DE CERDOS, CON ÉNFASIS
EN SU BIODEGRADABILIDAD
ANAERÓBICA

TESIS PRESENTADA
PARA EL CUMPLIMIENTO PARCIAL DE
LOS REQUERIMIENTOS PARA EL TÍTULO DE MAGISTER EN GESTIÓN AMBIENTAL

Tesista
María Eugenia Beily
Licenciada en Ciencias Ambientales

Tutor
Ing. Quím. Daniel Pelizzari

Co Tutor
Ing. Agr. Diana Crespo

Director de Carrera: Ing. Quím. Julio Torti

Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Fecha (Septiembre de 2015)

ÍNDICE

| | |
|--|-----------|
| DEDICATORIA | 5 |
| AGRADECIMIENTOS..... | 6 |
| RESUMEN | 8 |
| ABSTRACT..... | 10 |
| 1 INTRODUCCIÓN..... | 12 |
| 1.1 Producción de Cerdos | 12 |
| 1.1.1 Producción de Cerdos a Nivel Mundial | 12 |
| 1.1.2 Producción de Cerdos a Nivel Nacional | 13 |
| 1.2 Problemática Ambiental de los Efluentes Provenientes de Producciones Ganaderas Intensivas | 20 |
| 1.2.1 Efluentes Porcinos | 21 |
| 1.2.2 Caracterización de los Efluentes Generados en Explotaciones de Cerdos en Confinamiento | 22 |
| 1.2.3 Impacto de los Efluentes de Establecimientos de Producción Porcina en el Medio Ambiente y la Salud Humana | 23 |
| 1.2.4 Tratamientos de los Efluentes Porcinos en la Argentina | 28 |
| 1.3 Digestión Anaeróbica | 29 |
| 1.3.1 Biodegradabilidad Anaeróbica y Potencial Metanogénico | 32 |
| 1.3.2 Actividad Metanogénica Específica (AME)..... | 33 |

| | | |
|------------|--|-----------|
| 2 | HIPÓTESIS Y OBJETIVOS..... | 35 |
| 2.1 | Hipótesis | 35 |
| 2.2 | Objetivo general..... | 35 |
| 2.2.1 | Objetivos específicos | 35 |
| 3 | ESTADO DE LA TECNOLOGÍA | 37 |
| 4 | MATERIALES Y MÉTODOS | 40 |
| 4.1 | Metodología..... | 40 |
| 4.2 | Localización del Área de Estudio | 40 |
| 4.3 | Descripción del Multiplicador Genético | 41 |
| 4.3.1 | Galpón de Post – destete | 43 |
| 4.3.2 | Galpón de Recría y Terminación | 45 |
| 4.4 | Toma de Muestra..... | 48 |
| 4.5 | Caracterización de los Efluentes | 49 |
| 4.5.1 | Métodos Analíticos..... | 50 |
| 4.6 | ENSAYO DE BIODEGRADABILIDAD Y ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA. | 70 |
| 4.6.1 | Biodegradabilidad anaeróbica: | 70 |
| 4.6.2 | Desarrollo y Seguimiento del Ensayo de Biodegradabilidad..... | 81 |
| 4.7 | Análisis Estadístico | 83 |
| 5 | RESULTADOS | 84 |

| | | |
|------------|--|------------|
| 5.1 | Resultados Caracterización | 84 |
| 5.1.1 | Parámetros Físico Químicos | 84 |
| 5.1.2 | Microbiológico y Parasitológico..... | 92 |
| 5.1.3 | Ecotoxicidad | 94 |
| 5.2 | Verificación del Inóculo: Ensayo de Actividad Metanogénica | 99 |
| 5.3 | Ensayos de Biodegradabilidad | 103 |
| 5.3.1 | Evolución de los Parámetros Físico Químicos | 105 |
| 5.3.2 | Remoción de Materia Orgánica | 111 |
| 5.3.3 | Producción de Biogás y Metano | 112 |
| 6 | CONCLUSIONES | 120 |
| 7 | BIBLIOGRAFÍA | 123 |
| 8 | ANEXO I. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN SPERMAN | 135 |
| 9 | ANEXO II. CÁLCULOS UTILIZADOS PARA LA ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA | 146 |
| 10 | ANEXO III. PKA..... | 149 |
| 11 | GLOSARIO..... | 150 |

DEDICATORIA

*A mis papás,
a mi abuela Toly,
a Nicolás
y a mis hijos Catalina y Francisco.*

AGRADECIMIENTOS

Quisiera comenzar agradeciendo al proyecto “Tecnologías y estrategias de gestión de residuos y efluentes en sistemas agropecuarios y agroindustriales” del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), por el aporte financiero que realizó para poder realizar este trabajo de investigación. A mi tutor, Daniel Pelizzari, por su apoyo y sus continuos aportes. A Diana Crespo, quien como jefa del laboratorio, siempre me apoyo para que nunca me falten los recursos para trabajar y por su gran apoyo en la parte técnica. A los profesionales de la EEA Marcos Juárez, Jorge Brunori, Raúl Franco y Dario Panichelli, quienes me permitieron ingresar a la EEA y me enviaron muestras cada vez que lo necesite. A la Ing. Agrónoma Adriana de Caro de la Universidad de Morón, quien me permitió cursar una materia referida a la gestión de cerdos y así poder profundizar mi conocimiento sobre esta producción y también por acercarme material bibliográfico, para realizar esta tesis. Al Ing. Guillermo Cannizzaro, por sus aportes en la parte técnica. A la gente del laboratorio ALARALAB, quienes realizaron todos los análisis cromatográficos que necesité para el desarrollo de la parte experimental y además por estar siempre dispuestos a ayudarme. A mis compañeros del laboratorio, por el aguante, en especial no quiero olvidarme de agradecer a Luis, por trabajar conmigo a la par durante la etapa de caracterización de los efluentes; a Brian y Nicolás por realizar las mediciones ecotoxicológicas. A Cris y Marcos, porque más de una vez me salvaron llevándome muestras o trayéndomelas al laboratorio. A la nueva incorporación del laboratorio, Matute, por darme una mano gigante en las medición de los últimos ensayos. A Patricia Bres, mi *coequiper*, con quien comparto ensayos, discutimos teorías. Gracias por compartir fines de semanas y feriados juntas largando

ensayos, a veces sintiéndonos frustradas por no conseguir resultados y otras cuantas felices de los logros obtenidos. A Lore por darme una mano gigante en la compaginación de este trabajo y siempre encontrarme “el *paper*” que buscaba. A Vir y Gaby, por ayudarme a realizar los análisis estadísticos. A mi familia, en especial no quiero dejar de mencionar, a mis papás Lina y Alejandro, y a mis abuelos Toly y Oscar, quienes con sus consejos y ejemplo, me enseñaron lo valioso de luchar y trabajar para conseguir lo que uno quiere, sin importar lo que cueste y tardemos en lograrlo. Por último y no menos importante a mis 3 amores, Nicolás, Catita y Fran, a ellos simplemente decirles gracias por ser parte de mi vida. Los Amo!!!

RESUMEN

La gestión de los residuos líquidos en producciones confinadas de cerdos adquiere cada día mayor relevancia ambiental. Los efectos de la intensificación de la producción se magnifican con el aumento de los volúmenes generados, la proliferación de vectores, la emisión de olores desagradables y la contaminación puntual de los recursos naturales. La digestión anaeróbica de efluentes de cerdos, puede ser una herramienta adecuada para integrar a la cadena de tratamiento, removiendo parcialmente la materia orgánica y lograr la valorización de los mismos. El objetivo de este trabajo, fue determinar las características y evaluar la biodegradabilidad anaeróbica de los efluentes porcinos provenientes de sistemas en confinamiento de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) de Marcos Juárez, del INTA, ubicada en el sur de la provincia de Córdoba. Para ello, se efectuaron muestreos de los efluentes generados en dos galpones intensificados, teniendo éstos distinto tipo de manejo de los efluentes. El ensayo de biodegradabilidad, consistió en la fermentación anaeróbica de los efluentes de cerdos generados en el galpón de recría/terminación, con cantidades conocidas de inóculo (actividad metanogénica específica de 0.08 gDQO/gSSV*d y 24.4 g/l de SSV), en batch. El sustrato se trató con dos relaciones sustrato/inóculo (S/I) iniciales diferentes. El tratamiento 1 (T1) tuvo una relación S/I de 0.6 de gr DQO/ gr de SSV, y el tratamiento 2 (T2) mantuvo una de 0.37 gr DQO/ gr de SSV. Se determinaron al inicio y final de cada ensayo parámetros físico químicos para el control del proceso. El volumen de biogás generado diariamente fue medido por un transductor de presión y la calidad fue determinada por cromatografía gaseosa. El pH se mantuvo dentro del rango óptimo para el desarrollo de las bacterias anaeróbicas; mostrando un aumento al final del ensayo para ambos tratamientos. Este aumento fue acorde con el aumento de la

alcalinidad total (AT) y la disminución de los ácidos grasos volátiles (AGV). El indicador de estabilidad AGV/AT, se mantuvo dentro del rango de 0,3 – 0,4, indicando condiciones estables del proceso. Se observó un aumento en el contenido de nitrógeno total Kjeldah (NTK) y nitrógeno amoniacal (N-NH_4^+) al final del proceso, debido a la mineralización del nitrógeno orgánico mediante la hidrólisis enzimática de las proteínas. Los valores obtenidos de amoniacal libre (FAN) fueron de 0,035 gNH_3/l para T1 y de 0,019 gNH_3/l para T2. En lo que respecta a la materia orgánica, los porcentajes de remoción de DQO fueron de 38,28% y 41,46% para T1 y T2 respectivamente, mostrando diferencia significativa entre los tratamientos. Para la producción de metano acumulado (CH_4), los tratamientos no presentaron diferencia significativa. Sin embargo al analizar el Potencial Bioquímico de Metano (BMP) éste fue de 53.3 y de 65.6 $\text{ml CH}_4/\text{g DQOc}$, para T1 y T2 respectivamente, mostrando el T2 una mejor performance. Este resultado, está en concordancia con los porcentajes de remoción de la materia orgánica en donde el T2 presentó mayores porcentajes de remoción, esto podría deberse al efecto de dilución del sustrato, donde las concentraciones de compuestos inhibidores del proceso fueron menores ($\text{T2} \leq \text{FAN}$ y TAN que T1).

ABSTRACT

Nowadays the management of pig slurry is becoming more important. The effects of the intense production is magnified by the increasing volumes of manure, proliferation of vectors, the emission of unpleasant odors and pollution of natural resources. Anaerobic digestion of pig slurries could be integrated as an important step of a waste treatment plant, removing organic matter. The aim of this investigation was to study the composition and biodegradability of pig slurry from confined systems located in Agricultural Experimental Station (EEA) of Marcos Juarez (INTA), Cordoba. To do this, pig slurries were taken from two different sheds, with different effluent management. The trial consisted on anaerobic fermentation of pig slurry, from recría/terminación shed, with known amounts of inoculum (0.08 specific methanogenic activity 0.08 gCOD/gVSS*d and 24.4 g VSS/ L). Two treatments with different ratios of I/S (inoculum/substrate) were prepared in batch reactors. Treatment 1 (T1) had a ratio I/S of 0.6 gr COD/ gr de VSS, and treatment 2 (T2) 0.37 gr COD/grVSS. They were determined at the beginning and end of the trial, physical chemical parameters, for process control. Biogas production was determined daily by manometric methods. Methane concentration was measured using gas chromatography. The pH was maintained within the optimum range for the development of anaerobic bacteria; showing an increase at the end of the trial for both treatments. This increase was consistent with the increase of total alkalinity (TA) and the decrease of volatile fatty acid (VFA). Stability index (VFA/TA) was maintained in the range of 0.3 to 0.4. This value indicates stable anaerobic process conditions. At the end of the assay an increase was observed in the content of total Kjeldal nitrogen (TKN) and total ammonia nitrogen (TAN), due the mineralization of organic nitrogen by enzymatic hydrolysis of proteins.

At the beginning of the assay, free ammonia concentrations (FAN) were 0.035 and 0.018 gNH₃/L for T1 and T2 respectively. The chemical oxygen demand (COD) removal percentages were 38.28% and 41.46% for T1 y T2 respectively, showing significant difference. Accumulate methane production did not show significant difference. However, biochemical methane production (BMP) showed a better performance for T2 (53.3 and 65.6 ml CH₄/g COD for T1 and T2 respectively). These results were in concordance with organic matter removal, found in T2. These results can be associated with the dilution effect of the substrate, where concentrations of inhibitor compound were lower (T2≤FAN and TAN T1).

1 INTRODUCCIÓN

La ganadería porcina es la cría de dicho ganado para el aprovechamiento, principalmente de su carne, entre otros productos derivados. El destino de la producción es el consumo fresco (lechón y cortes de capones y hembras sin servicio) y la elaboración de chacinados, embutidos, no embutidos y salazones.

1.1 Producción de Cerdos

1.1.1 Producción de Cerdos a Nivel Mundial

La carne porcina es, en relación a las otras, la más consumida del mundo. En el año 2009, se consumieron 56.1 millones de toneladas de carne bovina por año, 76.1 millones de carne de aves y 100 millones de carne porcina. De esta forma, el 43.2% del total de carne consumida en el mundo es de cerdo. El consumo promedio mundial por habitante es de 15.9 kilos. El principal productor y consumidor mundial de carne de cerdo es China, le siguen la Unión Europea, Estados Unidos y Brasil. (IERAL Fundación Mediterránea, 2011).

Según la Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO), las proyecciones de consumo mundial de carnes, posicionan a la porcina, con un crecimiento intermedio entre la aviar y la vacuna (Tabla 1). Este crecimiento se ve diferenciado según el nivel, entre países desarrollados pertenecientes a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) y aquellos en vías de desarrollo (países no-OECD).

Tabla 1: Proyecciones de crecimiento anual del consumo de carne vacuna, porcina y aviar a nivel mundial 2010 - 2020

| | OECD | No-OECD | Total |
|----------------|-------------|----------------|--------------|
| Vacuna | 0,5% | 2,2% | 1,5% |
| Porcina | 0,7% | 2,3% | 1,8% |
| Aves | 1,4% | 2,9% | 2,4% |

Fuente: IERAL de Fundación Mediterránea (2011) en base a datos de OECD/FAO.

El Grupo de Intercambio Tecnológico de Explotaciones Porcinas (GITEP), indica que la carne de cerdos supera el 45% en la participación general de carnes consumidas en el mundo, con un aumento constante de 2 – 2.5% anual, garantizando su liderazgo por muchos años más (GITEP, 2006).

La FAO proyecta a China como un potencial importador de carne de cerdo, para los próximos años, con una tasa de crecimiento promedio anual del 9.7%, para el período 2010/2020. El elevado consumo en ese país, junto a ciertas desventajas ambientales y sanitarias, para encarar la producción interna (baja de agua potable y presencia de enfermedades animales como la aftosa, entre otras), posiciona a la Argentina, como un país de alto potencial para la exportación de estas carnes.

1.1.2 Producción de Cerdos a Nivel Nacional

En la Argentina, la producción de cerdos se inició y se desarrolló como un complemento de la actividad agrícola, siendo una actividad secundaria dentro de las

explotaciones agropecuarias, situadas esencialmente en el núcleo maicero. Vicari (2012) describió en detalle el crecimiento de este sistema de producción y su crecimiento en la Argentina que, en sus comienzos, estaban a cargo de pequeños productores que necesitaban incrementar sus ingresos, logrando dicho objetivo, a través de la transformación de grano en carne. El crecimiento de este sector en sus inicios se llevó a cabo mediante distintos tipos de explotaciones, mayoritariamente, en sistemas extensivos de producción que permitieron el crecimiento sostenido de la población porcina llegando a 8.000.000 de cabezas en la década del 40. Entre la década del 40 y el comienzo de la década de los 90, la producción fue sostenida. A partir de los '90, con la convertibilidad y la apertura de la economía, los cambios macroeconómicos afectaron a muchas actividades productivas, siendo dentro del sector agropecuario, la actividad porcina una de las más perjudicadas. Algunos indicadores que evidenciaron esta crisis productiva en el sector, fueron: una drástica disminución del stock y un fuerte aumento de las importaciones. Luego de la devaluación de la moneda ocurrida en el 2002, las condiciones macroeconómicas para la producción porcina mejoraron considerablemente, especialmente, por el encarecimiento del cerdo importado y el mejoramiento de los precios internos en términos reales. Esto permitió que, en los años siguientes, se vislumbrara una clara recuperación de la actividad porcina, con un crecimiento sostenido.

Según los indicadores de la actividad, la misma mostró un crecimiento durante el período de 2001 – 2009, en lo que respecta a la Faena (cabezas) de 26.47%; la exportación (Tn) 69.64 % y el consumo (Tn) un 14.63 % (MAGyP, 2010).

1.1.2.1 Situación Actual

Casi el 70 % de la producción de cerdos coincide con las principales provincias graneras, Buenos Aires, Córdoba y Santa Fe. De acuerdo con el relevamiento que realiza el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) se distribuyen según la Figura 1

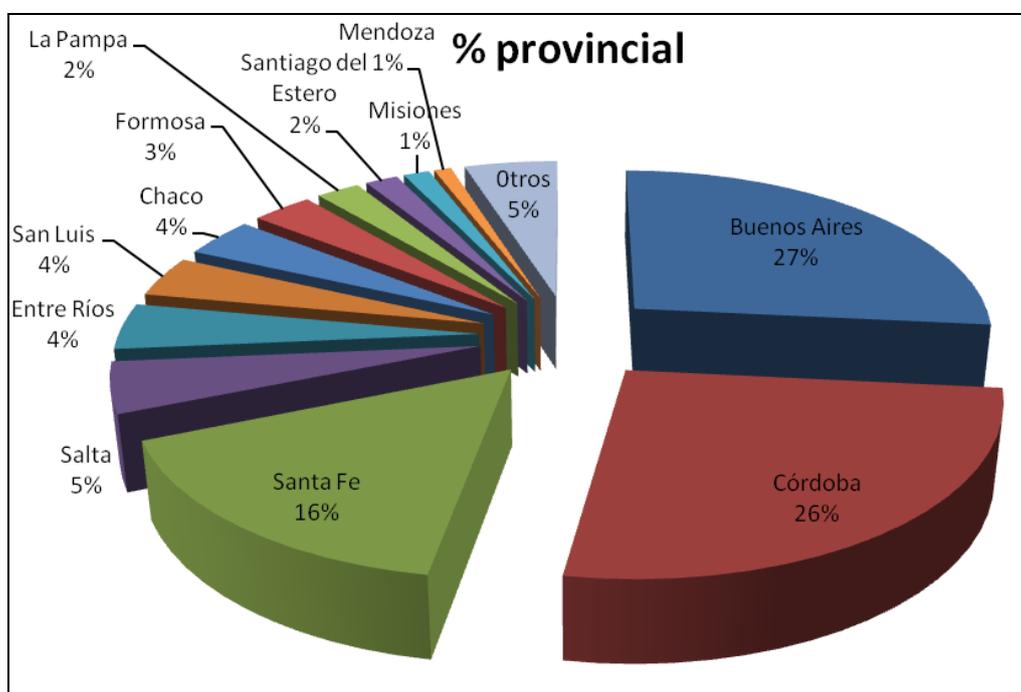


Figura 1: Distribución porcentual por provincias 2010

Fuente: Área Porcinos. Dirección de Ovinos, Porcinos, Aves de granja y pequeños rumiantes con datos de SENASA.

La cantidad total de animales por establecimiento se calcula como el número de madres existentes multiplicado por 10. La Tabla 2 muestra la distribución del stock porcino en función del número de madres presentes.

Tabla 2: Distribución del stock porcino en función al número de madres presentes

| Tipo de establecimiento según el número de madres | | | | | | |
|--|-------|--------|----------|-----------|------------|--------|
| | Total | 1 a 50 | 51 a 200 | 201 a 500 | 501 a 1000 | ≥ 1000 |
| N° de Productores | 8169 | 6430 | 1501 | 185 | 28 | 25 |
| % en el total | 100 | 78.71 | 18,37 | 2.26 | 0.34 | 0.31 |

Fuente: Anuario 2008 (GITEP)

Si bien los sistemas de producción de pequeña y mediana escala productiva (10 a 200 madres) son los que prevalecen en el país, se ha producido un importante aumento en el número de productores que a partir de estratos de 100 madres han confinado parte o totalmente sus animales (Brunori, 2012).

1.1.2.2 Sistemas de Producción de Cerdos Utilizados en la Argentina: Sistemas Extensivos, Mixtos y Confinados

Los sistemas extensivos, también llamados a campo, son aquellos en los que los cerdos son producidos en corrales al aire libre con pasturas, bebederos y refugios. Su alimentación se basa principalmente en pasturas suplementadas con granos. Son sistemas con baja inversión por hectárea.

Sistemas confinados, también llamados intensivos, son aquellos establecimientos en donde se procede al confinamiento de los animales durante todo su ciclo productivo. Este tipo de sistemas, tiene como objetivo utilizar la menor área posible, debiendo para esto, realizar una gran inversión en capital y mano de obra. La alimentación de los cerdos en este tipo de producción es a base de granos.

Dentro de los sistemas confinados, puede realizarse una división en tres tipos de instalaciones:

- Instalaciones techadas con piso de concreto: son pisos con una pendiente de 1 a 1.5 cm, hacia un canal poco profundo para la recolección del efluente (mezcla de purín, con agua de lavado). Aquí la limpieza es realizada diariamente con agua.



Figura 2: Instalaciones techadas con piso de concreto. EEA Marcos Juárez–INTA

- Instalaciones techadas con material de cama, como virutas o aserrín de madera o paja, colocados sobre un piso de tierra. Este tipo de sistema es llamado también como cama profunda, y aquí el purín (mezcla de estiércol y orina) es recolectado en forma de sólido, ya que el material de cama queda impregnado con el purín del animal.



Figura 3: Instalaciones techada con material de cama. EEA Marcos Juárez-INTA

- Instalaciones techadas con piso ranurado, en estas instalaciones los ambientes están controlados por sistemas mecánicos o por ventilación natural, con la superficie del piso parcial o totalmente enrejada, situada sobre canales o fosas de recolección del purín. El purín es recolectado de la fosa con poca frecuencia (semanal, quincenal, mensual dependiendo del tamaño y forma de manejo del establecimiento) (FAO, 2012).



Figura 4: Instalaciones techadas con piso ranurado

Sistemas mixtos: Este sistema consiste en la combinación estratégica de las características de los sistemas extensivos y en confinamiento, con el objetivo de aprovechar racional y económicamente la superficie disponible ofreciendo a los animales las condiciones apropiadas de manejo (Vicari, 2012).

En la Argentina la forma de producción más frecuente es el sistema mixto (46%), le sigue la confinada (32%) y al aire libre (22%). (GITEP, 2006).

1.2 Problemática Ambiental de los Efluentes Provenientes de Producciones Ganaderas Intensivas

Hasta la década de los 80, la ganadería tradicional implicaba una estrecha interrelación entre el ganado y la actividad agrícola. El manejo agronómico, en la región pampeana, estaba basado en la rotación de silvo-agrícola-pastoril, una estrategia eficaz para conservar la fertilidad de los suelos, sostener la biodiversidad de los agroecosistemas y evitar la degradación del paisaje rural en su conjunto.

Los efluentes generados en las producciones animales no constituían un factor preocupante, ya que la naturaleza de las explotaciones a campo y la reducida concentración de animales por unidad de superficie, permitían absorberlos o utilizarlos como abono orgánico sin que constituyeran un problema (GITEP, 2006). El desarrollo de la agricultura moderna, mejoró la eficiencia económica de la producción actual, llevando a su especialización, la consecuencia directa fue la separación de la ganadería de la agricultura (proceso de agriculturización). Actualmente, se observa un aumento de los volúmenes de efluentes generados dado por un aumento en el número de animales y una mayor intensificación de los sistemas productivos, generando problemas de contaminación ambiental, de almacenamiento, distribución y manejo, y aumentando los costos operacionales. Este nuevo paradigma en el manejo de los sistemas de producción conlleva, a la utilización intensiva de agua, fertilizantes inorgánicos y de otros insumos como los agroquímicos específicos (herbicidas e insecticidas), para el “sostenimiento” de los cultivos. Por su lado, la producción ganadera, se pudo sostener en los sitios donde existía una suerte de incertidumbre o marginalidad para la producción agrícola intensiva. Mientras tanto, la ganadería, sufrió en algunos casos una fuerte reducción del

número de cabezas/establecimiento (liquidación de stock) y en otros casos, se replantearon la forma de manejo, cambiando los sistemas de alojamientos y de alimentación, con el fin de lograr el confinamiento de los animales en galpones emplazados en superficies reducidas y cercanas a los periurbanos (Crespo *et al.*, 1998)

Esta suerte de industrialización, tiene su antecedente en las producciones europeas y americanas, a sabiendas que las inversiones dentro de los establecimientos y de infraestructura rural, no estaban dadas en la Argentina y que, en consecuencia, podrían generarse conflictos ambientales, sanitarios y de sensibilidad social, los cuales hoy están presentes en los sitios cercanos a estos esquemas de producción. Las externalidades de estos sistemas: olores, plagas y contaminación, se perciben como una amenaza para la biodiversidad, con fuerte alteración del paisaje rural, en un marco regulatorio confuso y dispar que no acompaña la realidad actual (Martínez Almela, 2000; Crespo *et al.*, 2002; Crespo & Lecuona, 2002). La cercanía de estas granjas a los periurbanos, está generando conflictos de intereses, ya que no se gestionan apropiadamente el flujo de desechos de los establecimientos sin riesgo de generar más contaminación puntual y conflictos en la salud del ambiente y sobre los periurbanos cercanos. El estiércol, en grandes cantidades, pasó de ser un abono natural a considerarse un residuo con riesgo ambiental.

1.2.1 Efluentes Porcinos

La concentración de elementos y el volumen promedio del purín (orín + heces) que produce un cerdo/día es el 7% del peso vivo del animal, siendo un promedio de 7 litros/día; diversos factores como la raza, la edad, el estado fisiológico, la dieta a la que

son sometidos y la época del año, pueden modificar estos valores. (Expósito Vélez, 2004).

En los sistemas confinados, el agua de lavado se suma a la del purín (efluente) y varía dependiendo de la eficiencia en la gestión del uso del agua del establecimiento. En la bibliografía, se mencionan relaciones de 1:6 a 1:18 litros de agua de lavado/litro de purín. El productor puede obtener esta relación en base al gasto promedio de agua mensual o bien preestablecer la relación de forma estimativa (Millares, 2011).

Actualmente, se estima en la Argentina, que existen 1.345.500 animales en confinamiento, considerando que en promedio un cerdo genera 20 litros de efluente diario; entonces se puede concluir que se producen en el país un total 26.910.000 l/día de efluentes. Cabe aclarar que este cálculo no contempla aquellas cabezas que se encuentran bajo sistemas de producción mixtos en los cuales, durante alguna de las etapas de producción, se generan efluentes, ya que no se conoce exactamente el dato de la proporción de animales bajo este sistema. En caso de tener en cuenta estos animales, la producción de efluentes sería aún mayor (GITEP, 2012; Vicari, 2012).

1.2.2 Caracterización de los Efluentes Generados en Explotaciones de Cerdos en Confinamiento

El purín es un material no estéril, generalmente básico y bastante salino. Posee cantidades importantes de hidratos de carbono, lípidos, aminoácidos, proteínas, urea y compuestos azufrados, así como contenidos elevados de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y sodio. También contiene micronutrientes como hierro (Fe), cinc

(Zn), cobre (Cu) y manganeso (Mn), a la vez que cantidades trazas de elementos tóxicos como cadmio (Cd), plomo (Pb), arsénico (As) o mercurio (Hg) (Plaza *et al.*, 1999).

1.2.3 Impacto de los Efluentes de Establecimientos de Producción Porcina en el Medio Ambiente y la Salud Humana

1.2.3.1 Contaminación de los Recursos Naturales

Si bien la digestión anaeróbica no modifica muchos de los contaminantes mencionados en esta sección, se ha decidido mencionarlos e incluirlos en la caracterización efectuada como un modo de tener un panorama acabado de estos residuos y generar datos para quién continúe integrando otros eslabones de la cadena para su tratamiento/ disposición

La contaminación del agua involucra a aquellos procesos que deterioran de forma apreciable su calidad física, química y microbiológica de la misma. Algunos de los contaminantes que alteran la calidad del agua son el nitrógeno (N), fósforo (P), los metales pesados, y se agregan microorganismos patógenos, hormonas y drogas de uso veterinario (Herrero & Gil, 2008,).

En las aguas subterráneas, la afección no se produce tanto por la alta carga contaminante de naturaleza orgánica, ya que gran parte se elimina por el efecto de filtrado y efecto autodepurador del suelo que lo asimila; como por la alta concentración de materia nitrogenada, que aunque lentamente, pueden llegar a elevar la concentración de nitratos (NO_3^-) hasta límites inaceptables para los diferentes usos posteriores que se quiera dar al agua. La aplicación de los efluentes porcinos crudos sobre el terreno puede

elegir en las aguas subterráneas la concentración de otros elementos contaminantes contenidos en los efluentes como el Cu, Fe u otros metales, o como el P y potasio (K), con el consiguiente perjuicio para su calidad (Expósito Vélez, 2004)

El P, en forma de fosfatos, es uno de los contaminantes más frecuentes de aguas superficiales y su fuente principal son los fertilizantes y los desechos animales. Su llegada por escurrimiento produce eutroficación del ecosistema acuático superficial, lo que disminuye la concentración de oxígeno y provoca la mortalidad de peces. El P es poco frecuente como contaminante del agua subterránea, ya que los fosfatos se fijan a las partículas coloidales del suelo. Sin embargo, estudios recientes muestran que debido al exceso en la aplicación de efluentes crudos y el uso indiscriminado de fertilizantes, el P puede llegar a valores de 7 ppm en aguas subterráneas (Herrero & Gil, 2008).

La presencia de altas concentraciones de Cu, Fe y otros elementos potencialmente tóxicos (EPs) en los efluentes provenientes de las producciones ganaderas, tienen su origen en la nutrición ofrecida a los animales (alimento balanceado) y en la intervención con medicamentos de uso veterinarios. Estos elementos pueden generar una contaminación no despreciable, teniendo en cuenta su carácter bioacumulable con efectos negativos para la fauna piscícola o para cualquier uso posterior del agua. (Expósito Vélez, 2004).

Los efluentes de origen ganadero contienen distintos tipos de microorganismos que pueden alcanzar las aguas superficiales y subterráneas. No obstante, muchos de los organismos que causan enfermedades no persisten por tiempos apreciables en el suelo, debido a las condiciones ambientales desfavorables (Tabla 3). (Herrero & Gil, 2008).

Los quistes de parásitos y los virus no se reproducen fuera de un huésped, sin embargo, pueden sobrevivir largo tiempo en el ambiente (Freitas & Burr, 1996).

Tabla 3: Supervivencia de patógenos en heces y suelo. *Supervivencia expresa en días

| Patógeno | Supervivencia en heces * | Supervivencia en suelos * |
|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| <i>Salmonella</i> sp. | 165 – 190 | <60 – 380 |
| <i>Escherichia coli</i> | 70 | 45 – 400 |
| <i>Campilobacter</i> sp. | 1 | s/d |
| <i>Brucella</i> sp. | 30 | 125 |
| <i>Listeria</i> sp. | 100 – 500 | 350 |
| <i>Streptococci</i> sp. | 170 | 60 |

Fuente: Burton & Turner, 2003

Los grandes volúmenes de efluentes porcinos producidos en criaderos confinados pueden producir alteraciones en el ambiente animal y humano, por lo que se ha estudiado la contaminación producida por coliformes totales, coliformes fecales, clostridio sulfito reductora y salmonella. En cerdos, una abundante flora bacteriana coloniza el tracto gastrointestinal en las primeras 24 horas de vida y se excreta con las fecas, cuya microflora es prácticamente igual a la del ciego. Fueron informados niveles aproximados a 1000 coliformes totales/gr de cerdo, incrementándose al pasar los cerdos de una etapa productiva a otra y aumentar, por lo tanto, en edad y peso vivo. (Rodríguez, 2002; Rodríguez *et al.*, 1997).

Los procesos de contaminación del suelo vinculados con la producción intensiva provienen de la acumulación de purín en corrales, o bien de su aplicación excesiva como abono en los cultivos. Los principales contaminantes son el N, el P y los EPs. La acumulación de cualquiera de ellos puede afectar la calidad del suelo (Herrero & Gil, 2008).

En suelos de fertilidad normal, el elemento clave de la nutrición anual de los cultivos es el N. Por lo general, los cultivos incrementan fuertemente su producción si aportamos N. Este aumento es bueno a dosis bajas, pero a medida que aumenta la cantidad aportada, disminuye el incremento de rendimiento que se consigue, de forma que a partir de una determinada dosis no sólo no se incrementa la producción, sino que generalmente disminuye (Santos *et al.*, 2002).

El nitrógeno amoniacal contenido en los efluentes de cerdos e incorporados en el suelo se transforma en forma nítrica (NO_3). Esta forma es soluble y, por tanto, susceptible de ser absorbida por los cultivos como de ser lavada a capas profundas (lixiviados) contaminando acuíferos o cursos de agua (Santos *et al.*, 2002).

Otros elementos limitantes son el Cu y el Zn, habiéndose observado que en terrenos fertilizados durante años con efluentes porcinos crudos se incrementa su fracción asimilable. El exceso de Cu en el suelo impide el desarrollo normal de la raíz, provoca la aparición de clorosis y un escaso crecimiento vegetativo (Martínez Pereda & Carbonell, 1996).

La aplicación excesiva de efluentes porcinos, puede llevar a la formación de costras superficiales, reduciéndose la permeabilidad del suelo y, por lo tanto, favoreciéndose su erosión; como así también originar una acumulación excesiva de

sales, con efectos negativos en la estructura del suelo, y de EPs, que pueden ser tóxicos para los microorganismos del suelo (Expósito Vélez, 2004).

En cuanto a la contaminación del aire, el nitrógeno contenido en el purín se encuentra como amonio en solución (NH_4^+) y, bajo determinadas condiciones de temperatura y pH, se produce la volatilización como gas amoniacal (NH_3) y en su forma oxidada como óxidos nitrosos (NOX) (Santos *et al.*, 2002). El carbono contenido en la materia orgánica de los residuos, se volatiliza en condiciones anaeróbicas como gas metano (CH_4), este gas contribuye al efecto invernadero. Por otro lado se producen compuestos orgánicos, compuestos azufrados y aminas que generan problemas de malos olores en las zonas circundantes. Asimismo, los efluentes contienen microorganismos patógenos que pueden llegar a la atmósfera (Plaza *et al.*, 1999).

1.2.3.2 Impacto sobre la Salud Humana

Además de los impactos sobre la calidad de aire, suelo y agua, existe un impacto sobre la salud. Facultativos de la Fundación Pulgert, han puesto de relieve los problemas para la funcionalidad de los riñones al ingerir aguas con concentraciones altas de nitratos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda como valor máximo orientativo de 50 mg/L de nitratos en el agua de consumo. Sobrepasar este límite puede influir de diferentes maneras en cada persona, lo que sí se sabe es que afecta en primer lugar a los niños y, especialmente, a los lactantes. En temas gástricos, se sabe que los nitratos tienen mucho que ver con algunas afecciones (Expósito Vélez, 2004; Palau, 2000). También, los altos niveles de nitratos en el agua de bebida pueden

causar metahemoglobina (síndrome del bebé azul), cáncer, enfermedades respiratorias en humanos y abortos en ganado.

Por otro lado, se encuentran los problemas en la salud, derivados del consumo de aguas contaminadas microbiológicamente. Las personas que corren mayor riesgo son los lactantes y niños pequeños, así como las que viven en condiciones insalubres, los enfermos y los ancianos. Los síntomas pueden variar, pero generalmente incluyen diarrea, que es una de las principales causas de muerte.

1.2.4 Tratamientos de los Efluentes Porcinos en la Argentina

El manejo de los efluentes es un aspecto fundamental en la sustentabilidad ambiental de los sistemas de producción animal intensivos. El diseño de cualquier sistema de tratamiento debe considerar la cantidad de purín producido y recolectable, su concentración final en el efluente y las precipitaciones locales (Nosetti *et al.*, 2002). El tratamiento de los efluentes, en general, consiste en disminuir la carga orgánica que contienen. Los sistemas de tratamiento varían según el tipo de producción, región y país (Herrero & Gil, 2008).

En la Argentina, en porcinos, existen dos grandes grupos de sistemas: tecnificados (confinamiento en galpones total o parcial) y criaderos pequeños (a campo). En los sistemas tecnificados, con piso ranurado o cementado, los purines son retirados de los galpones mediante la limpieza por inundación o con chorros de agua; generándose en este caso un efluente semilíquido. También existe dentro de los sistemas

confinados, la cama profunda, en donde el purín generado durante la estadía de los cerdos, es retirado de forma mecánica, con pala, debido a que presenta la forma sólida.

En la Argentina, actualmente, no existen datos oficiales sobre los tratamientos que se le realizan a los residuos de cerdo previo a su disposición final. En general, se acostumbra realizar como prácticas, las lagunas de estabilización, la aplicación al suelo de efluentes crudos y tratados, el compostaje y la digestión anaeróbica.

1.3 Digestión Anaeróbica

Los sistemas de digestión anaeróbica (DA) son ampliamente utilizados para la estabilización de efluentes con altas concentraciones orgánicas. Estos sistemas proveen una ventaja sobre los sistemas aerobios, debido a que la DA, produce energía en forma de gas metano (CH_4) en lugar de consumir energía como los sistemas aerobios. Debido a la disminución de las reservas fósiles, ha crecido recientemente el interés en el desarrollo de sistemas anaeróbicos para convertir residuos orgánicos en gas metano (Owen *et al.*, 1978).

La digestión anaeróbica es un proceso microbiológico degradativo, en el cual parte de los materiales orgánicos de un sustrato es convertidos en biogás (mezcla de dióxido de carbono y metano con trazas de otros gases) por un consorcio de bacterias que son sensibles o completamente inhibidas por el oxígeno (Muñoz Valero *et al.*, 1987). Durante el proceso, se generan dos efluentes, uno gaseoso y uno líquido. El CH_4 contenido en el efluente gaseoso, puede ser utilizado para obtención de energía, reduciendo de esta manera su efecto nocivo al ambiente.

La degradación anaeróbica es un proceso complejo en el que intervienen diferentes grupos microbianos, de manera coordinada y secuencial, para transformar la materia orgánica presente en los lodos y en el medio líquido (soluble) hasta los productos finales del proceso (Figura 5).

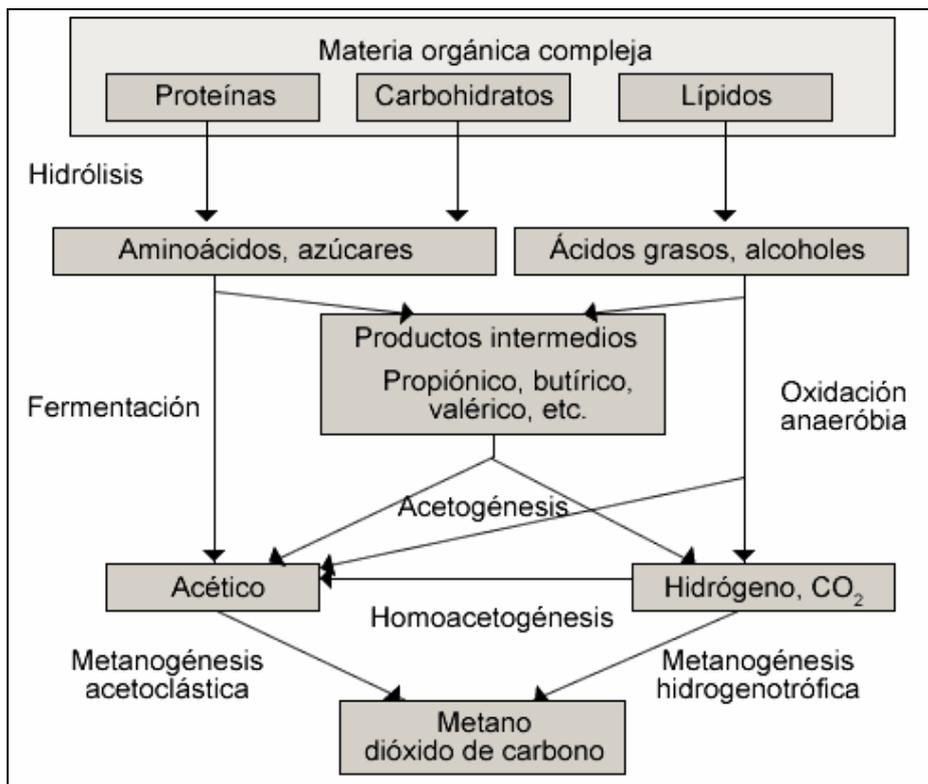


Figura 5: Esquema de reacciones de la digestión anaerobia de materiales poliméricos. (Pavlostathis & Giraldo-Gómez, 1991)

El proceso de la digestión anaeróbica puede separarse en 4 etapas, las cuales se describen a continuación (Middlebrooks *et al.*, 1982):

a) Hidrólisis: este término indica la conversión de compuestos orgánicos complejos e insolubles (lípidos, proteínas y carbohidratos) en otros compuestos más sencillos y solubles en agua. Esta etapa es fundamental para suministrar los compuestos orgánicos necesarios para la estabilización anaeróbica en forma que pueden ser utilizados por las bacterias responsables de las dos etapas siguientes.

b) Acidogénesis: los compuestos orgánicos sencillos generados en la etapa anterior son utilizados por las bacterias generadoras de ácidos. Como resultado se produce su conversión en ácidos orgánicos volátiles (acetato, propionato, butirato, etc.), alcoholes y otros subproductos importantes para etapas posteriores (amoníaco, hidrógeno y dióxido de carbono). Esta etapa la pueden llevar a cabo bacterias anaeróbicas o facultativas.

c) Acetogénesis: las bacterias acetogénicas son microorganismos que viven en estrecha colaboración con las archaeas metanogénicas. Estos microorganismos son capaces de transformar los ácidos grasos resultantes de la etapa anterior en los sustratos propios de la metanogénesis (acetato, dióxido de carbono e hidrógeno).

d) Metanogénesis: una vez que se han formado ácidos orgánicos, dos nuevas categorías de bacterias entran en acción, aquellas que convierten el acetato en metano y dióxido de carbono (acetoclásticos) y aquellas que combinan el dióxido de carbono y el hidrógeno para producir metano y agua (hidrotróficos). Esta fase de la digestión anaeróbica es fundamentalmente para conseguir la eliminación de materia orgánica, ya que los productos finales no contribuyen a la DBO ni a la DQO del medio líquido.

No todos los residuos tienen la misma capacidad para ser degradados por Digestión anaeróbica. Es importante, antes de propiciar un sistema de tratamiento

anaeróbico para un residuo determinado, caracterizarlo y evaluar su potencial metanogénico y su biodegradabilidad.

1.3.1 Biodegradabilidad Anaeróbica y Potencial Metanogénico

La biodegradabilidad es la propiedad intrínseca de una sustancia que hace referencia a la tendencia que ésta tiene en ser biológicamente degradada. Se define como sustancia biodegradable aquella que puede ser descompuesta mediante la acción de los microorganismos. La biodegradabilidad se suele expresar como el porcentaje de sustancia que es degradado en un periodo de tiempo dado, en comparación con la cantidad teórica que podría ser convertida estequiométricamente, en base a su análisis elemental (Gonçalves Ferreira, 2013).

En la práctica, los ensayos de biodegradabilidad anaeróbica, se realizan en condiciones controladas, en reactores de laboratorio en carga discontinua (sistemas en batch) inoculados con lodos anaeróbicos activos.

El potencial metanogénico (Biochemical Methane Potential – BMP) se define como la producción específica última de metano para un tiempo de degradación infinito. En la práctica el ensayo tiene una duración finita y el potencial se obtiene por la extrapolación de la curva. El BMP se suele expresar como el volumen de metano producido en condiciones normales (273°K, 1 atm) por unidad de residuo aplicado o degradado (Kg SV o Kg DQO) (Gonçalves Ferreira, 2013).

1.3.2 Actividad Metanogénica Específica (AME)

La AME puede ser definida como la capacidad máxima de producción de metano por un consorcio de microorganismos anaeróbicos por unidad de tiempo y unidad de biomasa, realizada en condiciones controladas de laboratorio, con el fin de validar la actividad bioquímica máxima de conversión de sustratos orgánicos a biogás. (Aquino *et al.*, 2007).

La AME, es un indicador de la velocidad del tratamiento anaeróbico, debido a que mide la velocidad de la fase metanogénica y, en conjunto con la cuantificación de la actividad de la biomasa, también se evalúa la capacidad metanogénica del reactor bajo ensayo. En efecto, el ensayo de AME es utilizado para calcular la máxima capacidad por unidad de tiempo y unidad de biomasa del reactor, operando en condiciones ideales, para convertir el sustrato en metano. (Souto *et al.*, 2010; Monteggia 1997). La actividad de las bacterias presentes en los lodos (biomasa), es un parámetro muy importante para ensayar la evolución del arranque (*start-up*) de un reactor anaeróbico; además determina la carga orgánica máxima para ser aplicada por unidad de tiempo y unidad de biomasa durante la operación de cualquier sistema tratamiento anaeróbico (Aquino *et al.*, 2007; Chernicharo, 1997; Souto *et al.*, 2010). Por último, los ensayos de AME son utilizados en muchas investigaciones para evaluar los efectos de toxicidad de lodos anaeróbicos. (Silva *et al.*, 2005).

Aunque la importancia del test de AME es conocida en la literatura, no existe un protocolo estandarizado para realizar la prueba. De hecho, la literatura reporta diferentes protocolos para la evaluación del AME y todos difieren entre sí en los diferentes aspectos del procedimiento, por ejemplo: tipo de agitación, temperatura, concentración

de biomasa, tipo de sustrato; como así también en la metodología para cuantificar la producción de metano (método volumétrico, cromatográfico, manométrico). Al no consensuar un único protocolo, resulta difícil poder comparar los resultados de AME entre diferentes grupos de investigación (Souto *et al.*, 2010). En este caso, para la determinación del AME del inóculo, se ha elegido trabajar con acetato de sodio como sustrato.

La Actividad Metanogénica Específica (AME) se expresa como $\text{gDQO-CH}_4/\text{g SSV.d}$, es decir la cantidad de gas metano producida por día por cada gramo de SSV presente en el medio.

2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

Los efluentes generados en las producciones de cerdos intensificadas generan problemas de contaminación ambiental, su tratamiento es necesario; existen diversas tecnologías disponibles para ser integradas en la cadena de tratamientos, entre ellas la digestión anaeróbica. La presente tesis demuestra la viabilidad técnica de la digestión anaeróbica de los efluentes provenientes en el sector de producción de cerdos intensificada, para el caso particular de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Marcos Juárez, INTA.

2.2 Objetivo general

Evaluar la aplicabilidad de la digestión anaeróbica para el tratamiento parcial de los efluentes de cerdos, partiendo del estudio de la composición físico químico, microbiológico, parasitológica y ecotoxicológica de los mismos, en el sector de producción intensificada en galpones con sistema de *full slats* de la Estación Experimental Agropecuaria de Marcos Juárez.

2.2.1 Objetivos específicos

Evaluar la composición físico química, microbiológica, parasitológica y ecotoxicológica de los efluentes generados en los galpones de post destete y en los de recría/terminación de la Estación Experimental Agropecuaria de Marcos Juárez.

Estudiar la actividad metanogénica específica del lodo seleccionado como inóculo, a fin de asegurar que sea adecuado para realizar los ensayos de biodegradabilidad anaeróbica.

Estimar la biodegradabilidad anaeróbica de los efluentes generados en los galpones de recría/terminación, utilizando dos relaciones Sustrato/ inóculo (S/I) diferentes.

3 ESTADO DE LA TECNOLOGÍA

A nivel internacional, se ha estudiado la composición de los efluentes provenientes de las producciones intensivas y extensivas de cerdos. Durante la búsqueda bibliográfica se hallaron trabajos desarrollados en E.E.U.U (Hatfield, J. *et al.*, 1998), Europa (Scotford *et al.* 1998; Martínez Suller, L *et al.*, 2008), especialmente en España (Martinez Almela, J. 2000; Santos, A. *et al.*, 2002; Sánchez, M. & González, J. 2005; Moral, R *et al.*, 2005) y algunos en Latinoamérica (González Martineaux, S. 2005; Blumetto Velazco, O., 2012; Lourenzi, C. *et al.*, 2014)

Con respecto a la Digestión anaeróbica de efluentes, se encontraron trabajos de diferentes grupos de investigación a nivel mundial. En Europa, se pueden mencionar las investigaciones desarrolladas en las Universidad de Wageningenur, en Holanda (Field, J. 1987; Koster, I. & Lettinga, G. 1984); la Universidad de Braunschweig en Alemania (Fricke *et al.*, 2007); la Universidad de Dinamarca (Hansen *et al.*, 1998); la Universidad de Lleida (Campos Pozuelo, 2001; Campos Pozuelo *et al.*, 2008), la Cádiz (Foster Carneiro *et al.*, 2008) , en España; la Universidad de Birmingham del Reino Unido (Callaghan *et al.*, 1999), entre otros. Por su lado en Asia, las universidades de Anna y Hindustan (Elango *et al.*, 2007) en la India, las Universidades Hunan y Harbin (Zhang *et al.*, 2008) en China y el Instituto Gwangju en Korea del sur (Chae *et al.*, 2008) son otros centros de investigación que estudian la D.A. como sistema de tratamiento de efluentes. En América del norte, se encontraron trabajos de la Universidades de Western Ontario (Ranjan Dhar *et al.*, 2011) de Canadá; las Universidades de Standford (Owen, *et al.*, 1978), y la de Oregón (Hashimoto, 1988), en los Estados Unidos. En lo que respecta a América Latina, se encuentran la Universidad Nacional Autónoma de México

(UNAM) (Terrerós–Mecalco *et al.*, 2009) y la Universidad politécnica de Chiapas (Villanueva Hernández *et al.*, 2011) en México; la Universidad del Valle, en Colombia (Torres Lozada & Perez, 2010); las Universidades de Ouro Preto, de Minas Gerais, San Pablo, Rio Grande do Sul (Aquino *et al.*, 2007; Souto *et al.*, 2010), en Brasil, entre otros centros que estudian esta temática.

Sin embargo, el manejo de las producciones varía según el país o región donde se trabaje (consumo de agua, alimentación, estado fisiológico y razas animales utilizadas, tratamientos sanitarios aplicados, etc.), y consecuentemente se modificarán las características de los efluentes generados incluyendo su biodegradabilidad anaeróbica. Es por eso, que ante la necesidad de avanzar en el proyecto de tratamiento de los efluentes de la EEA de Marcos Juárez, se decidió evaluar la composición físico química, microbiológico, parasitológico y ecotoxicológico; y estudiar su biodegradabilidad y potencial metanogénico, generando de esta manera un primer relevamiento del estado de situación de estos efluentes.

Con respecto a la Argentina, son pocos los grupos de investigación que trabajan en la temática de digestión anaeróbica de efluentes porcinos. Sin embargo existen emprendimientos privados que aplican esta tecnología, como sistema de tratamiento de efluentes. Un caso relevante es el de la Asociación de Cooperativas Argentinas (ACA), quien en el año 2012 instaló, en la provincia de San Luis, una planta de digestión anaeróbica para tratar los efluentes generados en un establecimiento de 1300 madres en confinamiento. El objetivo primordial de la planta es el tratamiento de los efluentes conjuntamente con la generación de energía eléctrica. Por este motivo y para mejorar la performance del proceso anaeróbico realizan una co-digestión de los efluentes con maíz

y sorgo. La planta cuenta con un reactor primario y uno secundario, seguido por un sistema de lagunas facultativas y aérobicas, para finalizar el tratamiento.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Metodología

El trabajo de investigación se desarrolló en 3 etapas, a saber:

- 1°- Evaluación física, química, microbiológica, parasitológica y ecotoxicológica de los efluentes de cerdos en estudio, sobre las muestras, en una serie, tomadas en los galpones de post destete y, en otra serie, de una combinación de los galpones de recría/terminación.
- 2°- Ensayo de Actividad Metanogénica Específica, para verificar que el inóculo seleccionado sea adecuado para realizar los ensayos de biodegradabilidad anaeróbica.
- 3°- Ensayos de Biodegradabilidad anaeróbica, realizados sobre los efluentes de los galpones de recría/terminación. No se trabajó sobre los efluentes de post destete, ya que los efluentes de recría/terminación presentaban las características menos favorables para la digestión anaeróbica.

4.2 Localización del Área de Estudio

Las muestras fueron tomadas de los galpones en confinamiento de post-destete, recría y terminación del multiplicador genético de la Estación Experimental Agropecuaria (EEA) Marcos Juárez, Córdoba del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

4.3 Descripción del Multiplicador Genético

El sistema productivo adoptado en la EEA Marcos Juárez, se encuadra en un sistema mixto, donde el 50% de las madres realizan su parición al aire libre, mientras que el 50% restante en sala de maternidad en confinamiento. Las hembras se crían y terminan al aire libre para luego ser vendidas como genética, mientras que los machos se crían y terminan bajo sistema de confinamiento.

Los galpones seleccionados para realizar los muestreos de los efluentes, fueron los de post-destete, cría y terminación en confinamiento. A continuación se colocan croquis descriptivos de los galpones seleccionados:

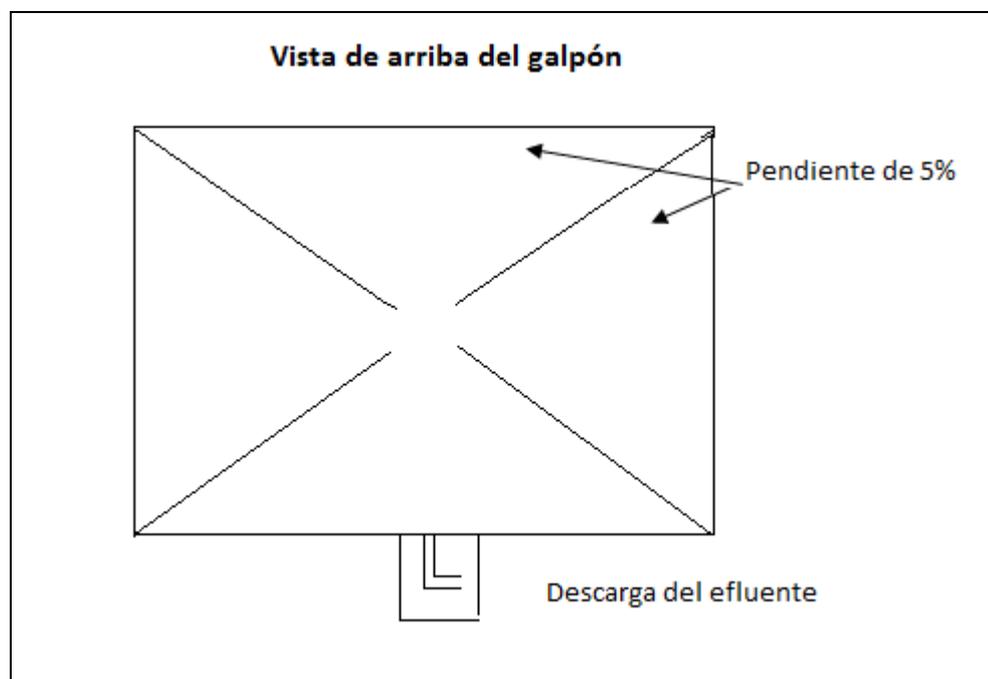


Figura 6: Vista de arriba de un galpón de la EEA Marcos Juárez

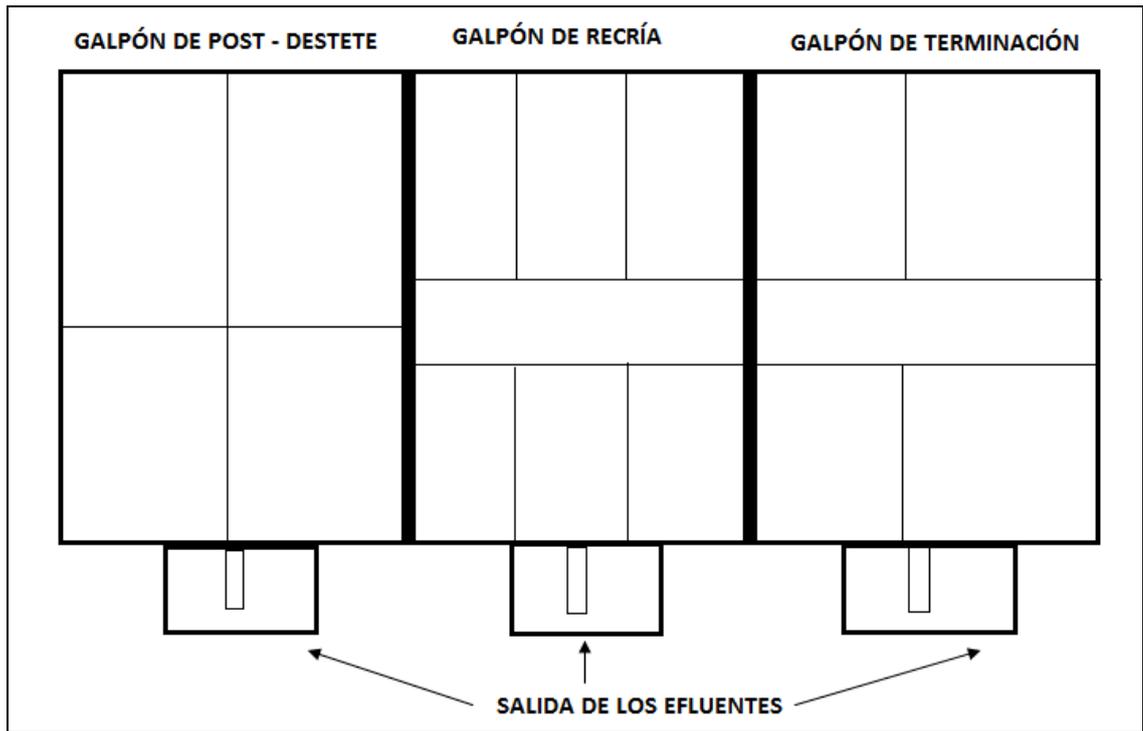


Figura 7: Vista de arriba de los 3 galpones en estudio (post- destete, recría y terminación)

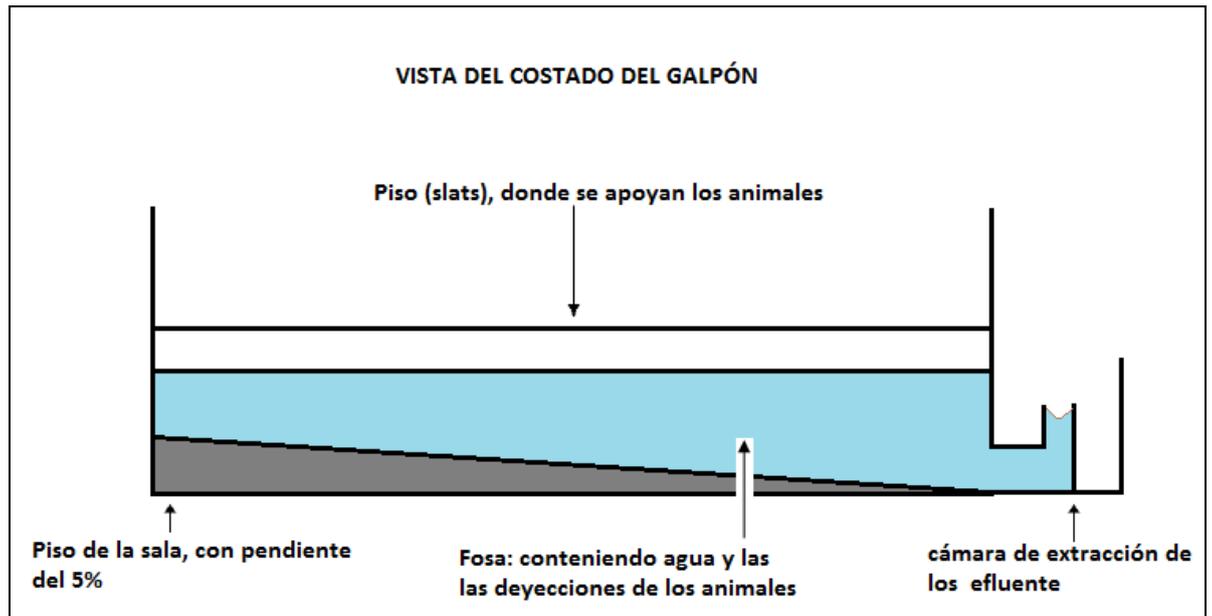


Figura 8: Vista lateral de uno de los galpones en estudio

En los tres galpones seleccionados, los animales se encuentran apoyados sobre pisos enrejillados (*full slats*), debajo de los cuales hay fosas donde cae el purín (orina, estiércol) y los restos de alimento y agua de los bebederos. Las fosas poseen unos 10 cm de agua limpia, al comienzo del ciclo, que se van mezclando con el purín a medida que éste se va generando. Luego por un sistema de pendiente van siendo extraídos con la ayuda de una bomba estercolera (lugar seleccionado para realizar la extracción de las muestras del efluente, para su posterior caracterización).

4.3.1 Galpón de Post – destete

El post – destete ocurre a los 28 días del inicio de la lactancia, se realiza bajo instalaciones en confinamiento con cortinas y piso plástico enrejillado (*full slats*). Esta

etapa del ciclo de producción tiene una duración de 45 días, aquí el animal ingresa con 8 kg. de peso vivo y finaliza al alcanzar los 25 kg. El galpón tiene un manejo, tanto de los animales como del efluente “*all in all out*” (todo adentro- todo afuera); donde la sala se vacía, se limpia y desinfecta por completo cada vez que los animales salen, debido a que finaliza su ciclo en ese sector. Durante el período en el que los animales ocupan la sala, los efluentes allí generados, permanecen en la fosa ubicada debajo de ellos. El volumen total generado de efluente en esta etapa al finalizar el ciclo a los 45 días, es de 117 m³, el cual es retirado parcialmente una vez por semana, para evitar desbordes del efluente. La carga de animales por ciclo es de 200 cabezas aproximadamente.



Figura 9: Vista de los animales en el sector del Post destete



Figura 10: Vista de los animales en el sector del Post destete

La alimentación de los cerdos en esta etapa, es a base de maíz (70%), pellet de soja (20%) y Vetimix 10 W® (10%). Vetimix 10 es un concentrado que contiene todos los microingredientes para la elaboración del alimento de iniciación. Su formulación es a base de: proteína bruta, fibra bruta, grasa, calcio, fósforo, sodio y lisina.

Las dimensiones del galpón de post- destete son de 10, 5 m de ancho x 7.3 m de largo, dividido en 4 boxes de 5.1 m x 3.6 m con una capacidad de 50 cabezas por cada uno. (Figura 9 y 10).

4.3.2 Galpón de Recría y Terminación

La recría y terminación de los machos se realiza en salas en confinamiento con cortinas, piso *full slats* (de cemento) y almacenamiento temporal de los efluentes en

fosa, debajo de ellos. En este caso, el manejo del flujograma es cuasi-continuo, en donde la limpieza es realizada por box a la salida de los animales. Semanalmente, se realiza una extracción parcial de los efluentes de la fosa (20 m³ entre ambas etapas productivas, 12 m³ de recría y 8 m³ de terminación), ésta es realizada para evitar excesivas emisiones de gases al medio con consecuencias sanitarias (afección del aparato respiratorio de los animales, irritación ocular y otras afecciones). Solamente dos veces al año se realiza la limpieza total de la fosa y la sala, en donde al igual que en la etapa del post – destete, se vacía, limpia y desinfecta. La carga de animales es de 400 cabezas que ingresan al ciclo con un peso promedio de 25 kg y terminan con un peso promedio de 105 Kg.



Figura 11: Vista del galpón de recría



Figura 12 Vista del galpón de terminación

La alimentación de los cerdos en recría (de 25 a 60 kg.) es en base de maíz (68%), pellet de soja (29%) y Maximix® de crecimiento (3%). El Maximix ® posee en su formulación: calcio, fósforo, cloruro de sodio, lisina, vitamina A, vitamina D3, vitamina E, vitamina K3, vitamina B1 B2 B6 y B12, ácido nicotínico, ácido pantoténico, biotina, ácido fólico, selenio, colina, yodo, cobalto, cobre, zinc, hierro y cromo orgánico.

Las dimensiones de este galpón son de 11m de largo x 10.5 de ancho dividido en 6 boxes de 4.75m x 2.75m (pasillo central de 1 m) con una capacidad de 50 cabezas por box (Figuras 11 y 12).

La alimentación de los cerdos en terminación (60 a 105 kg.) es de maíz (72%), pellet de soja (25%) y Maximix® de crecimiento (3%).

Las dimensiones del galpón son de 10.5 m de ancho x 8.8 m de largo dividido en 4 boxes de 4.4 m x 7.75 m con una capacidad de 25 cabezas por box. Este galpón, al igual que el de recría, cuenta con un pasillo central de 1m de ancho.

4.4 Toma de Muestra

Se efectuó un muestreo mensual durante diez meses consecutivos. En cada muestreo se tomaron muestras, de la boca de salida de los efluentes en los galpones de recría/terminación (flujograma cuasi-continuo) y del galpón de post destete (ciclo *all in – all out*) (Figura 7). Las muestras extraídas de los galpones de recría/terminación, fueron una muestra conjunta, armada mediante la mitad de muestra proveniente de recría y la mitad de terminación; el período de muestreo fue aleatorio. La extracción de las muestra del galpón de post destete fueron aleatorias, con respecto al momento del ciclo de 45 días. La muestra utilizada para el ensayo de biodegradabilidad, fue una muestra número 11, extraída posteriormente a las 10 mencionadas anteriormente, del galpón de recría/terminación.

Para la realización de los análisis físico-químicos, ecotoxicológicos y microbiológicas, las muestras fueron recolectas en bidones plásticos de 10 litros y guardadas en conservadoras refrigeradas a 4 °C.

Para los análisis parasitológicos los efluentes fueron recolectados también en bidones de 10 litros, dejándolos reposar por un lapso de 10 minutos, para luego volcar 1 litro del efluente y agregarle un litro de formol (formaldehído 40%). Una vez finalizado

este procedimiento, los bidones fueron guardados en conservadora a 4 °C. En todos los muestreos, se midió el pH y la temperatura *in situ*, con un pHmetro de campo.

Las muestras recolectadas fueron enviadas al Laboratorio de Transformación de los Residuos (LTR), Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA), INTA Castelar, Buenos Aires.

4.5 Caracterización de los Efluentes

Los parámetros analizados para realizar la caracterización se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Métodos analíticos realizados

| Parámetro | Muestra Total | Muestra Filtrada (0.45 µm) |
|--------------------------|----------------------|---------------------------------------|
| pH, CE y TEMP | X | |
| DQO | X | X |
| DBO5 | X | |
| NTK | X | X |
| N_{NH3} | X | X |
| P_{total} | X | X |
| SST y SSV | X | |
| ST y SV | X | |
| SULFATOS | | X |
| ALCALINIDAD | | X |
| CATIONES | X | |

| | |
|-------------------------------|---|
| AMONIO CUATERNARIO | X |
| PATÓGENOS TOTALES | X |
| HELMINTOS | X |
| ECOTOXICOLÓGICOS | X |

4.5.1 Métodos Analíticos

A continuación se detallan las técnicas analíticas utilizadas para la caracterización de los efluentes.

4.5.1.1 pH

La medida del pH es una de las pruebas más importantes y frecuentes utilizadas en el análisis químico del agua. Prácticamente todas las fases del tratamiento del agua para suministro y residual, como la neutralización ácido – base, precipitación, coagulación, desinfección y control de la corrosión, dependen del pH.

El pH es la forma común de expresar la concentración del ión hidrógeno en las soluciones acuosas:

$$\text{pH} = - \log_{10} [\text{H}^+]$$

Fue determinado directamente sobre las muestras, con un electrodo marca ORION, especial para muestras líquidas viscosas, conectado a un equipo multiparamétrico marca THERMO ORION 5 STAR. Previo a la medición de cada

muestra, se realizó la calibración con soluciones buffer estándar THERMO ORION de pH 4, 7 y 10 a 20°C.

4.5.1.2 Conductividad Eléctrica

La conductividad (CE) es una expresión numérica de la capacidad de una solución para transportar una corriente eléctrica. En medios líquidos, la CE está relacionada con la presencia de sales en solución (influyendo también el tipo de sales y la temperatura), cuya disociación genera iones positivos y negativos capaces de transportar la energía eléctrica si el líquido es sometido a un campo eléctrico.

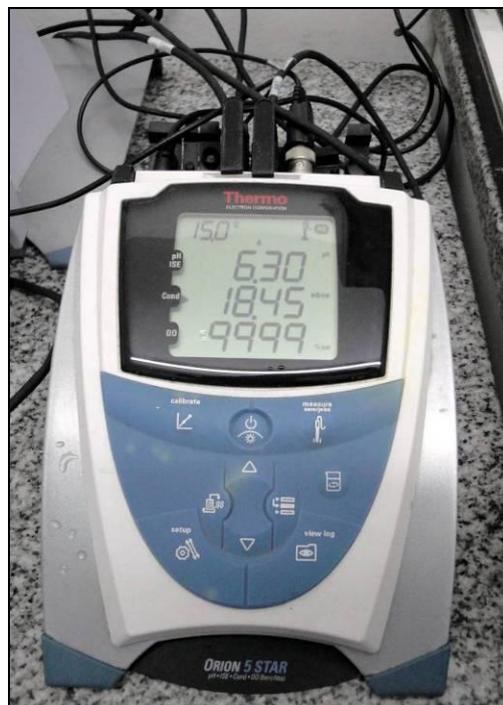


Figura 13: Equipo utilizado para la determinación del pH y la CE en el laboratorio

Se midió directamente sobre la muestra, con un electrodo marca ORION, conectado a un equipo multiparamétrico marca THERMO ORION 5 STAR. Previamente a la determinación de cada muestra, se realizó la calibración con soluciones buffer estándar THERMO ORION de 1413 $\mu\text{S}/\text{cm}$ y 12.9 mS/cm .

4.5.1.3 Sólidos Totales y Volátiles

Sólidos totales es la expresión que se aplica a los residuos de material que quedan en un recipiente después de la evaporación de una muestra y su consecutivo secado en estufa a temperatura definida. Los ST incluyen los sólidos totales suspendidos (SST) o porción de sólidos totales retenida por un filtro, y los sólidos disueltos totales (SDT) o porción que atraviesa el filtro.

La determinación de sólidos totales (ST) y sólidos volátiles (SV) se realizó de acuerdo con el método 2540 B y E de *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA; 1992).

Los ST se determinaron mediante el peso del residuo seco, secado a 105 °C en una estufa SAN JOR, hasta peso constante. El peso de las muestras fueron determinadas utilizando una balanza analítica OHAUS – PIONNER.

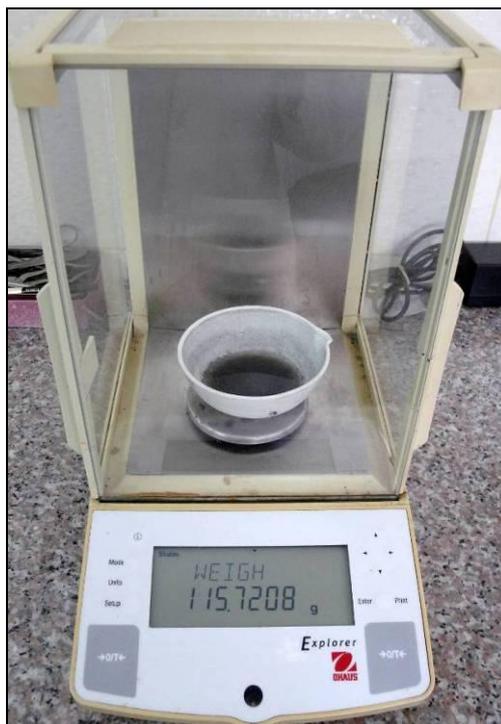


Figura 14: Muestra de efluente de cerdo, pesada para determinar el % ST

Cálculo:

$$\text{mg de sólidos totales / l} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{volumen de muestra (ml)}}$$

Donde: A = es el peso del residuo seco + placa (mg)

B = peso de la placa (mg)

Los SV se determinaron sobre la misma muestra, mediante calcinación en una mufla marca Kuklin a 550 °C, hasta peso constante. El peso de las cenizas fue determinado utilizando una balanza analítica OHAUS – PIONNER.

Cálculo:

$$\text{mg de sólidos volátiles/l} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{volumen de muestra (ml)}}$$

Donde: A = es el peso de residuo + placa antes de incineración (mg)

B = es el peso de residuo + placa después de la incineración (mg)

4.5.1.4 Sólidos Suspendedos Totales y Volátiles

Los SST y SSV, fueron determinados según el método 2540 D y E descrito en el *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA; 1992). Los SST, se determinaron filtrando la muestra, bien mezclada, por un filtro estándar de fibra de vidrio y el residuo retenido en el mismo se secó a peso constante a 105°C.

Cálculo:

$$\text{mg de SST/l} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{Volumen de muestra (ml)}}$$

Donde: A = es el peso del filtro + residuo seco (mg)

B = es el peso del filtro (mg)

La determinación de los SSV se realizó sobre el mismo filtro, mediante calcinación en mufla a 550°C.

4.5.1.5 Demanda Química de Oxígeno

La demanda química de oxígeno (DQO) se utiliza como una medida del equivalente de oxígeno del contenido de materia orgánica de una muestra susceptible de oxidación por un oxidante químico fuerte. Es una medida indirecta del contenido de materia orgánica y compuestos oxidables en una muestra.

Para la determinación de este parámetro, se utilizó el método 5220 D propuesto en *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA; 1992), conocido como reflujo cerrado, método colorimétrico.

En el mismo, se utiliza como material oxidante el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) en un medio fuertemente ácido (H_2SO_4). La digestión se realizó en un bloque para digestión VELP SCIENTIFICA ECO 16 THERMOREACTOR durante dos horas a $150^\circ C$. El material presente en la muestra, es oxidado por el ión dicromato ($Cr_2O_7^{2-}$) como resultado, el Cromo pasa del estado hexavalente (VI) a trivalente (III). La reacción es catalizada por Sulfato de plata (Ag_2SO_4) y se utiliza sulfato de Mercurio ($HgSO_4$) para eliminar problemas de interferencias de haluros presentes.



Figura 15: Preparación de la digestión ácida



Figura 16: Digestión en proceso

Conjuntamente con las muestras, fue realizada la preparación y medición de 5 patrones, a fin de obtener la curva de calibración. La misma fue realizada con una solución de hidrógeno ftalato de potasio con DQO equivalentes que oscilen entre 20 y 900 $\mu\text{g O}_2/\text{l}$.

Para la determinación de la reducción del dicromato, se utilizó un espectrofotómetro SMART SPECTRO LA MOTTE, ajustado a 600 nm. Ambas especies de Cromo exhiben color y absorben luz en la región visible del espectro. En la región de los 600 nm el ión crómico absorbe luz y el ión dicromato tiene una absorción prácticamente nula.

Cálculo:

Curva de calibración: $mx + b$

$$\text{mg O}_2/\text{l} = ((A_m - A_b) - b)/m$$

Donde:

A_m = absorbancia de la muestra

A_b = absorbancia del blanco

b = ordenada al origen de la curva de calibración

m = pendiente de la curva de calibración

$$\text{DQO en mg O}_2/\text{l} = \frac{\text{mg O}_2 \text{ en el volumen final} \times 1000}{\text{ml de muestra}}$$

4.5.1.6 Demanda Bioquímica de Oxígeno

La demanda bioquímica de oxígeno a 5 días (DBO_5) es uno de los métodos usados con mayor frecuencia en el campo de tratamiento de las aguas residuales. Representa el consumo de oxígeno que las aguas residuales pueden demandar en las fuentes receptoras y el grado de tratamiento al que ha sido sometida el agua.

La prueba mide el oxígeno utilizado durante un período de incubación especificado y a una temperatura estandarizada ($20\text{ }^\circ\text{C}$), para la degradación bioquímica de materia orgánica (requerimiento de carbono), y el oxígeno utilizado para oxidar materia inorgánica, como los sulfuros y el ion ferroso.



Figura 17: Equipo BODTrack, en la estufa de cultivo

La DBO_5 , fue determinada mediante la prueba de las botellas con el BODTrack method (HACH). Durante el ensayo, las botellas fueron incubadas en una estufa de cultivo VELP a $20^{\circ}\text{C} \pm 1$.

4.5.1.7 Fósforo Total

El fósforo se encuentra en las aguas naturales y residuales casi exclusivamente en forma de fosfatos, clasificados en ortofosfatos, fosfatos condensados piro, meta y otros polifosfatos, y los ligados orgánicamente. Se presentan en solución, partículas o detritus, o en los cuerpos de organismos acuáticos.

El análisis del fósforo incluye dos pasos generales en todos los métodos: a) conversión de la forma fosforada en ortofosfato disuelto, y b) determinación colorimétrica del ortofosfato disuelto.

Para la determinación del fósforo, se realizó primero una digestión con un equipo marca MARS 5, utilizando el método CEM para fósforo en aguas residuales.



Figura 18: Equipo de microondas, para digestión ácida



Figura 19: Curva de calibración preparada para la determinación de ortofosfato

La determinación colorimétrica del ortofosfato fue realizada método 4500- P E. propuesto en *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA; 1992), conocido como método del ácido ascórbico.

4.5.1.8 Alcalinidad

La alcalinidad de un agua es su capacidad para neutralizar ácidos y constituye la suma de todas las bases titulables. La alcalinidad es importante en muchos usos y tratamientos de aguas naturales y residuales.

La determinación de la alcalinidad en las aguas residuales estudiadas, fue determinada con el método 2320 B propuesto en *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA; 1992), conocido como método de titulación.

4.5.1.9 Sulfato

La determinación del ion sulfato (SO_4^{2-}) fue realizada según el método 4500 E propuesto en *Standard methods for examination of water and wastewater* (APHA; 1992), conocido como Método Turbidimétrico.

4.5.1.10 Nitrógeno Total y Amoniacal

El contenido de nitrógeno total y amoniacal en los efluentes analizados, fue determinado en el Instituto de Alimentos del INTA Castelar.

Nitrógeno total Kjeldhal (NTK): Esta determinación se hizo de acuerdo al método 4500-Norg B de la Norma (APHA, 1992). Se basó en digerir la muestra cruda con temperatura, en presencia de H_2SO_4 , sulfato potásico (K_2SO_4) y sulfato de cobre (CuSO_4) como catalizador, de forma que los compuestos orgánicos nitrogenados se transformen en sulfato amónico. Posteriormente se analizó el amonio de las muestra digeridas, con un destilador Tecator (Kjeltec System 1026 Distilling Unit). Se añadió un medio alcalino fuerte (NaOH 40%) para subir el pH y desplazar el equilibrio hacia la formación de amoníaco libre y se absorbió en ácido bórico. Por último se realizó la valoración, mediante titulación con un ácido fuerte, HCl, de normalidad conocida.



Figura 20: Equipo de destilación para la determinación de NTK y NH_4^+

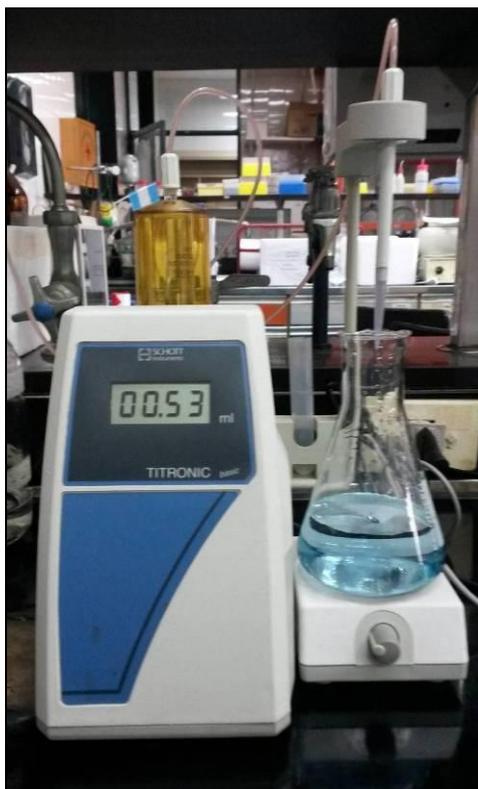


Figura 21: Titulación de la muestras, para determinación de NTK y $N^- NH_4^+$

Nitrógeno amoniacal: se analizó siguiendo el método 4500-NH₃ B de la Norma (APHA, 1992). El método es el mismo que el utilizado para destilar y valorar el nitrógeno total Kjeldhal, sin la digestión previa. La determinación se realizó sobre la fracción líquida, tomando 5 ml de muestra.

Para ambas determinaciones se utilizó un Analizador Automático de N FossTecator.

4.5.1.11 Cationes

La presencia de cationes, fue analizada en el Instituto de Floricultura del INTA Castelar. Para determinar sus concentraciones se utilizó un espectrofotómetro de absorción atómica, marca VARIAN modelo 220 A. Los elementos de K y Na se determinaron por emisión y Ca y Mg por absorbancia.

4.5.1.12 Amonio Cuaternario

El análisis de amonio cuaternario, fue realizado en la Facultad de Ingeniería, de la Universidad de Buenos Aires (FIUBA). Para su determinación, se utilizó Método directo del complejo binario (Método HACH 8337).

4.5.1.13 Patógenos Totales

La determinación de patógenos totales (aerobios, *E. coli*, coliformes totales y salmonella), fue realizada en el Instituto de Patobiología del INTA, Castelar. La determinación fue realizada utilizando el método propuesto por Fasciolo *et al.*, 2005.

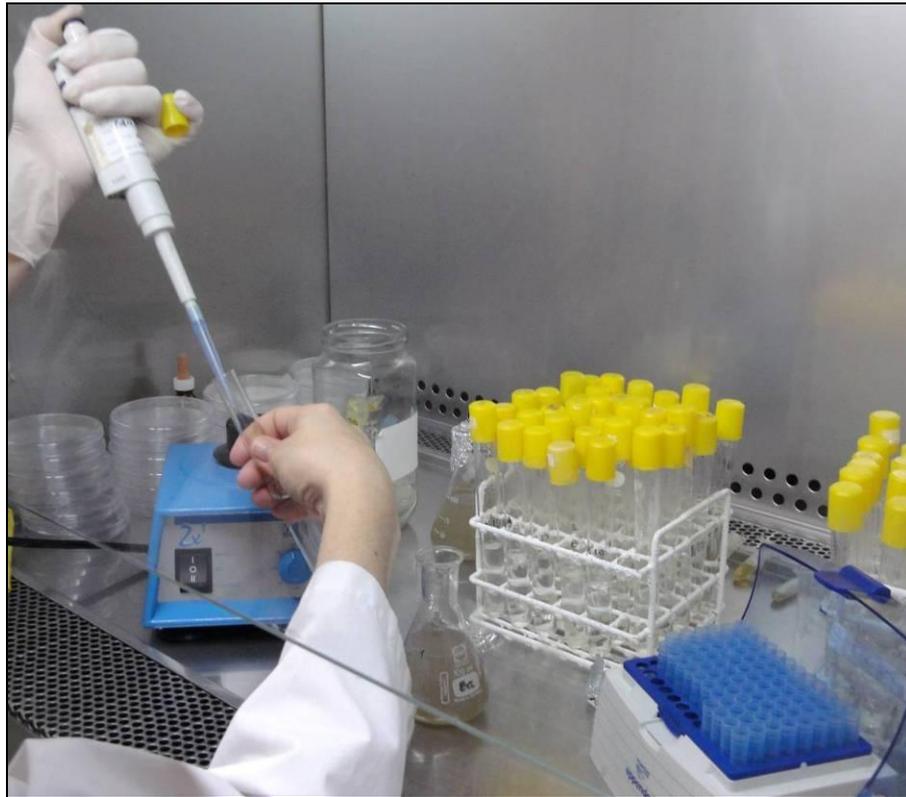


Figura 22: Preparación de cultivos, para la determinación microbiológica

4.5.1.14 Helmintos

La determinación de huevos de helmintos, fue efectuada en el Instituto de Patobiología del INTA Castelar. La recuperación de huevos de la muestras se basa en el uso de una serie de tamices de los cuales el último tiene una medida de malla que retiene todos los huevos y los anteriores, retienen las partículas más grandes. Se lava el último tamiz con una solución hipertónica que facilita la flotación de los huevos y se toma una muestra de ese lavado para ser leída en una cámara de Mac Master. El conteo de los huevos, multiplicado por los factores de dilución que empleados da el número de huevos por litro.

La identificación de los huevos fue realizada por su morfología.

4.5.1.15 Ecotoxicológicos

Para determinar la ecotoxicidad de los efluentes analizados, se utilizaron dos pruebas diferentes:

4.5.1.15.1 Toxicidad Aguda, con *Lactuca sativa* y *Raphanus sativus*,

Este ensayo se realizó utilizando la Metodología Propuesta por: Sobrero & Ronco, 2004. Ensayo de Toxicidad Aguda con Semillas de *Lactuca sativa*.

Este bioensayo de toxicidad con semillas de lechuga (*Lactuca sativa* L) y de rabanito (*Raphanus sativus*) es una prueba estática de toxicidad aguda (120 h de exposición) en la que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas durante los primeros días de crecimiento. Como puntos finales para la evaluación de los efectos fitotóxicos, se determina la inhibición en la germinación y la inhibición en la elongación de la radícula y del hipocótilo. Es importante destacar que durante el periodo de germinación y los primeros días de desarrollo de la plántula ocurren numerosos procesos fisiológicos en los que la presencia de una sustancia tóxica puede interferir alterando la supervivencia y el desarrollo normal de la planta, siendo por lo tanto una etapa de gran sensibilidad frente a factores externos adversos.

Para realizar una curva dosis-respuesta se recomienda preparar, un mínimo de cinco o seis diluciones de la muestra o compuesto a estudiar, de manera que se obtengan valores de toxicidad intermedios entre el 100 y 0%. Para las muestras ambientales, como las ensayadas en esta investigación, se recomienda el uso de un factor de dilución de 0.3 o 0.5 para la preparación de la serie de diferentes concentraciones. El uso de un factor de 0.3 permite evaluar la toxicidad considerando el intervalo entre el 100 y 1% de la muestra realizando cinco diluciones (100, 30, 10, 3 y 1%). Al aplicar un factor de dilución de 0.5, es necesario utilizar mayor número de diluciones para abarcar el mismo intervalo de concentraciones (100, 50, 25, 12, 6, 3 y 1.5%), pero se obtiene mayor precisión en los resultados. Para la preparación de cada dilución se utiliza agua dura reconstituida (es posible el uso de agua mineral dura para consumo humano), realizando el control negativo con el agua de dilución empleada.

El procedimiento a seguir para llevar a cabo el ensayo de toxicidad aguda con semillas es el siguiente:

- Colocar en cada cápsula de Petri un disco de papel de filtro.
- Marcar correctamente cada caja con la dilución correspondiente, así como la fecha y hora de inicio y término del bioensayo.
- Saturar el papel de filtro con 4 o 5 mL de la dilución evitando que se formen bolsas de aire.
- Con la ayuda de una pinza, colocar cuidadosamente veinte semillas, dejando espacio suficiente entre ellas para permitir la elongación de las raíces.

- Tapar las cápsulas y colocarlas en bolsas plásticas para evitar la pérdida de humedad. Dado que algunas variedades de semillas de lechuga y rabanito requieren oscuridad para que se produzca la germinación (semillas fotoblásticas negativas), las cajas de Petri deben cubrirse de la luz inmediatamente después de colocarlas en las cápsulas y durante el periodo de ensayo. Incubar durante 120 h (cinco días) a una temperatura de 22 ± 2 °C. Realizar repeticiones para cada dilución ensayada.

- Cada punto final se evalúa comparando el efecto generado en los organismos expuestos a la muestra con respecto a la respuesta en los organismos del control negativo sujetos a las mismas condiciones de ensayo, excepto por la ausencia de muestra.

4.5.1.15.2 Toxicidad aguda, con *Daphnia magna*.

Este ensayo se realizó utilizando la Metodología Propuesta por: Díaz Báez, Pica Granados y Ronco, 2004. Ensayo de Toxicidad Aguda con *Daphnia magna*.

Dentro del grupo de cladóceros, las especies del género *Daphnia* son las más utilizadas como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad. La amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen al interior de la comunidad zooplanctónica, la facilidad de cultivo en el laboratorio, la reproducción partenogenética (lo cual asegura una uniformidad de respuesta) y el corto ciclo de vida con la producción de un alto número de crías, han hecho de este grupo un ideal para la evaluación de toxicidad, de carácter universal. El género *Daphnia* se ubica dentro del orden cladócera de la clase crustácea, y especies como *Daphnia magna*, *Daphnia pulex*

y *Daphnia similis*, son utilizadas extensivamente en pruebas de toxicidad, por lo cual existe una extensa información sobre las técnicas de cultivo, los requisitos de temperatura, luz y nutrientes, así como su respuesta a muchos tóxicos. Específicamente, los ensayos de toxicidad con *Daphnia magna*, permiten determinar la letalidad potencial de sustancias químicas puras, aguas residuales domésticas e industriales, lixiviados, aguas superficiales o subterráneas, agua potable y agua de poro de sedimentos, entre otros.

Para el desarrollo de pruebas de toxicidad aguda con *D. magna* se emplean neonatos (< 24 h nacidos) expuestos a diferentes concentraciones de una muestra o de un agente tóxico durante un periodo de 48 h. Como resultado de dicha exposición es posible determinar la concentración de la muestra o compuesto problema, que produce la muerte al 50% de la población de neonatos expuestos (concentración letal media o CL50), con un nivel de confiabilidad del 95 por ciento.

Para la preparación de las diluciones de las muestras se utiliza como medio de dilución agua dura reconstituida (180 y 160 mg/L CaCO₃), sin ningún suplemento. Además de las diferentes concentraciones de la muestra, se debe preparar junto con las respectivas réplicas un control negativo con agua dura reconstituida sin suplementos. Una vez preparadas cada una de las soluciones, se transfieren diez neonatos de menos de 24 h de nacidos a cada uno de los recipientes. Para realizar este procedimiento se puede utilizar una pipeta despuntada. Terminada la transferencia se cubren los vasos con papel Parafilm y se colocan bajo condiciones controladas de iluminación y temperatura por un periodo de 48 horas.

4.6 ENSAYO DE BIODEGRADABILIDAD Y ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA.

4.6.1 Biodegradabilidad anaeróbica:

El método consiste en la fermentación anaeróbica de los efluentes de cerdos, con cantidades conocidas de inóculo, en discontinuo. La evaluación de la biodegradabilidad de este sustrato fue realizada mediante el análisis de la cantidad y calidad del biogás producido, junto con el análisis de la DQO eliminada.

4.6.1.1 Diseño de los reactores utilizados

Se diseñaron diferentes tipos de reactores, los cuales fueron evaluados con pruebas hidráulicas para asegurar la estanqueidad de gases, que resulta ser la mayor dificultad en este tipo de ensayos.

- El primer sistema estaba formado por un kitasato de 1 litro de capacidad, conectado mediante manguera de látex a un frasco lavador de gases, conteniendo una solución de Hidróxido de sodio (40%). La salida se conectó a una probeta graduada para medir la producción de metano por el método de desplazamiento (Figura 23). Este sistema, fue reemplazado debido a que presentaba fugas de gas y retroceso del hidróxido de sodio al reactor, provocando la contaminación de la mezcla a digerir.



Figura 23: Reactores en batch por el método de desplazamiento

- El segundo sistema consistía en frascos de suero con sus correspondientes tapones septum de goma. El septum estaba perforado por una aguja hipodérmica a la cual se le conectaba una manguera de látex para poder medir por desplazamiento el volumen de biogás generado. Este método, al igual que el primero, presentó problemas de fuga de gas.



Figura 24: Reactores con septum de goma

- El tercer sistema, estaba formado por botellas (reactores) de vidrio Schott-Duran modelo GL45 de cuello roscado de 500 ml, con escala graduada. Cada reactor contiene en la parte superior, un tapón de plástico finalizado en una rosca Hembra de $\frac{1}{4}$ tipo NPT, a la cual es acoplada a una conexión rápida Q1-4-G Conector Rosca Gas $\frac{1}{4}$ NPT de bronce, con retención.



Figura 25: Reactores en batch utilizado para el ensayo de AME y biodegradabilidad

Finalmente, se optó por el último sistema evaluado, debido a que fue el único que presentó estanqueidad absoluta de gases.

4.6.1.2 Métodos Analíticos

4.6.1.2.1 pH, DQO, SST/SSV, NTK, NNH_4^+ , AGV y alcalinidad

Se determinó pH, DQO, SST/SSV, NTK, NNH_4^+ , AGV y Alcalinidad total (AT) y parcial (AP) al comienzo y final de cada ensayo. Los análisis de pH, DQO, SST/SSV, NTK y NNH_4^+ se realizaron según los métodos expuestos en el punto 4.5.1

La alcalinidad expresada como mg CaCO_3/l , establece la capacidad buffer del sistema; mientras que la acidez, expresada en mg ácido acético/l, muestra el contenido de ácidos grasos volátiles existentes dentro del sistema. La alcalinidad y los AGV

fueron determinados según el método propuesto por Jenkins et al. (1983) y por DiLallo & Albertson (1961).

El análisis de la acidez y alcalinidad, establece una medida de la estabilidad del proceso anaeróbico. Para que los digestores operen eficientemente, se requiere una gran capacidad buffer para mantener el pH entre 6.7 y 7.4. En este rango de pH, las especies buffers predominantes son las carbonatadas.

La alcalinidad total incluye todas las especies carbonatadas presentes y se determina por titulación con un ácido hasta el punto final de pH de 4.3, tal como sugiere la APHA (1992). Sin embargo este parámetro no refleja las condiciones de inestabilidad que pueden ocurrir durante la digestión anaeróbica, ya que un aumento en la concentración de AGV causa una disminución en la concentración de bicarbonato, resultando en un valor constante de AT. Además, a pH 4.3 más del 99% del bicarbonato del sistema es convertido a CO₂. Por lo tanto este parámetro ha sido considerado insensible para indicar el proceso de inestabilidad en un reactor anaeróbico.

En cambio, un método basado en la valoración, se ha desarrollado con el fin de identificar la presencia de los bicarbonatos. La alcalinidad intermedia o parcial (AP) es una medida directa de la presencia de bicarbonatos en el medio. Esta AP ha sido sugerida por varios autores como un parámetro clave para el control del proceso (Jenkins *et al.*, 1991; Ripley *et al.*, 1986). Jenkins ha propuesto la titulación de la alcalinidad parcial, a pH 5.75, en vez de la alcalinidad normal a pH 4.3. En este punto, cerca del 80% de los bicarbonatos han sido titulados, y menos del 20% de los AGV han contribuido a la alcalinidad.

La concentración de los AGV también es un parámetro de gran importancia debido a que altos valores generan un descenso en el pH produciendo la acidificación del reactor, por lo que su seguimiento es primordial para determinar el consumo de estos. Según Jenkins y colaboradores (1991), los AGV pueden determinarse en forma indirecta, mediante la diferencia entre las dos alcalinidades. Sin embargo aquí, se determina los AGV mediante titulación por retroceso de la muestra (DiLallo & Albertson, 1961).

La técnica consiste en tomar una alícuota de 25 mL de la muestra, previamente centrifugada. Se mide el pH inicial y se registra. Luego se procede a titular (siempre en agitación), con una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.2 N, hasta pH 5.75, se registra el valor (V1). Se continúa con la titulación con H_2SO_4 hasta pH 4.3, registrando nuevamente el valor (V2). Luego, se continúa con el agregado de H_2SO_4 hasta pH 3. Una vez alcanzado el valor de pH 3, se lleva la muestra a ebullición (90 °C) por un lapso de 5 minutos. Posterior a ello, se coloca en baño frío hasta temperatura ambiente. Una vez, alcanzada la temperatura de $20^{\circ}C \pm 3$, se titula la acidez con hidróxido de sodio (NaOH) 0.1 N. El tercer registro de la técnica (V3) se realiza cuando se alcanza el pH = 4, el cuarto registro (V4), cuando la muestra llega a pH 7.

$$AP_{(5.75)} \text{ (mgCaCO}_3\text{/l): } \frac{V1 \times N \times 50000}{\text{ml de muestra}}$$

Donde:

V1: ml utilizados del ácido estándar para alcanzar el pH 5,75

N: Normalidad real del ácido estándar

$$AT_{(4.3)} \text{ (mgCaCO}_3\text{/l): } \frac{V2 \times N \times 50000}{\text{ml de muestra}}$$

Donde:

V2: ml utilizados del ácido estándar para alcanzar el pH 4,3

N: Normalidad real del ácido estándar

$$\text{AGV(mgAc/l): } \frac{(V4-V3) \times N \times 60000}{\text{ml de muestra}}$$

Donde:

V3: volumen gastado hasta pH 4

V4: volumen gastado hasta pH 7

N: normalidad real del NaOH

60000: surge de multiplicar el peso molecular del ácido acético (60) por 1000 que es el factor de conversión de ml a l

4.6.1.2.2 Volumen y calidad del biogás

El volumen de biogás generado diariamente fue medido por un transductor de presión, marca Novus. Los valores fueron expresados en CNPT (T=273°K, P=1 atm).



Figura 26: Medición del volumen de gas, mediante equipo manométrico

Las concentraciones de metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) y nitrógeno (N_2) en el biogás fueron medidas según la norma ASTM D 1945.

Para los compuestos CH_4 , CO_2 y N_2 se utilizó un cromatógrafo de Gases (Hewlett Packard 6890 GC System) equipado con un detector de conductividad térmica (TCD) y un detector de ionización por llama (FID) y las columnas utilizadas fueron Tamiz Molecular 13X, Porapak N y Capilar PONA.



Figura 27: Medición de la calidad de biogás, mediante cromatografía gaseosa

4.6.1.3 Verificación del inóculo: Ensayos de Actividad Metanogénica Específica (AME)

Para poder verificar que el inóculo es apto para ser utilizado en los ensayos de biodegradabilidad, se llevó a cabo un ensayo previo de actividad metanogénica específica (AME). Para el desarrollo del ensayo de AME, se utilizó un inóculo proveniente de un reactor anaeróbico de tipo contacto para el tratamiento de residuos citrícolas, en condiciones mesofílicas (19 -22 °C).

Previo a comenzar el ensayo de AME, el inóculo fue incubado a 36 °C, en estufa de cultivo marca: Semedix, durante 5 días, a fin de asegurar el consumo de la DQO residual biodegradable contenida en el líquido del inóculo.

Para la prueba se utilizó acetato de sodio (2.0 g DQO/l) como única fuente de carbono y energía. El volumen de inóculo agregado en cada reactor fue calculado en

sobre la base de los SSV, a fin de mantener una relación inicial de sustrato/inóculo (S/I) de 0.26 y 0.5 g DQO/g SSV. Para mantener una cámara de gas (CG) constante del 20%, se agregó un medio nutritivo compuesto por soluciones de micro y macronutrientes.

Solución de Macronutrientes: Se preparó las soluciones de macronutrientes a las concentraciones indicadas según Tabla 5.

Tabla 5: Concentraciones de las soluciones de macronutrientes

| | Macronutriente | Concentración (g/l) |
|------------|--------------------------------------|----------------------------|
| Solución 1 | NH ₄ Cl | 17 |
| Solución 2 | K ₂ HPO ₄ | 3.70 |
| Solución 3 | MgSO ₄ | 0.56 |
| Solución 4 | CaCl ₂ .2H ₂ O | 0.80 |

Solución de Micronutrientes: se preparó la siguiente solución con los micronutrientes y las concentraciones indicadas en la Tabla 6.

Tabla 6: Composición de la solución de micronutrientes, indicándose la concentración

| | Micronutriente | Concentración (g/l) |
|--|-----------------------|----------------------------|
|--|-----------------------|----------------------------|

| | | |
|------------|---|--------|
| Solución 1 | FeCl ₂ . 4H ₂ O | 2.0 |
| | H ₃ BO ₃ | 0.05 |
| | ZnSO ₄ .H ₂ O | 0.07 |
| | CuCl ₂ .2H ₂ O | 0.04 |
| | MnCl ₂ .4H ₂ O | 0.05 |
| | (NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ .4H ₂ O | 0.05 |
| | CoCl ₂ .6H ₂ O | 0.05 |
| | NiCl ₂ . 6H ₂ O | 0.09 |
| | EDTA | 0.50 |
| | HCl 36% | 1 ml/l |
| | Na ₂ SeO ₃ | 0.07 |
| | Resazurina | 0.50 |

Posteriormente al armado de cada mezcla se midió el pH, para asegurar un pH neutro en cada mezcla evaluada.

Las pruebas de AME fueron desarrolladas en reactores de 500 ml (ver punto 4.6.1.1). Luego se procedió a sellar los reactores y a realizar una purga con una corriente de gas N₂, para desplazar el oxígeno presente y así asegurar un ambiente anaeróbico. Por último, se realizaron las pruebas de estanqueidad, para corroborar que no existieran pérdidas de gas en los reactores. Todos los ensayos se hicieron por triplicado y con un blanco control correspondiente.

El seguimiento del ensayo implica que simultáneamente se deben cuantificar la presión dentro de los reactores (transductor de presión) y realizar el análisis de la composición del biogás producido (cromatografía gaseosa).

La finalización del ensayo se produce con el cese de la producción de biogás.

4.6.2 Desarrollo y Seguimiento del Ensayo de Biodegradabilidad

4.6.2.1 Inóculo:

El inóculo seleccionado para realizar los ensayos de biodegradabilidad fue de tipo floculento, con un AME, según lo medido en el punto anterior, de 0.08 g DQO-CH₄/g SSV*d y un contenido de SSV de 24.5 g/l. El mismo fue recolectado de un digestor anaeróbico de tipo mezcla completa, para el tratamiento de residuos citrícolas.

Previo a su utilización en los ensayos de biodegradabilidad, el mismo fue incubado (36°C) durante 5 días, a fin de asegurar el consumo de la DQO residual.

4.6.2.2 Sustrato:

Como sustrato se utilizó una muestra conjunta, armada mediante la mitad de volumen del efluente proveniente del galpón de recría y la otra mitad del galpón de terminación de la EEA Marcos Juárez, del INTA. Se trabajó con dos relaciones I/S diferentes, a saber: 0.37 gr y 0.6 de gr DQO/ gr de SSV.

4.6.2.3 Preparación del ensayo:

Se realizó cada tratamiento por triplicado. Se preparó un blanco y los sustratos a analizar:

Blanco: inóculo solo. La producción neta de metano de la muestra fue obtenida restando la producción del blanco.

Sustrato con una relación S/I 0.37: Purines provenientes de la sala de recría/terminación.

Sustrato con una relación S/I 0.6: Purines provenientes de la sala de recría/terminación.

Se cargó cada reactor con el inóculo y la masa de sustrato previamente calculada. Luego se completó hasta un volumen de 448 ml con medio nutritivo (ver punto 4.6.1.3.1). Posteriormente, se midió el pH inicial, se registró y se tomó una muestra para determinar las características iniciales. Se cerró el reactor con el tapón y se verificó la hermeticidad del mismo. Para ello, se le hizo correr una corriente de N₂ y se presurizó hasta 1 atm. Luego se sumergió en agua para verificar que no escapasen burbujas, por último se purgó el gas. Esta operación se repitió tres veces. Finalmente, se registró la presión inicial y la hora. Se llevaron los reactores a la incubadora (36°C). La prueba duró 50 días, hasta el cese de la actividad metanogénica.

4.7 Análisis Estadístico

La caracterización de los efluentes fue analizada estadísticamente utilizando el programa INFOSTAT. El análisis de correlación entre las variables estudiadas se realizó utilizando el coeficiente de correlación de Spearman. Este análisis, permite obtener una medida de la magnitud (y dirección) de la asociación o covariación de cada par de variables analizadas.

Para los ensayos ecotoxicológicos, se utilizó el análisis multivariado, de componentes principales (PCA) para asociar las variables físico-químicas con los efectos biológicos encontrados. El PCA, es una técnica utilizada para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos. La técnica sirve para hallar las causas de la variabilidad de un conjunto de datos u ordenarlas por importancia. En el gráfico, llamado *biplots*, el programa grafica las observaciones como puntos azules. La configuración de los puntos es obtenida a partir del PCA. Las variables son graficadas como vectores desde el origen (con terminaciones en círculos amarillos).

En los ensayos de biodegradabilidad anaeróbica, se utilizó el programa Prisma 5. Para comparar los resultados físico-químicos evaluados entre los tratamientos, se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) de dos factores seguido por contrastes Bonfarroni. El objetivo del análisis de varianza es comparar si los valores de un conjunto de datos numéricos son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos.

5 RESULTADOS

5.1 Resultados Caracterización

5.1.1 Parámetros Físico Químicos

Se tomaron 10 muestras, de la boca de salida de los efluentes en los galpones de recría y terminación (flujo grama cuasicontinuo) y del galpón de post – destete (ciclo *all in – all out*).

Con los datos obtenidos en los muestreos, para cada sistema evaluado, se calcularon los promedios con su desvió estándar correspondiente.

Tabla 7: Valores promedios encontrados para cada Sistema y variable analizada. PT y SO_4^{-2} (sulfatos) fueron expresados en parte por millón (ppm). ST, SV, SS, DQO T, DQO S, DBO_5 fueron expresados en gr/L. La alcalinidad fue expresada como gr/L de CO_3Ca . NTK y NNH_4^+ fueron expresados en % p/p de la muestra. CE fue expresado en mS/cm. Amonio cuaternario fue expresado en mg/L como bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB). *Sistema. **Resumen. ***Desvío estándar.

| S* | R** | pH | CE | ST | SV | SST | PT | DQO Total | DQO Soluble | DBO | NTK | N-NH ₄ ⁺ | SO ₄ ⁻² | CaCO ₃ | Amonio Cuaternario |
|---------|---------|-----|------|------|------|-----|-------|-----------|-------------|------|------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------|--------------------|
| Destete | Media | 6.5 | 14.7 | 13.0 | 7.6 | 3.3 | 238.1 | 27.8 | 18.9 | 13.5 | 0.22 | 0.20 | 385.0 | 6.1 | 75.00 |
| Destete | D.E.*** | 0.3 | 4.1 | 3.2 | 2.1 | 1.3 | 63.3 | 6.5 | 4.0 | 3.9 | 0.08 | 0.06 | 185.6 | 0.9 | 6.61 |
| Rec/Ter | Media | 6.3 | 13.5 | 18.0 | 12.8 | 7.4 | 423.1 | 33.1 | 20.5 | 20.3 | 0.24 | 0.18 | 365.0 | 6.1 | 49.17 |
| Rec/Ter | D.E. | 0.3 | 3.4 | 6.7 | 5.8 | 3.1 | 90.1 | 9.0 | 8.2 | 7.6 | 0.08 | 0.06 | 133.4 | 1.1 | 15.07 |

Se halló una elevada heterogeneidad en la composición de los efluentes analizados, viéndose reflejadas por los altos desvíos estándares obtenidos para cada parámetro estudiado. Esta situación puede deberse a diferentes variables, como la estacionalidad, la cantidad de animales en los galpones en los momentos de muestreos, alimentación productos sanitarios y por la cantidad de agua utilizada para la limpieza de los mismos.

El pH se mantuvo en valores ligeramente ácidos (6.5 ± 0.3 y 6.3 ± 0.3 para post destete y recría/Terminación, respectivamente), resultados similares fueron hallados por González Martineaux (2005) y Robert Pullés, *et al.*, (2010) al realizar una evaluación de los purines crudos. En lo que respecta a la CE, la misma fue elevada para los dos sistemas estudiados (14.7 ± 4.1 y 13.5 ± 3.4), esta característica fue reportada por otros autores (Sánchez & González, 2005; Martínez Suller *et al.*, 2008 y Moral *et al.*, 2005), quienes hallaron valores superiores a los 14 mS/cm. En el análisis de correlación (Anexo I) pudo verse que existe relación de este parámetro con el Na, K, NTK, $N-NH_4^+$ y la alcalinidad (77%, 77%, 80%, 75%, 89%, respectivamente), esta correlación fue observada anteriormente por otros autores que trabajaron con diferentes residuos (Bres *et al.*, 2010; Beily *et al.*, 2010; Moral *et al.*, 2005; Scotford *et al.*, 1998). La alcalinidad presentó concentraciones de 6.1 ± 0.9 y 6.1 ± 1.1 g $CaCO_3/L$ para post destete y recría/terminación respectivamente. Las elevadas concentraciones de $CaCO_3$ son una característica positiva para efluentes pasibles de ser tratados por digestión anaeróbica, debido a que la alcalinidad se relaciona con la capacidad buffer de un sistema anaeróbico.

El contenido de ST (13.0 ± 3.2 g/L para post destete y 18.0 ± 6.7 g/L para recría/terminación) observado en el efluente fue similar al encontrado por otros autores (Plaza *et al.*, 1999; Martínez Suller *et al.*, 2008; Chae *et al.*, 2008; Moral *et al.*, 2005). La mayor concentración de ST fue hallada en los galpones de recría/terminación, al igual que los SV y la DQO. Al realizar el análisis de correlación, se encontró que existe una relación de los ST con los SV y la DQO T 83% y 80% respectivamente, siendo una situación esperable debido a que gran parte de los sólidos están constituidos por materia orgánica.

La DQO mostró altas concentraciones para ambos tipos de sistemas (27.7 g/l y 33.1 g/l para destete y recría respectivamente). Se calculó la diferencia entre las concentraciones halladas de DQO T y la DQO soluble, la misma indica que el 35% aproximado de la materia orgánica presente en el efluente se encuentra en suspensión y el resto de manera soluble. Esto explica la correlación observada entre la DQOT y los ST. La alta solubilidad de la materia orgánica, podría deberse al tipo de manejo que se hace de los efluentes, en donde se los almacena en las fosas por períodos prolongados antes de ser extraídos para su disposición, permitiendo de esta manera la solubilización de parte de la materia orgánica que estaba inicialmente en suspensión. Los valores de DQO y DBO₅ encontrados coinciden con los observados por otros autores al analizar efluentes de cerdos (Plaza *et al.*, 1999; Moral *et al.*, 2005; Robert Pullés *et al.*, 2010). Se calculó la relación existente entre la DBO₅ y la DQO T, siendo de 0.48 y 0.61 para destete y recría/terminación respectivamente. Considerando que para esta relación, valores superiores a 0.4 se corresponden con efluentes con una buena biodegradabilidad, este índice indicaría que los efluentes tienen un alto porcentaje de

materia orgánica biodegradable y por lo tanto sería factible su tratamiento por métodos biológicos.

Se evidenció a lo largo de todos los muestreos un elevado contenido de nutrientes en los efluentes, originándose esta situación en que la producción de animales monogástricos, posee una baja retención de nutrientes, debido al tipo de aparato digestivo que posee. En cerdos, de cada gramo de proteína consumida por el animal, solamente el 33% es utilizado para formar tejido (carne) y el resto es eliminado en forma de subproductos, donde las formas químicas solubles de los macronutrientes (N, P, K) provenientes de la hidrólisis de la proteína, generan elevadas cargas en las deyecciones líquidas.

Los valores de NTK (0.22 ± 0.08 y 0.24 ± 0.08 % para post destete y recría/terminación, respectivamente) coinciden con los encontrados por otros autores al estudiar la composición de aguas residuales provenientes de criaderos de cerdos en confinamiento (Moral *et al.*, 2005; Martínez Suller *et al.*, 2008; Sánchez & González, 2005; Hatfield *et al.*, 1998). El nitrógeno total presente en las aguas residuales, puede clasificarse en tres grandes grupos: amoniacal, oxidado y orgánico. De todas estas formas, las que tienen una mayor importancia desde el punto de vista de la depuración son el nitrógeno amoniacal y el orgánico. La suma de ambos grupos constituye el Nitrógeno Total Kjeldahl (NTK). El nitrógeno orgánico en un agua residual procede de la materia celular, donde se encuentra principalmente en las proteínas y la urea, pudiéndose observar una disminución en su concentración conforme pasa el tiempo en una muestra de agua debido a su transformación en nitrógeno amoniacal por la acción de los microorganismos. Según los datos arrojados por este estudio, puede observarse

que el nitrógeno se presenta mayoritariamente en forma amoniacal, siendo un 90.9% y 75% del Nitrógeno Total Kjeldhal contabilizado para post destete y recría/terminación respectivamente, el cual procede fundamentalmente de la descomposición de la urea (Duthion *et al.*, 1979). Esto puede explicarse debido a que el nitrógeno excretado en forma ureica (orines) se degrada rápidamente dentro de la fosa a nitrógeno amoniacal; sin embargo, el nitrógeno orgánico (fecal) sufre una degradación lenta. Por lo tanto, el contenido de nitrógeno amoniacal en la fosa, irá aumentando con el tiempo de permanencia dentro de unos límites, mientras que el nitrógeno orgánico irá disminuyendo lentamente (Sanchez & González, 2005; Ferrer *et al.*, 1983). Por otro lado, la fracción de nitrógeno orgánico se encuentra fundamentalmente en la fase sólida del purín, y por ello resulta ser mayor en aquellos purines con mayor contenido en materia seca, como fue el caso de los galpones de recría/terminación (Leirós de la Peña *et al.*, 1983).

Los valores de fósforo hallados fueron de 238.1 ± 63.3 mg/L para post destete y de 423.1 ± 90.1 mg/L para recría/terminación. Estas concentraciones fueron menores a los encontrados por otros autores al analizar este tipo de efluentes (Sánchez & González, 2005; Scotford *et al.*, 1998; Plaza *et al.*, 1999). Sin embargo, las concentraciones observadas fueron elevadas, el fósforo se excreta como ácido fítico (ácido orgánico que contiene fósforo, presente en los vegetales, sobre todo en semillas y fibras) y como otros complejos, que resultan de los procesos de crecimiento y de digestión. La mayoría de los animales no rumiantes, como el cerdo, son alimentados principalmente con cereales como el maíz y la soja. Dado que el fósforo del fitato de estos alimentos no está disponible para la absorción intestinal por estos animales no rumiantes, el fitato no absorbido pasa directamente a través del tracto gastrointestinal,

elevando la cantidad de fósforo en el estiércol. El fósforo es excretado, tanto en la orina como en la heces.

Los valores de sulfatos (385.0 ± 185.6 y 365.0 ± 133.4 mg/L para post destete y recría/terminación, respectivamente), fueron similares a los hallados por González Martineaux (2005). Es importante estudiar el contenido de sulfatos en el efluente, cuando se pretende establecer como sistema de tratamiento la digestión anaeróbica. En presencia de sulfatos las bacterias metanogénicas compiten con las bacterias sulfato-reductoras por los substratos útiles, mostrando las últimas, ventajas termodinámicas y cinéticas sobre las primeras, tanto sobre las que consumen hidrógeno como sobre las acetoclásticas (Hulshoff Pol *et al.*, 1998). El resultado de esta competencia determinará la proporción de sulfhídrico y metano del biogás producido. El sulfhídrico es, además un importante inhibidor, aumentando el efecto inhibidor con la disminución de la relación DQO/sulfato, de forma que los substratos adaptados no muestran inhibición para valores de la relación por encima de 10, mientras que hay signos de inhibición por debajo de 7 -8. (Campos Pozuelo, 2001). Los efluentes estudiados en esta investigación, muestran una relación DQO/sulfato, superior a 10, lo que indicaría no presentar problemas de inhibición por esta sustancia.

Se estudió también la presencia de amonio cuaternario, debido a que este compuesto actúa sobre los microorganismos gran positivos y negativos y ejerce su acción biocida, ingresando a través de la membrana celular de los microorganismos y causando la desnaturalización e inactivación de proteínas esenciales presentes en el citoplasma. En este estudio se hallaron en mayores concentración en los efluentes provenientes de los galpones de ciclo “*all in all out*” (75.00 ± 6.6 mg/L CTBA y 49.17

± 15.06 mg/L CTBA para post destete y recría/terminación, respectivamente). Esta situación se explica, debido a que los galpones de post destete son desinfectados con mayor frecuencia que los de recría/terminación. El amonio cuaternario en presencia de materia orgánica (sangre, materia fecal, etc.) pierde parcialmente su acción bactericida. Sin embargo es importante tener en cuenta la presencia de este compuesto en el efluente, cuando se diseña un sistema de tratamiento biológico anaeróbico, ya que al ser un fuerte bactericida, podría tener consecuencias en el mismo.

A continuación se muestran los valores de iones hallados en los efluentes:

Tabla 8: Contenido promedio de cationes para los galpones analizados. Los valores fueron expresados en parte por millón (ppm). *Sistema. **Resumen. *** Desvío estándar.

| S* | R** | Mn | Cu | K | Zn | Fe | Ca | Na | Mg |
|----------------|-------|-----|-----|--------|-----|-----|-------|--------|--------|
| Destete | Media | 0.6 | 1.8 | 1648.6 | 1.2 | 9.1 | 259.0 | 932.8 | 122.0 |
| | DE*** | 0.2 | 0.3 | 466.0 | 0.1 | 1.7 | 74.0 | 260.51 | 55.48 |
| Rec/Te | Media | 2.6 | 1.9 | 1451.4 | 2.1 | 7.0 | 266,6 | 809,20 | 146,20 |
| | DE | 1.8 | 0.9 | 323.7 | 1.3 | 2.4 | 65,62 | 151,12 | 57,61 |

Se hallaron elevadas concentraciones de Na y K, cationes asociados, a la conductividad eléctrica. Scotford *et al.*, 1998 y Sanchez & González, 2005 hallaron concentraciones de K similares a la encontradas en este estudio, al analizar efluentes de cerdos en confinamiento. Tanto el K y el Na son adicionados en las dietas para mejorar la tasa de crecimiento y evitar posibles síntomas debido al déficit de estos minerales.

Como un porcentaje del contenido total de Na y K consumido en la ración, se estima que el cerdo excreta 66% de Na y 59% de K (Hatfield *et al.*, 1998)

El Cu es utilizado en el alimento balanceado para el engorde de los cerdos y en los antiparasitarios, este compuesto es eliminado fundamentalmente en las heces y, es por eso que se encuentran altas concentraciones en los efluentes analizados. Según Hatfield y colaboradores (1998), el cerdo excreta hasta un 86% del Cu consumido en la ración.

El Zn y el Cu, presentaron una alta correlación con los ST (correlación del 90% y 79 % para Zn y Cu, respectivamente), pudiéndose deber esto a que se encuentra mayoritariamente en la fracción sólida del mismo.

En lo que refiere a las concentraciones halladas, para los otros micronutrientes estudiados, no se encontraron dentro de los valores reportados por otros estudios, pudiéndose deber a las diferentes formulaciones nutricionales que se les dan a los animales en encierro según el establecimiento que se estudie.

5.1.2 Microbiológico y Parasitológico

A continuación se muestran los resultados promedios de los análisis microbiológicos.

Tabla 9: Resultados promedios del análisis microbiológico. Los valores de *Escherichia coli* y coliformes fecales fueron expresados como promedio de número más probable.

| Sistema | coliformes fecales | <i>Escherichia coli</i> | Presencia de Salmonella |
|---------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| Rec/Ter | 9,96 x 10 ³ /100 ml | 9,50 x 10 ³ /100 ml | Positiva |
| Destete | 8,40 x 10 ³ /100 ml | 8,40 x 10 ³ /100 ml | Negativa |

Similares resultados fueron encontrados por Robert Pullés *et al.*, (2010) al analizar la composición microbiológica de efluentes líquidos porcinos, sin embargo, González Martineaux (2005) halló concentraciones más altas para coliformes fecales, llegando a concentraciones de 10⁷ y 10⁸ (NMP/100 ml) al estudiar este tipo de efluentes.

En lo que respecta a huevos de helmintos, se halló presencia con representantes del género *Trichuris spp.* y de la familia de los *Trichostrongylideos*, con concentraciones de 150 huevos/L. La importancia de estudiar este tipo de parásitos, radica en que los helmintos, al igual que los protozoos, son patógenos para el hombre. Las características epidemiológicas que hacen de los helmintos patógenos entéricos causantes de infección por contacto con agua contaminada, son su alta persistencia en el medio ambiente, la baja dosis infecciosa, la baja respuesta inmune y la capacidad de permanencia en el suelo por largos periodos de tiempo (Arcos Pulido *et al.*, 2005). Para disposición de los efluentes, debería considerarse la remoción parcial de la cantidad de huevos helmintos/L. Para ello es necesario privilegiar los sistemas de tratamiento de baja carga específica y alto tiempo de retención (Who, 2006).

5.1.3 Ecotoxicidad

Los resultados de los bioensayos de toxicidad fueron válidos según los criterios establecidos en los protocolos de las pruebas, dado que en los ensayos de control (con agua destilada), el poder germinativo de las semillas, se mantuvo constante durante todo el experimento, con coeficiente de variación entre los promedios de la longitud radicular del 18%.

A continuación se muestran en la Tabla 10, las medidas resumen de concentración inhibitoria 50% (CI₅₀) encontrados para las dos especies vegetales ensayadas y las medidas resumen de concentración Efectiva 50% (CE₅₀) para *Daphnia*.

Para calcular la CI₅₀ en las especies vegetales y la CE₅₀ en *Daphnia* se procedió a realizar los siguientes calculos:

$$\% \text{ inhibición especie vegetal} = \frac{(\text{Prom. Control} - \text{Prom muestra})}{\text{Prom control}} * 100$$

Donde:

Prom. Control: es el promedio de crecimiento de la raíz en el control (con agua destilada) medido en cm.

Prom muestra: es el promedio de crecimiento de la raíz en la muestra, medido en cm.

$$\% \text{ Letalidad } Daphnia = \frac{(\text{prom. Control} - \text{Prom muestra})}{\text{Prom control}} * 100$$

Donde:

Prom Control: es el número de individuos vivos en el control (con aguas destilada)

Prom muestra: es el número de individuos vivos en la muestra

Una vez obtenido los % de inhibición, se procede a realizar una representación gráfica de relación dosis-respuesta, para calcular la CE₅₀ y CI₅₀.

Tabla 10: Medidas resúmenes de los bioensayos. * Desvío estándar.

| Sistema | Especie ensayada | Promedio CE ₅₀ (%) | DS* CE ₅₀ |
|---------|-------------------|-------------------------------|----------------------|
| Destete | <i>L. sativa</i> | 0.40 | 0.09 |
| Rec/Ter | <i>L. sativa</i> | 4.30 | 1.20 |
| Destete | <i>R. sativus</i> | 2.23 | 0.72 |
| Rec/Ter | <i>R. sativus</i> | 6.40 | 1.31 |
| Destete | <i>D. magna</i> | 2.80 | 0.75 |
| Rec/Ter | <i>D. magna</i> | 2.71 | 0.85 |

Los efluentes ensayados mostraron un alto grado de toxicidad, al ser expuestos a los organismos vivos, no pudiendo superar, para una concentración inhibitoria 50%, una dilución del 5% (v/v), 7% (v/v) y 3% (v/v) para lechuga, rabanito y *D. magna* respectivamente para recría/terminación. En el caso de post destete, los efluentes presentaron mayor grado de toxicidad, no superando diluciones de 0.50% (v/v), 2.5% (v/v) y 3.0% (v/v) para *L. sativa*, *R. sativus* y *D. magna*, respectivamente.



Figura 28: Preparación de las diluciones de efluente de cerdo para ensayo con *D. magna*



Figura 29: Ensayo control con agua destilada de la *D. magna*

Se realizó un análisis multivariado, de componentes principales (PCA) para asociar las variables físico-químicas ensayadas con los efectos biológicos encontrados.



Figura 30: inhibición de la germinación por exposición a los efluentes

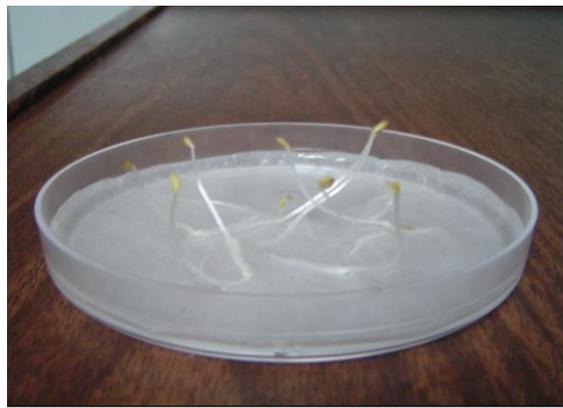


Figura 31: ensayo con *L. sativa*, control con agua destilada

El fósforo total (PT) se asoció positivamente con la CI50 de las plántulas, pudiéndose deber a que este macronutriente en las concentraciones encontradas, actuó como estimulador del crecimiento.

Según el componente principal 1, que explica el 51.5% de la variabilidad, los efectos inhibitorios sobre las plántulas se asociaron mayoritariamente a la CE, DQO, el NTK y N-NH_4^+ , mostrando una relación inversa con el CI50-120h de ambas especies (Figura 32), estos resultados coinciden con los encontrados por Young *et al.*, 2011, al estudiar la toxicidad de efluentes provenientes de un reactor anaeróbico. Tiquia & Tam (2000), observaron que en el estiércol de cerdos, el N-NH_4^+ , Cu y Zn en altas concentraciones, son los compuestos químicos que más afectan la germinación de las plantas.

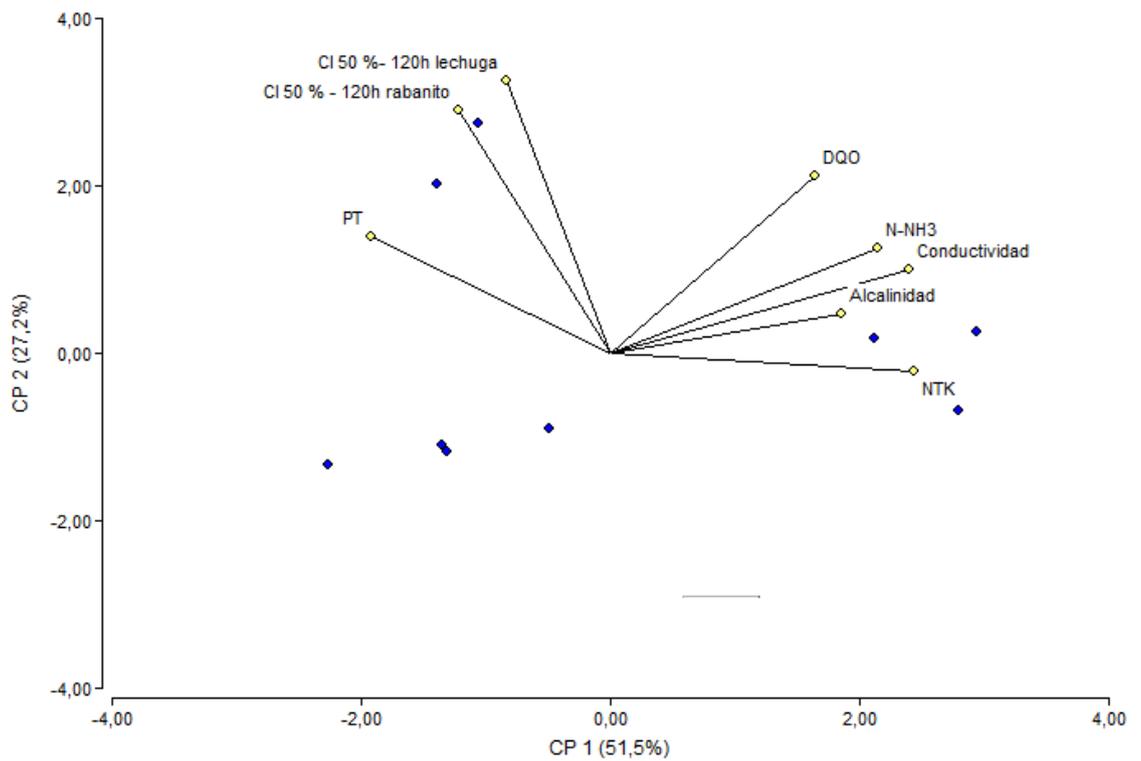


Figura 32: Gráfico del PCA para *L. sativa* y *R. sativus*

La *D. magna* presentó el mismo comportamiento que las especies vegetales ensayadas, en donde la DQO, CE, el NTK y el N-NH_4^+ se asociaron con el aumento de toxicidad del efluente (Figura 33).

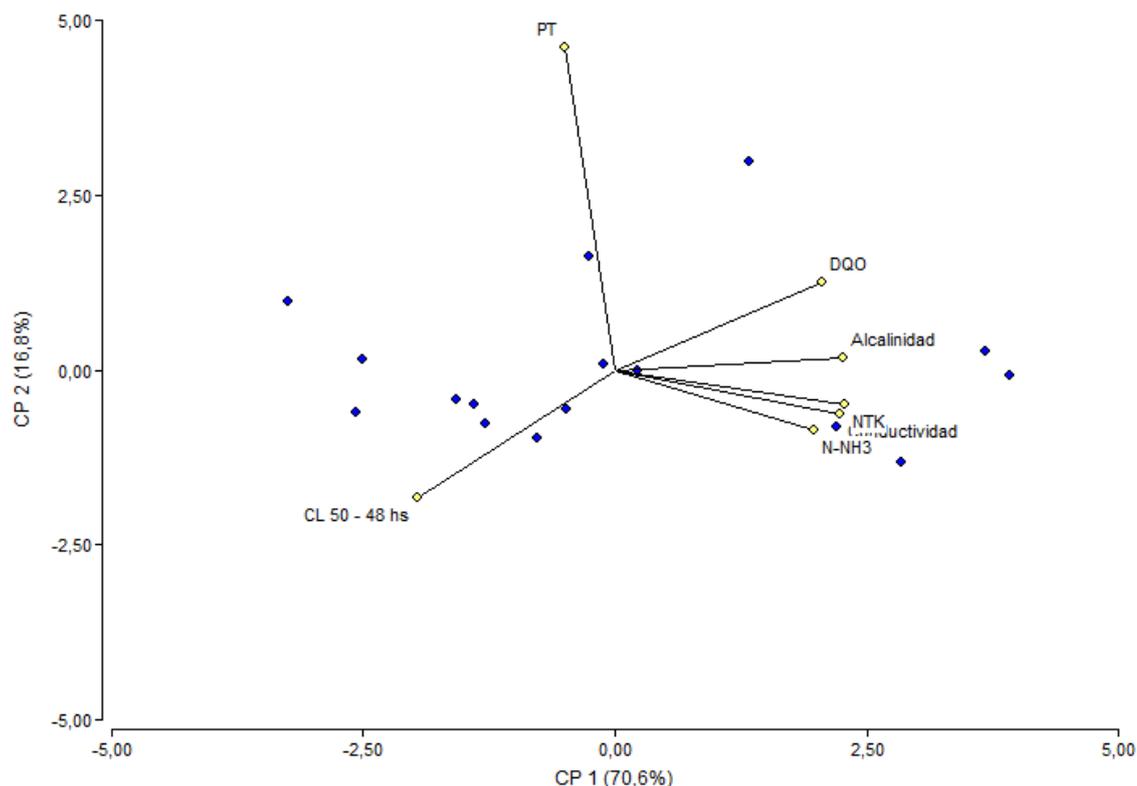


Figura 33: Gráfico de PCA, para *D. Magna*

5.2 Verificación del Inóculo: Ensayo de Actividad Metanogénica

Como ya se explicó en el capítulo de introducción (punto 4.6.1.3), la actividad metanogénica específica (AME), puede ser definida como la capacidad máxima de producción de metano (CH_4) por unidad de tiempo y unidad de biomasa, por un consorcio de microorganismos anaeróbicos, realizada en condiciones controladas de laboratorio, con el fin de validar la actividad bioquímica máxima de conversión de sustratos orgánicos a biogás. Este ensayo permite evaluar la capacidad del inóculo de degradar el sustrato, en efecto el resultado de AME, expresa cuánta DQO es capaz de degradar un gramo de SSV del lodo por unidad de tiempo.

Se trabajó con un inóculo (lodo) proveniente de un reactor anaeróbico de tipo contacto para el tratamiento de residuos citrícolas, en condiciones mesofílicas (19 -22 °C). A continuación en la Tabla 11, se muestran las características principales del mismo.

Tabla 11: Características físico químicas del inóculo evaluado. Los valores están expresados en g/L.

| Inóculo | DQO | ST | SV | SST | SSV |
|----------------|------------|-----------|-----------|------------|------------|
| Media | 44.7 | 41.8 | 29.9 | 35.7 | 24.4 |
| Desvío | 2.6 | 0.46 | 0.20 | 1.2 | 1.8 |

Para la realización del ensayo, se trabajó con dos relaciones diferentes de S/I de 0.26 g DQO/g SSV (R1) y 0.5 g DQO/g SSV (R2). Para cada relación se realizó un triplicado y un blanco control. Se utilizó acetato de sodio (2.0 g DQO/l) como única fuente de carbono y energía. Utilizando este compuesto, se privilegia la vía acetoclástica del proceso anaeróbico, de la cual proviene la mayor parte del metano producido (alrededor del 70%).

En la Tabla 12 se muestran el promedio de la producción acumulada de metano para cada relación S/I estudiada.

Tabla 12: Producción acumulada de CH₄. R1 y R2 son expresados en ml CH₄ de *Tiempo (días).

| T* | R1 | R2 |
|------------|-----------|-----------|
| 0 | 0 | 0 |
| 0,6 | 24.1 | 19.8 |
| 1,6 | 81.8 | 55.6 |
| 2,7 | 133.0 | 103.5 |
| 3,6 | 171.3 | 146.0 |
| 4,6 | 180.3 | 184.9 |

En base a los datos de producción diaria de CH₄ se graficaron los valores de producción acumulada de metano contra el tiempo (Figura 34).

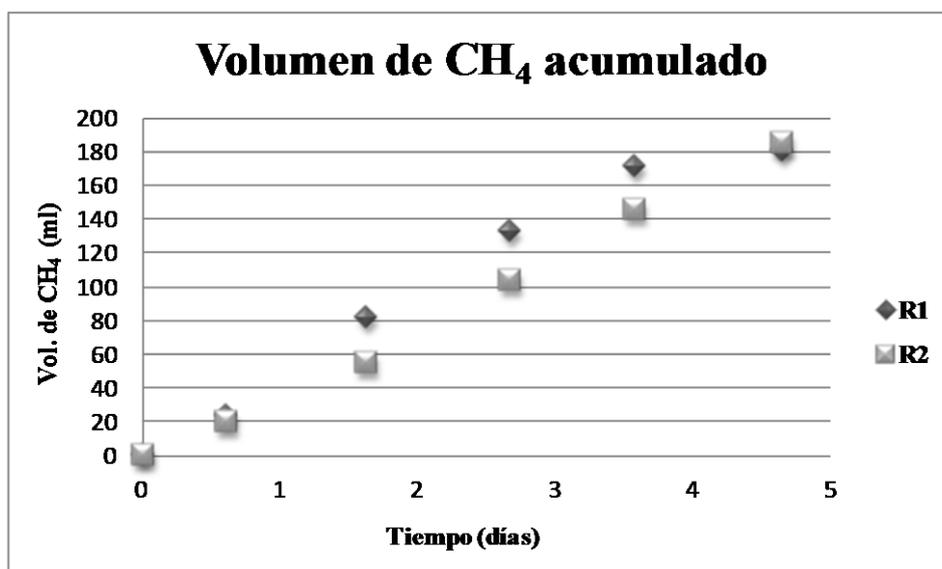


Figura 34: Curva de producción acumulada de CH₄

Una vez graficada la curva de producción de CH₄, se procedió a calcular la pendiente (m):

$$m = \Delta \text{prod. Acumulada CH}_4 / \Delta \text{Tiempo}$$

Donde:

Δ prod. Acumulada CH₄: Variación de la producción acumulada de CH₄ en ml

Δ tiempo: variación del tiempo en días

Una vez obtenido el valor de la pendiente y calculados los gramos de sólidos suspendidos volátiles utilizados en cada reactor, se calculó la actividad metanogénica específica (Anexo II, se muestran los cálculos realizados para determinar el AME)

$$\text{AME (gDQO/gSSV*d)} = (m/350) / \text{g de SSV}$$

Donde:

g de SSV: (vol. de inóculo agregado*conc. inicial de SSV del inóculo)/1000

350: factor de conversión, el cual indica que, por cada gramo de DQO que se degrada a 35 °C, se obtienen 350 ml de CH₄.

La AME que se obtuvo en esta investigación fue de 0.05 y 0.08 (gDQO/gSSV* día), para el R1 y el R2, respectivamente. Por lo tanto se obtuvo una mejor performance, cuando la relación S/I utilizada fue de 0.5 g DQO/g SSV, es decir cuando la concentración inicial de inóculo fue menor (7,6 gr SSV/l para R1 y 4 gr SSV/l para R2). Esto se encuentra en concordancia con Monteggia (1997) quien evaluó el efecto de la concentración de microorganismos en las pruebas de AME y concluyó que, el rango

óptimo para estas pruebas ocurre, cuando se trabaja con concentraciones de 2 a 5 g SSV/l.

Los valores de AME obtenidos, son similares a los reportados por Field (1987) para lodos provenientes de tratamientos anaeróbicos con similar contenido de SSV.

El lodo seleccionado como inóculo, en el presente trabajo, para la realización del ensayo de biodegradabilidad, tuvo un AME adecuado según Cendales Ladino (2011) quien reportó que, para la realización de estos ensayos se deben utilizar lodos con AME en el rango comprendido entre 0.05 y 1.2 gDQO/gSSV*día.

5.3 Ensayos de Biodegradabilidad

Como se detalló en el capítulo de materiales y métodos (4.6), el ensayo de biodegradabilidad anaeróbica se realizó utilizando efluente de cerdo como sustrato con dos relaciones S/I diferentes, además cada reactor fue inoculado con un lodo floculento, proveniente de un reactor de tipo mezcla completa, usado en el tratamiento de efluente cítrico, con un AME de 0.08 gDQO/gSSV*día. Se realizaron dos tratamientos, cada uno por triplicado y con su blanco control. El tratamiento 1 (T1) tuvo una relación S/I de 0.6 de gr DQO/ gr de SSV, mientras que el tratamiento 2 (T2) mantuvo una relación S/I de 0.37 gr DQO/ gr de SSV. El blanco control fue realizado con el mismo volumen de inóculo para cada tratamiento (153 y 140 ml para T1 y T2, respectivamente) y luego llevado con medio nutritivo hasta el volumen final en el reactor (448 ml). La producción neta de CH₄ en los tratamientos, fue obtenida restando la producción de CH₄ de su blanco correspondiente.

A continuación se muestra la Tabla 13 utilizada para el armado de cada tratamiento.

Tabla 13: Datos utilizados para el armado de cada tratamiento

| | Unidad | T1 | T2 |
|---|---------------|-----------|-----------|
| Vol. total de reactor | ml | 560 | 560 |
| Vol. cámara de gas | ml | 112 | 112 |
| Vol. total de líquido en el reactor (sustrato + inóculo + medio nutritivo) | ml | 448 | 448 |
| S/I | --- | 0,6 | 0,37 |
| Conc. inicial de inóculo (I) | g SSV/L | 24,4 | 24,4 |
| Vol. de inóculo | ml | 153 | 140 |
| Conc. inicial del sustrato (S) | g DQO/L | 32.0 | 32.0 |
| Vol. de sustrato | ml | 70 | 40 |
| Vol. de medio nutritivo | ml | 225 | 268 |

El seguimiento del ensayo se realizó mediante la medición periódica del volumen de biogás (por método manométrico) y de su calidad (por método cromatográfico) (Punto: 4.6.1.2.2.); además se realizó una caracterización inicial y final de los parámetros físico – químicos más relevantes para el estudio del proceso de degradación anaeróbico (Punto: 4.6.1.2.1.).

5.3.1 Evolución de los Parámetros Físico Químicos

Si bien cada uno de los ensayos se realizó por triplicado, en este trabajo sólo se presentan los resultados correspondientes al promedio de cada réplica, con los desvíos estándares correspondientes. Las variables analíticas medidas para T1 y T2, fueron realizadas sobre la muestra final preparada para la realización del ensayo (mezcla del sustrato, inóculo y el medio nutritivo en las proporciones explicadas en la Tabla 13).

Tabla 14: Resultados de los parámetros físico-químicos evaluados. Los valores de: ST, SV, DQO, NTK, N-NH₄⁺, N-org (orgánico) y NH₃ libre (FAN), Ácidos grasos volátiles (AGV), Alcalinidad parcial (AP), Alcalinidad total (AT) son expresados en g/L. * Efluente de Cerdo.

| Parámetro | Muestra | Inicio | | Final | |
|-------------------------------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| | EC* | T1 | T2 | T1 | T2 |
| pH | 6.8 ± 0.1 | 7.0 ± 0.0 | 6.9 ± 0.0 | 7.2 ± 0.07 | 7.1 ± 0.0 |
| ST | 14.4 ± 0.5 | 18.7 ± 0.0 | 16.4 ± 0.3 | 16.1 ± 0.0 | 14.4 ± 0.1 |
| SV | 8.8 ± 0.25 | 10.51 ± 0.0 | 9.4 ± 0.3 | 8.6 ± 0.1 | 7.6 ± 0.1 |
| DQO | 32.9 ± 1.76 | 24.23 ± 0.5 | 12.53 ± 0.62 | 15.2 ± 0.7 | 7.4 ± 0.2 |
| AGV | 2.6 ± 0.09 | 0.7 ± 0.01 | 0.5 ± 0.01 | 0.08 ± 0.00 | 0.06 ± 0.00 |
| AP | 2.6 ± 0.00 | 1.3 ± 0.02 | 0.8 ± 0.02 | 4.3 ± 0.14 | 1.3 ± 0.03 |
| AT | 6.2 ± 0.02 | 2.0 ± 0.02 | 1.3 ± 0.02 | 6.0 ± 0.1 | 1.7 ± 0.2 |
| NTK | 5.2 ± 0.00 | 4.3 ± 0.04 | 3.9 ± 0.02 | 4.7 ± 0.05 | 4.4 ± 0.04 |
| N-NH₄⁺ | 3.8 ± 0.00 | 2.7 ± 0.04 | 1.8 ± 0.00 | 3.3 ± 0.04 | 2.8 ± 0.04 |
| N-org | 1.4 | 1.6 | 2.1 | 1.4 | 1.6 |
| FAN | ----- | 0.04 ± 0.0 | 0.02 ± 0.0 | 0.06 ± 0.01 | 0.04 ± 0.0 |

Como puede observarse, el pH se mantuvo estable a lo largo de todo el proceso, encontrándose dentro del rango óptimo para el desarrollo de las bacterias anaeróbicas

(6.5 – 8) (Don Jun *et al.*, 2009); mostrando un aumento al final del ensayo para ambos tratamientos ($p < 0.05$). Este aumento está en concordancia con el aumento de la alcalinidad y la disminución de los AGV encontrada en cada reactor al final del ensayo. De acuerdo al estudio realizado por Cendales Ladino (2011) el valor del pH depende de la resistencia que presentan los sistemas buffer ($\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$ y $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$) así como el contenido de ácidos grasos volátiles. Cuando el contenido de estos ácidos disminuye producto de la formación de metano, se observa un leve incremento del pH como consecuencia de la acción de los sistemas amortiguadores.

En lo que refiere a los AGV, puede observarse una disminución del 88.3% y 89.1% para el T1 y T2, respectivamente (Figura 35).

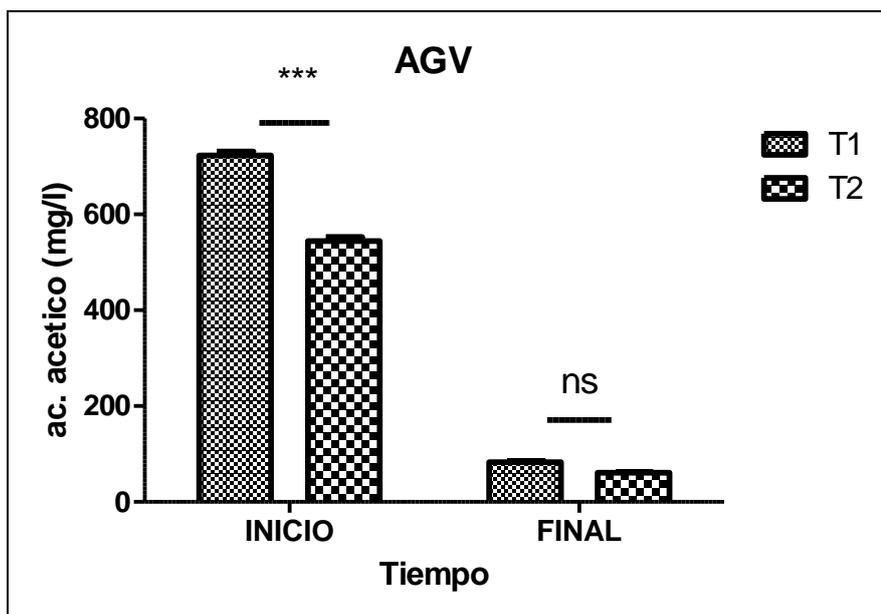


Figura 35: Valores promedio de AGV al inicio y al final del ensayo para ambos tratamientos. Las barras horizontales representan el error estándar durante el experimento. *** $p < 0.0001$; ns: no significativa. (ANOVA de dos factores de medidas repetidas, test Bonferroni)

Al realizar el análisis estadístico se observó una diferencia significativa ($p < 0.0001$) del contenido de AGV entre T1 y T2 al inicio del ensayo. Además se halló diferencia significativa en el contenido inicial y final de AGV para ambos tratamientos. Este comportamiento es típico del proceso anaeróbico, en donde estos ácidos se encuentran presentes, debido a que en la fase acidificación y acetogénesis, la materia orgánica se transforma en estos ácidos, para luego ser gradualmente descompuestos, al ser consumidos por las bacterias metanogénicas que los utilizan como sustrato, para la posterior formación de metano (Cendales Ladino, 2011) .

Por otro lado, se calculó el indicador de estabilidad AGV/AT, éste se mantuvo en el rango de 0,3 – 0,4, para ambos tratamientos. Este valor indica condiciones estables del proceso anaeróbico. (Cecchi *et al.*, 2005; Beily *et al.*, 2010; Bres *et al.*, 2010).

En lo que respecta al contenido de nitrógeno total (NTK) se observó el efecto de dilución, en el sustrato inicial, al realizar las mezclas para cada tratamiento (Tabla 14). Pudo observarse un aumento en el contenido de $N-NH_4^+$ durante el proceso anaeróbico ($p < 0.0001$).

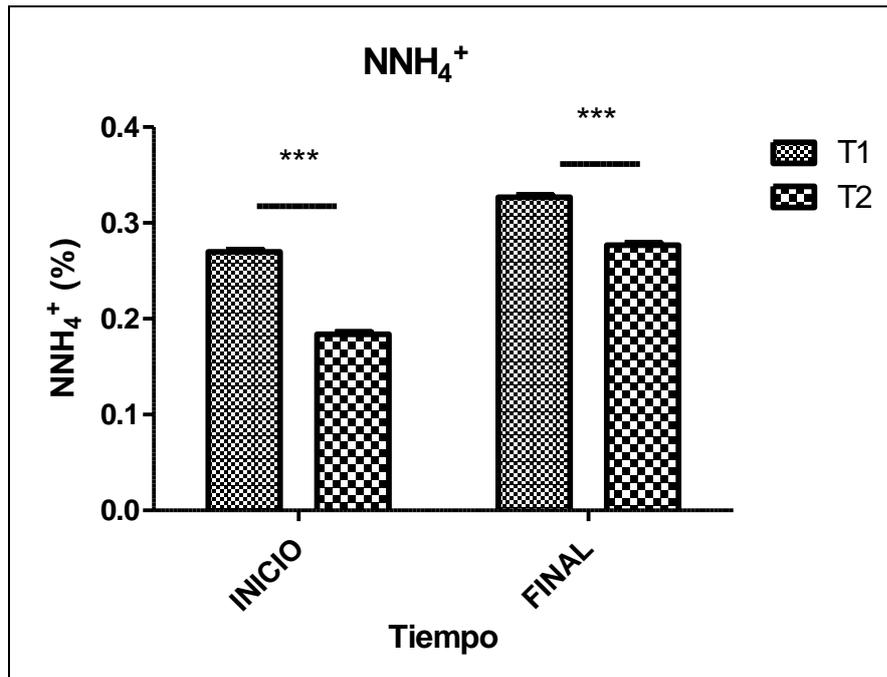


Figura 36: Valores promedio del N-NH₄⁺ al inicio y al final del ensayo para ambos **tratamientos**. Las barras horizontales representan el error estándar durante el experimento. *** p < 0.0001 (ANOVA de dos factores de medidas repetidas, test Bonferroni)

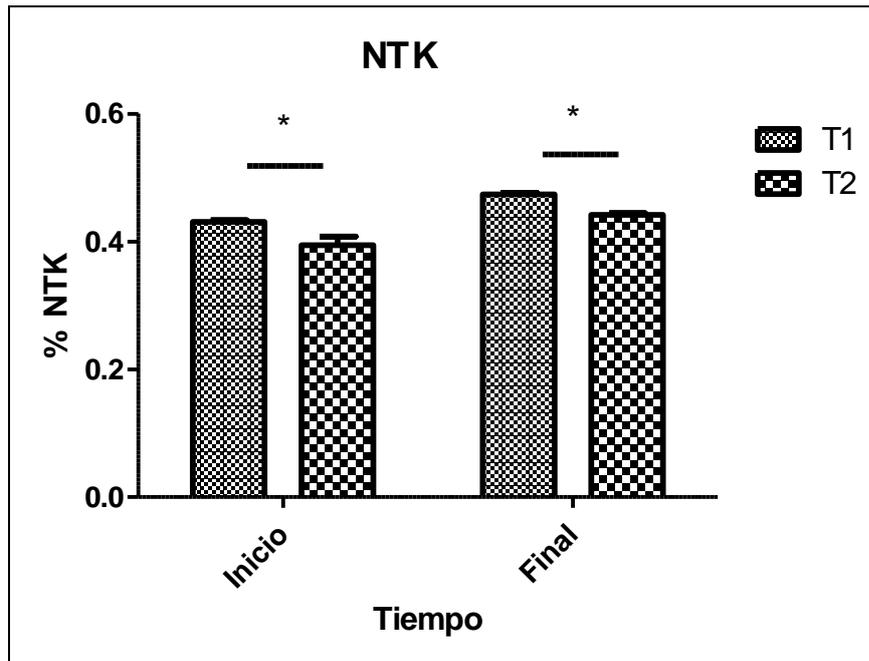


Figura 37: Valores promedio del NTK al inicio y al final del ensayo para ambos tratamientos. Las barras horizontales representan el error estándar durante el experimento. * $p < 0.05$ (ANOVA de dos factores de medidas repetidas, test Bonferroni)

Durante la digestión anaeróbica se produce la mineralización del nitrógeno orgánico mediante la hidrólisis enzimática de las proteínas. Este hecho se constata al observar la disminución del N- org y el aumento del N-NH_4^+ ocurrido durante el transcurso del ensayo. (Tabla 14).

Con los valores de N-NH_4^+ , pH y temperatura, se calculó el N-NH_3 libre (FAN), para determinar un posible inhibidor del proceso. Este parámetro se estimó según la fórmula desarrollada por Hansen y colaboradores (1998) (En el Anexo III, se muestran los cálculos realizados para obtener las concentraciones de FAN en el efluente).

$$[\text{NH}_3] = \frac{[\text{NH}_4^+]_T}{10^{\text{pH} - \text{pK}_a}}$$

$$1+10^{\text{pKa-pH}}$$

Donde: pKa es en función de la temperatura, la cual se obtuvo mediante una regresión polinómica.

$$\text{pKa}=10.072-0.0356*\text{temp}+9*10^{-5}*\text{temp}^2+4*10^{-8}*\text{temp}^3$$

La importancia de determinar el FAN, en procesos de digestión anaeróbica, radica en que se ha demostrado que es uno de los compuestos inhibitorios más relevantes, debido a que la forma no ionizada (NH_3) es más tóxica que la ionizada (NH_4^+), dado que es capaz de penetrar la pared celular (Valogras, 2010). Los valores obtenidos al inicio del ensayo en este trabajo fueron de 0.035 g NH_3 /l para T1 y de 0.019 g NH_3 /l para T2, mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. Aquí, nuevamente, se observó el efecto de dilución del sustrato inicial. El T1, tratamiento menos diluido, se encontró dentro del rango de inhibición propuesto por Hashimoto (1986), quien expuso que en condiciones mesófilas la inhibición por FAN, se produce con concentraciones de 0,03 g NH_3 /L, cuando se trabaja, como en este caso, con inóculos sin aclimatación previa al sustrato. Sin embargo, los límites de inhibición expuestos en bibliografía, varían mucho en función al tipo de sustrato, la temperatura, el pH, período de adaptación, dilución del sustrato (Mc Carty, 1964; Hashimoto, 1986; Gallert *et al.*, 1998).

Al final del ensayo se observó un aumento de FAN del 46.8% y del 52.6% para T1 y T2, respectivamente, mostrando diferencia significativa con el inicio en ambos tratamientos ($p < 0.05$). Esta situación se explica debido a que el FAN es dependiente del pH y el N-NH_4^+ , parámetros, que en ambos tratamientos, sufrieron un incremento.

5.3.2 Remoción de Materia Orgánica

Los SV, presentaron una reducción de 17.71% y 19.53% para el T1 y T2 respectivamente, porcentajes de reducción similares fueron obtenidos por Campos Pozuelo (2001) al realizar ensayos de biodegradabilidad con purín de cerdo puros, en condiciones mesofílicas. En lo que respecta a la remoción de la DQO, se observó una reducción del 37.26% y 40.94% para el T1 y T2 respectivamente. El análisis estadístico mostró una diferencia significativa ($p < 0.0001$) del contenido de DQO entre T1 y T2 y entre inicio y final del ensayo para cada tratamiento; viéndose una interacción entre los dos factores analizados. Nuevamente al inicio del ensayo, se observa el efecto de dilución del sustrato. Por otro lado, en lo que respecta a la eficiencia en la remoción de la materia orgánica, el T2 presentó mayor degradación de la misma.

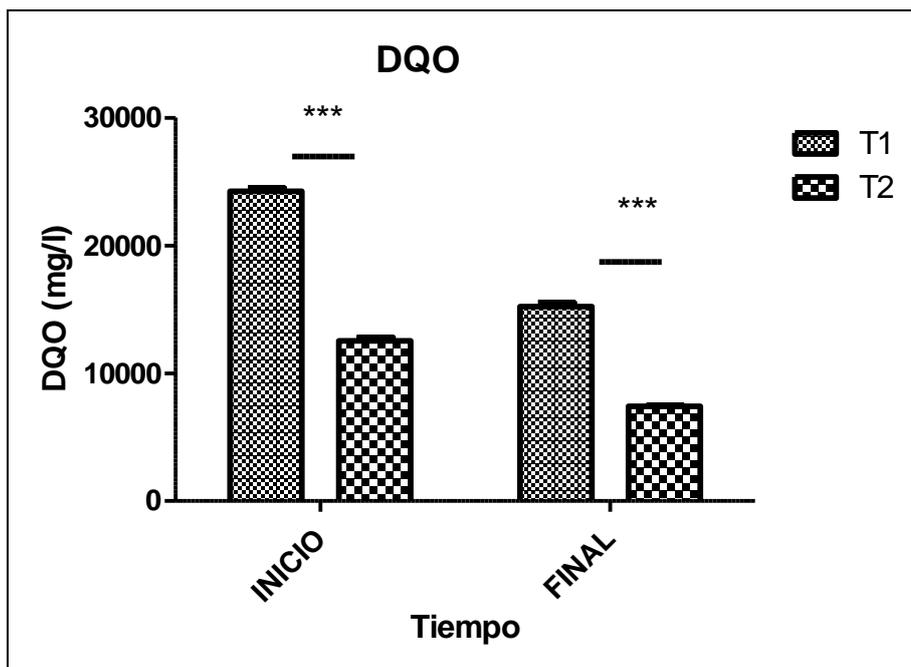


Figura 38: Valores promedio de la DQO al inicio y al final del ensayo para ambos tratamientos. Las barras horizontales representan el error estándar durante el experimento. *** $p < 0.0001$ (ANOVA de dos factores de medidas repetidas, test Bonferroni)

5.3.3 Producción de Biogás y Metano

La producción de CH_4 acumulada obtenida a lo largo del ensayo es mostrada en la Figura 39.

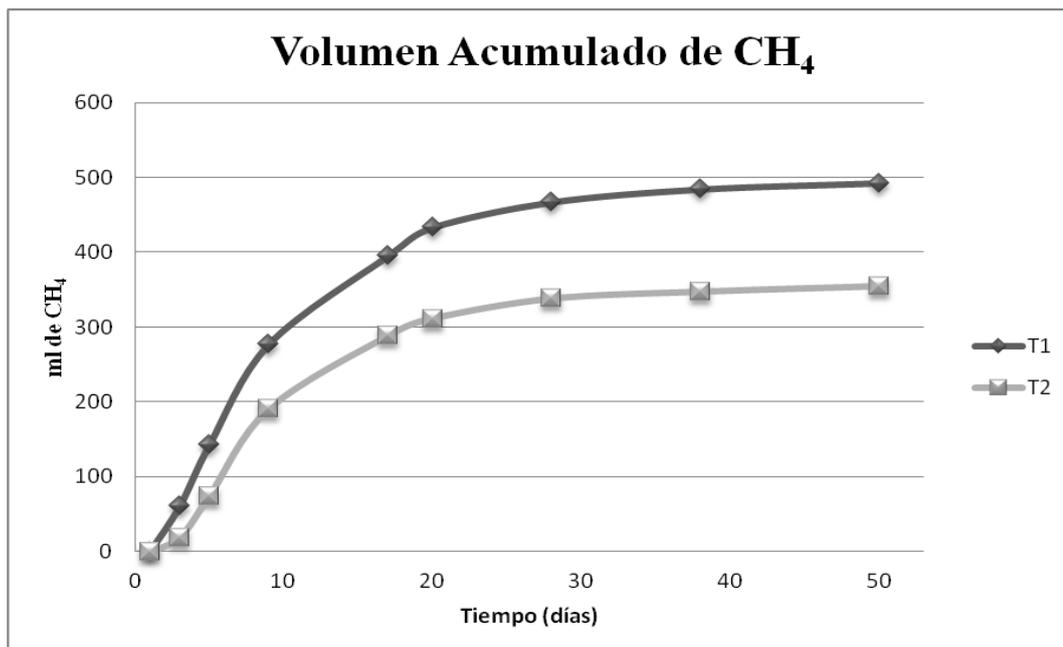


Figura 39: Producción acumulada de metano durante el transcurso del ensayo

Ambos tratamientos, tuvieron el mismo comportamiento a lo largo del tiempo. Pudo observarse que la fase exponencial de la producción, alcanzó su máximo punto alrededor del día 17, para luego continuar con la fase estacionaria que tuvo una duración de 32 días, hasta el cese de producción.

Se calculó el Potencial bioquímico de metano (BMP), mediante la siguiente fórmula

$$\text{BMP} = \text{ml de CH}_4 \text{ acumulada} / \text{DQO consumida}$$

El T2 presentó mejor performance, siendo de 53.3 ml CH₄/g DQO_c para el T1 y de 65.66 ml CH₄/g DQO_c para T2. Este resultado, se encuentra en concordancia con los % de remoción de materia orgánica (DQO), en donde el T2, presentó mayores % de

remoción, pudiéndose explicar por la disminución en las concentraciones de sustancias inhibitoras del proceso por efecto de dilución del sustrato.

La producción y calidad de biogás y CH₄ diaria, son mostradas en la Figuras 40 y 41. No se hallaron diferencias en la producción diaria entre los tratamientos 1 y 2.

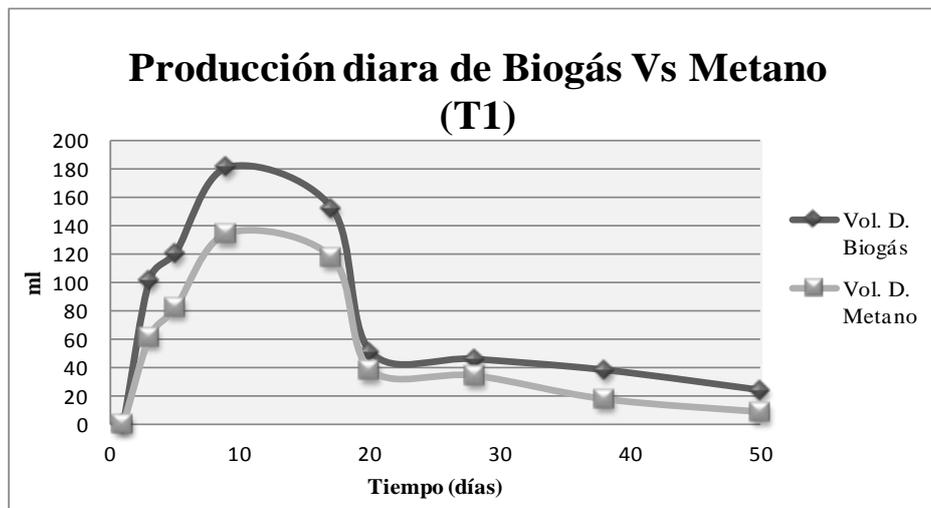


Figura 40: Producción diaria de biogás y CH₄ para T1

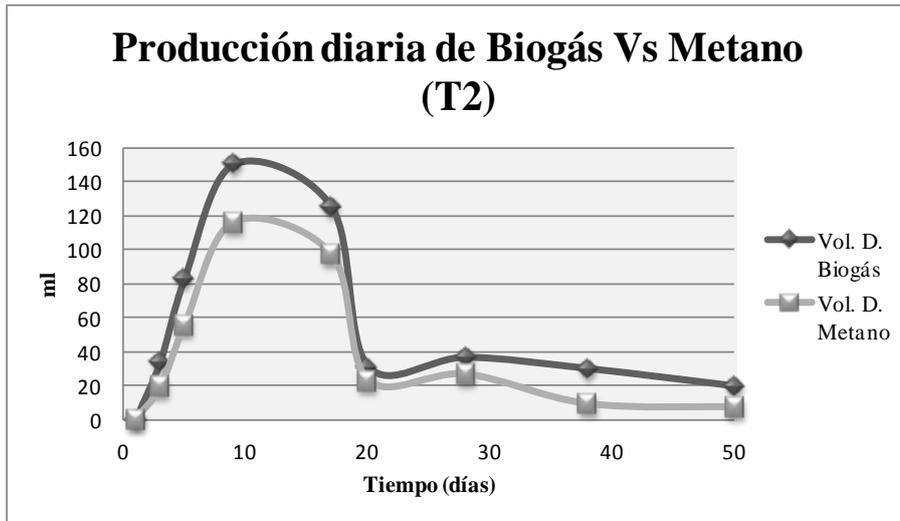


Figura 41: Producción diaria de biogás y CH₄ para T2

Al analizar la producción diaria de CH₄ se observó, para ambos tratamientos, la máxima producción entre los días 9 y 17 del ensayo. Durante los primeros días la producción de biogás y CH₄ fue baja debido a que las bacterias metanogénicas se encontraban en el período de adaptación al sustrato. Entre los días 9 y 17 la producción se incrementó, encontrándose la máxima actividad metanogénica. Luego del día 17, comenzó a observarse un decrecimiento en la producción de CH₄, pudiéndose atribuir al comienzo del agotamiento del sustrato.

En las Figuras 42, 43 y 44 se muestran los % de CH₄ y CO₂ en el biogás y la evolución del N₂ a lo largo del tiempo. La comparación estadística entre tratamientos, mostró que no existieron diferencias significativas para estos compuestos gaseosos. Independientemente de la concentración inicial de sustrato (0.6 y 0.37 de S/I), se generaron similares porcentajes de CH₄ y CO₂ a lo largo del ensayo. Por otro lado, la composición del biogás varía a lo largo del tiempo en ambos tratamientos ($p < 0.0001$),

mostrando que el porcentaje de los gases no se mantiene constante durante el proceso de degradación anaeróbica.

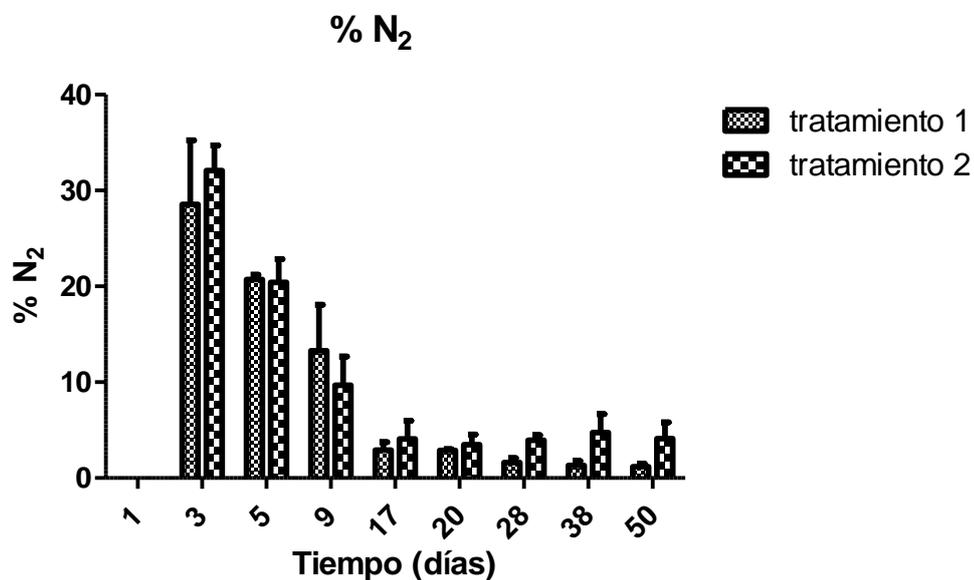


Figura 422: Evolución del porcentaje de N₂ en el reactor a lo largo del ensayo. Las barras horizontales representan el error estándar durante el experimento (ANOVA de dos factores de medidas repetidas, test Bonferroni)

Al analizar la composición del biogás y su evolución durante el transcurso del ensayo, puedo observarse que durante los dos primeros días el porcentaje de nitrógeno (N₂), fue mayor, producto de la purga inicial realizada con ese gas, dentro de los reactores (Figura 42). Luego a partir del día 3 comienza cuantificarse la producción de CH₄ y CO₂, verificando de esta manera, el comienzo del proceso anaeróbico. A medida que se producen el CH₄ y CO₂, se observa la disminución del gas N₂, producto del desplazamiento. Para ambos tratamientos, el máximo porcentaje de CH₄ fue del 77%,

similares resultados obtuvo Campos Pozuelo (2001), al analizar la composición de biogás obtenida de la digestión anaeróbica mesofílica de efluentes de cerdos.

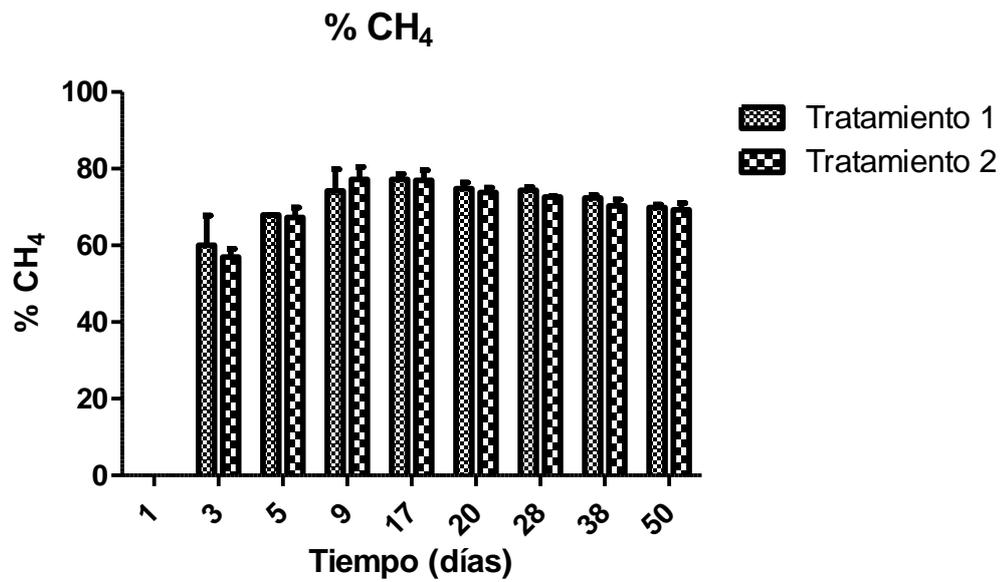


Figura 43: Evolución del porcentaje de CH₄ en el biogás a lo largo del ensayo. Las barras horizontales representan el error estándar durante el experimento (ANOVA de dos factores de medidas repetidas, test Bonferroni).

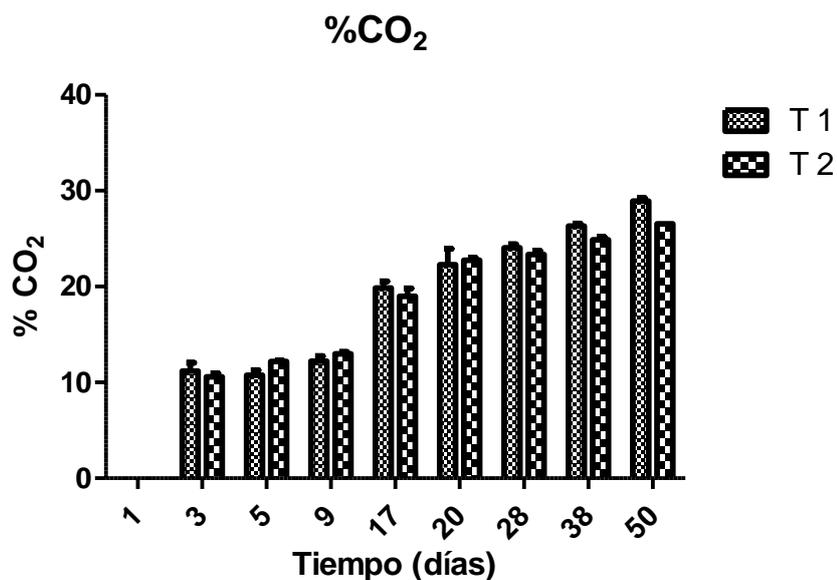


Figura 44: Evolución del porcentaje de CO₂ en el biogás a lo largo del ensayo. Las barras horizontales representan el error estándar durante el experimento (ANOVA de dos factores de medidas repetidas, test Bonferroni).

A partir del día 20, se observó una disminución del porcentaje de CH₄ y un aumento del porcentaje de CO₂ en el biogás (Figuras 43 y 44). Esta situación podría estar describiendo un proceso de inhibición de las bacterias metanogénicas, por efecto del FAN. Como muestra la Tabla 14, ambos tratamientos sufrieron un aumento de este compuesto al final del ensayo, encontrándose en concentraciones por encima de los límites propuestos por varios autores (Mc Carty 1964; Hobson & Shaw, 1976; Koster & Lettinga, 1984; Hashimoto, 1986). Las bacterias metanogénicas, son sensibles a altas concentraciones de N-NH₄⁺ y FAN, por lo que éstas podrían haberse inhibido levemente. De esta forma, podría explicarse la disminución del porcentaje de CH₄ en relación al de CO₂, donde las bacterias encargadas de producir el dióxido de carbono

(acidogénicas), al no verse afectadas por el FAN, continuaron produciendo este compuesto. Kroeker *et al.* (1979) observó que la producción CH_4 es progresivamente inhibida a medida de que las concentraciones de amonio aumentan por encima de 2 g/l; sin embargo el cese completo de la producción de CH_4 no se produce incluso con concentraciones de 7 g/l de N-NH_4^+ .

Los resultados obtenidos en este trabajo, demuestran que la concentración de FAN que inhibe totalmente al proceso anaeróbico se encuentra por encima de 0.06 g/L, similares resultados fueron hallados por Campos Pozuelo (2001) quien reportó valores inhibitorios por encima de 0.35 g/L y por Gallert *et al.* (1998) que los halló en 0.092 g/L.

6 CONCLUSIONES

Una vez finalizada la presente investigación, se desglosan aquí, las principales conclusiones, las cuales responden a los objetivos planteados:

Objetivos 1 y 2: “Evaluar la composición físico química, microbiológica, parasitológica y ecotoxicológica de los efluentes generados en los galpones de post destete y en los de recría/terminación de la Estación Experimental Agropecuaria de Marcos Juárez”.

- Los valores hallados en esta investigación, están en un rango similar al estudiado por otros investigadores.
- Se halló una elevada heterogeneidad en la composición de los efluentes analizados, viéndose reflejadas por los altos desvíos estándares obtenidos para cada parámetro estudiado.
- La alcalinidad presentó concentraciones elevadas en los efluentes estudiados, siendo una característica positiva, para efluentes pasibles de ser tratados por digestión anaeróbica, debido a que la alcalinidad se relaciona con la capacidad buffer de un sistema anaeróbico.
- Se evidenció a lo largo de todos los muestreos un elevado contenido de nutrientes en los efluentes, originándose esta situación en que la producción animal (animales monogástricos, como el cerdo) es un sistema ineficiente.

- Los efluentes estudiados en esta investigación, muestran una relación DQO/sulfato, superior a 10, lo que indicaría no presentar problemas de inhibición por esta sustancia.

Se hallaron altas concentraciones de amonio cuaternario, siendo este un posible inhibidor del proceso anaeróbico. En esta temática debería plantearse una línea futura de investigación, para estudiar en ensayos AME, las concentraciones inhibitorias de este compuesto. Además por eso que se debería plantearse la sustitución de este producto como desinfectante, para evitar posible inhibición del sistema de tratamiento biológico.

- Es necesario considerar, debido al aspecto sanitario, en especial al contenido de huevos de helmintos, un sistema de reducción de los mismos, dentro de la cadena de tratamiento, especialmente privilegiando los de baja carga y alto tiempo de retención hidráulico.
- Los efluentes ensayados mostraron un alto grado de toxicidad, al ser expuestos a los organismos vivos.

Objetivo 2: “Estudiar la actividad metanogénica específica del lodo seleccionado como inóculo, a fin de asegurar que sea adecuado para realizar los ensayos de biodegradabilidad”.

- Se obtuvo una mejor *performance* de AME, cuando la relación Sustrato/Inóculo utilizada fue mayor (0.26 g DQO/g SSV (R1) y 0.5 g DQO/g SSV).
- El inóculo evaluado presentó un AME de 0.08 g DQO/g SSV*día, mostrando una actividad adecuada para ser utilizada en ensayos de biodegradabilidad anaeróbica.

Objetivo 3: “Estimar la biodegradabilidad de los efluentes generados en los galpones de recría/terminación, utilizando dos relaciones Sustrato/ inóculo (S/I) diferentes”.

- El ensayo de biodegradabilidad presentó condiciones estables en cuanto a su capacidad buffer, usando como indicador la relación AGV/AT, a lo largo de los 50 días.
- El mayor porcentaje de remoción de materia orgánica y Potencial bioquímico de metano (BMP) se observó en el T2, cuando la relación S/I era menor (37.26% y 40.94% de remoción de DQO para el T1 y T2 respectivamente y un BMP de 53.3 ml CH₄/g DQO_c para el T1 y de 65.66 ml CH₄/g DQO_c para T2).

Se observó inhibición del proceso metanogénico, debido al FAN con concentraciones menores a 0.06 y a partir de los 20 días del ensayo.

Finalmente, se concluye que se cumple con la hipótesis planteada en esta tesis, debido a que se demuestra la viabilidad técnica de la digestión anaeróbica, como sistema que trata parcialmente los efluentes porcinos. Por lo cual es factible integrar esta tecnología dentro de la cadena de tratamientos para establecimientos intensificados de cerdos.

7 BIBLIOGRAFÍA

APHA; AWWA; WPCF. 1992. Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales. 17th Ed. Diaz de Santos. Madrid, España. 1816 p.

Aquino, S.; Chernicharo, C.; Foresti, E.; Dos Santos, M.; Moneteggia L.; 2007. Metodologías para determinação da atividade metanogénica específica (AME) em lodos anaeróbios. *Eng. Sanitária Ambiental*, 12(2): 192-201.

Arcos Pulido, M.; Ávila de Navia, S.; Estupiñan Torres, S.; Gómez Prieto, A. 2005. Indicadores microbiológicos de contaminación de las fuentes de agua. *NOVA. Publicación Científica*, 3(4): 69-79.

Beily, M.; Bres, P.; Rizzo, P.; Giampaoli, O. Crespo, D. 2010. Monitoreo de un reactor anaeróbico semi-continuo para el tratamiento de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. Parte II. *Avances en Energías renovables y medio ambiente*, 14: 37-42.

Blumetto Velazco, O. *Caracterización de sistemas de producción de porcinos y vacuno de engorde en Uruguay*. Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ciencias Animales, España, 2012.

Bres, P.; Beily, M.; Rizzo, P.; Giampaoli, O.; Crespo, D. 2010. Monitoreo de reactor anaeróbico semi-continuo para el tratamiento de residuos de cereales. Parte I. *Avances en Energías renovables y medio ambiente*, 14: 29-34.

Brunori, J. 2012. *Producción de Cerdos en Argentina. Situación, Oportunidades y Desafíos*. INTA. Disponible en: <http://inta.gob.ar/documentos/produccion-de-cerdos-en-argentina-situacion-oportunidades-desafios-1> [Consulta: 14/05/2014].

Burton, C. & Turner, C. 2003. Manure management. Treatment strategies for sustainable agriculture. 2nd Ed. *Silsoe Research Institute*. 451 p.

Callaghan, F.; Wase, D.; Thayanithy, K.; Forster, C. 1999. Co-digestion of waste organic solids: batch studies. *Bioresource Technology*, 67:117-122.

Campos Pozuelo, A. *Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria*. Universidad De Lleida, España, 2001.

Campos, E.; Almirall, M.; Martinez almela, J.; Palatsi, J.; Flotats, X. 2008. Feasibility study of anaerobic digestión of dewatered pig slurry by means of polyacrylamide. *Bioresource Tecnology* 99:387-395

Cecchi, F.; Battistoni, P.; Paolo Pavan, P.; Bolzonella, D.; Innocenti, L. 2005. Digestione anaeróbica della frazione organica dei rifiuti solidi. Aspetti fondamentali, progettuali, gestionali, di impatto ambientale ed integrazione con la depurazione delle acque reflue. Agenzia per la protezione dellambiente e per i servizi tecnici (APAT). 178 p.

Cendales Ladino, E. *Producción de biogás mediante la codigestión anaeróbica de la mezcla de residuos cítricos y estiércol bovino para su utilización como fuente de energía renovable*. Universidad Nacional de Colombia, 2011.

Chae, K.; Jang, A.; Yim, S.; Kim, I. 2008. The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, 99: 1-6.

Chernicharo, C. 1997. Princípios do tratamento biológico de águas residuárias: Reatores Anaeróbios. Belo Horizonte. *Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (DESA/UFMG)*, Vol. 5. 245 p.

Crespo, D & Lecuona, R. 2002. Empleo de larvicida diflubenzuron en un programa de manejo integrado de la mosca doméstica. *RIA*, 31(2): 9-24.

Crespo, D.; Lecuona, R.; Hogsette, J. 1998. Biological control: An important component in integrated management of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) in caged-layer poultry houses in Buenos Aires, Argentina. *Biological control*, 13: 16-24.

Crespo, D.; Lecuona, R; Hogsette, J. 2002. Strategies for the control of house fly populations resistant to cyromazine. *Neotropical Entomology*, 34(1): 141-174.

Díaz Báez, M.; Pica Granados, Y.; Ronco, A 2004. Ensayo de toxicidad aguda con *Daphnia magna*. En: Castillo, G. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Mexico. 189 p.

DiLallo, R. & Albertson, O. 1961. Volatile acids by direct titration. *Journal WPCF*, 33(4): 356-365.

Don, J.; Zhao, Y.; Hong, M.; Zhang, W. 2009. Influence of alkalinity on the stabilization of municipal solid waste in anaerobic simulated bioreactor. *Journal of hazardous materials*, 163(2-3): 717-722.

Duthion ,C.; Catroux, G.; Germon, J. 1979. Landpreading of liquid pig manure: II. Nutrient balances and effects on drainage water. Effluents from livestock. *Ed. Grassser. Applied Science Publishers LTD* 59-79.

Expósito Vélez, G. *Modelización de procesos biológicos para la eliminación de residuos ganaderos, teniendo en cuenta sus condicionantes especiales*. Universidad Politécnica de Madrid, España, 2004.

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación) & INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaría). 2012. Manual de buenas prácticas pecuarias (BPP) para la producción y comercialización porcina familiar.

Fasciolo, G.; Meca, M.; Calderón, E.; Rebollo, M. 2005. Contaminación microbiológica en ajos y suelos regados con efluentes domésticos tratados. *Rev. FCA UNCuyo*, 37(1): 31-40.

Ferrer, P.; Sáenz, J.; Pomar, J. 1983. Posibilidades de utilización agrícolas del estiércol líquido de porcino (ELP) en relación con su valor fertilizante y su incidencia sobre el suelo. Composición y valor fertilizante del ELP. *Anales del INIA, Serv. Agric*, 23: 35-57.

Field, J. 1987. Parámetros operativos del reactor de manto de lodos anaeróbicos de flujo ascendente. Agricultural University of Wageningen. Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd68/000866/000866b.pdf>. [Consulta: 20/03/2011].

Forster-Carneiro T., Perez. M. y Romero L.I. (2008b). Thermophilic anaerobic of source-sorted organic fraction of municipal solid waste. *Bioresource Technology* 99: 6763-6770

Freitas, R. & Burr, M. 1996. Animal waste. Pp. 237-251 In: Pepper, I. L.; Gerb, C. G. & Brusseau, ML (eds). *Pollution Science*. Academic Press, New York. USA.

Fricke, K.; Heike, S.; Wallmann, R.; Huttner, A.; Dichtl, N. 2007. Operating problems in anaerobic digestion plants resulting from nitrogen in MSW. *Waste Management*, 27: 30-43.

Gallert, C.; Bauer, S.; Winter, J. 1998. Effect of ammonia on the anaerobic degradation of protein by mesophilic and thermophilic biowaste population. *Applied microbiology and biotechnology*, 50: 495-501.

GITEP (Grupo de Intercambio Tecnológico de explotaciones Porcinas). 2006. *Manual de capacitación en producción porcina*. Disponible en: <http://www.gitep.com.ar/pdf/anuario2006.pdf> [consulta: 26/04/2010].

GITEP (Grupo de Intercambio Tecnológico de explotaciones Porcinas). 2008. Anuario 2008. Disponible en: <http://www.gitep.com.ar/pdf/anuario2008.pdf> [consulta: 26/04/2010].

GITEP (Grupo de Intercambio Tecnológico de explotaciones Porcinas). 2012. Anuario 2012. Disponible en: <http://www.gitep.com.ar/pdf/anuario2012.pdf> [consulta: 26/04/2010].

Gonçalves Ferreira, L. *Evaluación de la biodegradabilidad anaeróbica de residuos orgánicos pre-tratados térmicamente*. Universidad de Valladolid. España, 2013.

González Martineaux, S. 2005. Caracterización de los purines de cerdos. Taller de capacitación en evaluación ambiental de planteles ganaderos. Serie Actas del Instituto de Investigaciones Agropecuarias-INIA. N° 29: 23-44. Temuco, Chile, 7-8/09/2005.

Hansen, K.; Angelidaki, I.; Ahring, B. 1998. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia. *Water Research*, 32(1): 5-12.

Hashimoto, A. 1986. Ammonia inhibition of methanogenesis from cattle wastes. *Agricultural Wastes*, 17: 241-261.

Hatfield, J.; Brumm, M.; Melvin, S. 1998. Swine manure management. Disponible en: <http://infohouse.p2ric.org/ref/43/42647.pdf> [Consulta: 25/04/2015].

Herrero, M. & Gil, S. 2008. Consideraciones ambientales de la intensificación en la producción animal. *Ecol. Austral*, 18: 273-289.

Hobson, P. & Shaw, B. 1976. Inhibition of methane production by *Methanobacterium formicicum*. *Water Research*, 10: 849-852.

Hulshoff Pol, L.; Lens, P.; Stams, A.; Lettinga, G. 1998. Anaerobic treatment of sulphate –rich wastewaters. *Biodegradation*, 9: 213-224.

IERAL de Fundación Mediterránea. 2011. Una Argentina Competitiva, Productiva y Federal (Cadena Porcina). Año 17. Edición N°89.

Jenkins, S., Morgan, J.; Zhang, X. 1991. Measuring the usable carbonate alkalinity of operating anaerobic digesters. *Research journal of the water pollution control federation*, 63(1): 28-34.

Jenkins, S.; Morgan, J.; Sawyer, C. 1983. Measuring anaerobic sludge digestion and growth by a simple alcalimetric titration. *Journal of the water pollution control federation*, 55(5): 448-453.

Koster, I. & Lettinga, G. 1984. The influence of ammonia-nitrogen on the specific activity of pelletized methanogenic sludge. *Agricultural wastes*, 9: 205-216.

Kroeker, E.; Schulte, D.; Sparling, A.; Lapp, H. 1979. Anaerobic treatment process stability. *Research journal of the water pollution control federation*, 51: 718-27.

Leirós de la Peña, C.; Díaz Fierros, F.; Carballas, M.; Cabaneiro, A.; Carballas, T.; Gil Sotres, F.; Villar, M. The soil dynamics of cattle slurry. *International Symposium Humus et planta VIII, Nitrogen. Studies about humus*, 2: 317-320.

Lourenzi, C; Ceretta, C.; Brunetto, G.; Giroto, E.; Tiecher, T.; Costa Beber Vieira, R.; Cancian, A.; Avelar Ferreira, P. 2014. Pig Slurry and Nutrient acumulation and dry matter and grain yield in various crops. *Rev. Brasileira Cs. Solo*, 38(3):949-958.

MAGyP (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca). 2010. Ganados y Carnes, Anuario 2010. 452 p.

Martinez Almela, J. 2000. Ecopurín. La solución integrada a la problemática de los purines. *Tecnoambiente*. N° 98-99: 11-15

Martinez Pereda, J. & Carbonell, G. 1996. Riesgo medioambiental en la utilización agraria de purines. *Porci*, 31: 27-33.

Martínez Suller, L.; Azzellino, A.; Provolo, G. 2008. Analysis of livestock slurries from farms across Northern Italy: Relationship between indicators and nutrient content. *Biosystems Engineering*, 99: 540-552.

Mc Carty, P. 1964. Anaerobic waste treatment fundamentals. III. Toxic materials and their control. *Public Works*, 95: 91-94.

Middlebrooks, E.; Middlebrooks, C.; Reynolds, J.; Watters, G.; Reed, S.; George, D. 1982. Wastewater Stabilization Lagoon Design, Performance and Upgrading. Macmillan Pub. Co., Nueva York.

Millares, P. 2011. Manejo de efluentes. Fericerdo 2011. Informe de actualización técnica, 20: 34-39.

Monteggia, L. 1997. Proposta de metodologia para avaliação do parâmetro “atividade metanogenica específica”. XIX Congreso de Engenharia Sanitária e ambiental. Foz do Iguaçu. 1997. pp 754-766.

Moral, R.; Perez-Murcia, M.; Perez-Espinosa, A.; Moreno-Caselles, J.; Paredes, C. 2005. Estimation of nutrient values of pig slurries in southeast Spain using easily determined properties. *Waste Management*, 25: 719-725.

Moreno Casco, J. & Moral Herrero, R. 2007. Compostaje. Ed Mundi-prensa SA. Madrid, España. 570 p.

Muñoz Valero, J.; Ortiz Cañavate, J.; Vázquez Minguela, J. 1987. Técnica y aplicaciones agrícolas de la biometanización. Serie técnica. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. España.

Nosetti, L.; Herrero, M.; Pol, M.; Maldonado, V.; Korol, S.; Rossi, S.; Gemini, V.; Flores, M. 2002. Cuantificación y caracterización de agua y efluentes en establecimientos lecheros II. Calidad de efluentes y eficiencia de los procesos de tratamiento. *Rev. InVet*, 4(1): 45-54.

Owen, W.; Stuckey, D.; Healy, J.; Young, L.; Mc Carty, O. 1978. Bioassay for monitoring biochemical methane potential and anaerobic toxicity. *Water Research*, 13: 485-492.

Palau, J. 2000. La contaminación de las aguas potables por el vertido incontrolado de purines de cerdos en los campos. *Residuos*, 52: 54-56.

Pavlostathis, S. & Giraldo-Gomez, E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control*, 21(5-6): 411-490.

Plaza, C.; García Gil, J.; Soler Rovira, P.; Polo, A. 1999. Problemática de los purines en España: Su aprovechamiento Agrícola como solución. *Residuos*, 49: 83-86.

Ranjan Dhar, B.; Youssef, E.; Nakhla, G.; Ray, M. 2011. Pretreatment of municipal waste activated sludge for volatile sulfur compounds control in anaerobic digestion. *Bioresource technology* 102: 3776-3782

Ripley, L.; Boyle, W.; Converse, J. 1986. Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength waste. *Journal WPCF*, 58(5): 406-411.

Robert Pullés, M.; Agramonte Hernández, M.; Cruz Arias, M.; Cruz Martínez, E. 2010. Evaluación microbiológica del sistema de cama profunda en la crianza porcina. *CENIC. Ciencias biológicas*, 41: 1-10.

Rodríguez, C. 2002. Residuos Ganaderos. Curso de Introducción a la producción animal. FAV, UNRC. Disponible en: http://produccion-animal.com.ar/sustentabilidad/05-residuos_ganaderos.pdf [Consultado: 15/03/2011].

Rodríguez, C.; Beoletto, V.; Finola, M. 1997. Evaluación bacteriológica en desechos orgánicos pecuarios. I. Aviaries, porcinos y bovinos. *Rev. Agronómica del NOA. UNT.*, 9(3-4): 151-164.

Sánchez, M. & González, J. 2005. The fertilizer value of pig slurry. I. Values depending on the type of operation. *Bioresource Technology*, 96: 1117-1123.

Santos, A.; Irañeta, I.; Abaigar, A. 2002. Purín Porcino ¿Fertilizante o contaminante? *Navarra Agraria*, 132: 9-24. Disponible en: <http://www.navarraagraria.com/categories/item/466-purines-fertilizante-o-contaminante>

Scotford, I.; Cumby, T.; White, R.; Carton, O.; Lorenz, F.; Hatterman, U.; Provolo, G. 1998. Estimation of the nutrient value of agricultural slurries by measurement of physical and chemical properties. *J. Agric. Engng. Res.*, 71: 291-305.

Silva, A.; Louzada, A.; Lube, L.; Gonçalves, R.; Cassini, S. Comportamento da biomassa metanogénica de lodo de reator UASB tratado esgoto sanitário e lodo de

descarte de biofiltros aerados submersos. *XXIII Congreso brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Campo Grande, Brasil, 2005.

Sobrero, M. & Ronco, A. 2004. Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga (*Lactuca sativa*). En: Castillo, G. 2004. Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas: Estandarización, inter calibración, resultados y aplicaciones. Mexico. 189 p.

Souto, T.; Aquino, S.; Silva, S.; Chernicharo, C. 2010. Influence of incubation conditions on the specific methanogenic activity test. *Biodegradation*, 21: 411-424.

Terreros–Mecalco, j.; Olmos–Dichara, A.; Noyola–Robles, A.; Ramírez–Vives, F.; Monroy–Hermosillo, F. 2009. Anaerobic digestion of primary and secondary sludge in two serial UASB reactors. *Rev. Mex. Ing. Quím.*, 8(2): 153-161.

Tiquia, S. & Tam, N. 2000. Co-composting of spent pig litter and sludge with forced –aeration. *Bioresource Technology*, 72: 1-7.

Torres Lozada, P. & Pérez Andrea. 2010. Actividad metanogénica específica: Una Herramienta de control y optimización de sistemas de tratamiento anaerobico de aguas residuales. *Revista Eidenar* Vol:9.

Valorgas. 2009. Seventh framework programme theme energy. Biowaste as feedstock for 2nd generation. 48 p.

Vicari, M. 2012. *Efluentes en producción porcina en Argentina: generación, impacto ambiental y posibles tratamientos*. Universidad Católica Argentina (UCA), Argentina.

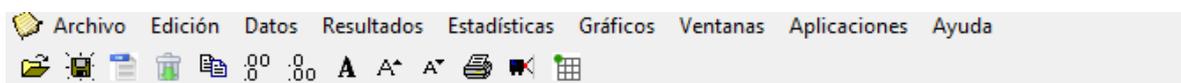
Villanueva Hernández, J.; Nájera Aguilar, H.; Gómez Ramos, J.; Hernández Lárraga, T.; Velasco Ortiz, A. 2011. Generación, caracterización y uso del biogás, producto de la digestión anaerobia de las excretas de ganado bovino. *Lacandonia* 5(2): 149-158.

World Health Organization (WHO). 2006. WHO guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater. Vol. 2. Wastewater use in agricultura. 196 p.

Young, B.; Riera, N.; Beily, M.; Bres, P.; Crespo, D.; Ronco, A. 2012. Toxicity of the effluent from an anaerobic bioreactor treating cereal residues on *Lactuca sativa*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 76: 182-186.

Zhang P., Zeng G., Zhang G, Li Y., Zhang B. y Fan M. (2008). Anaerobic co-digestion of biosolids and organic fraction of municipal solid waste by sequencing batch process. *Fuel processing technology* 89(4):485-489.

8 ANEXO I. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN SPERMAN



Coeficientes de correlación

Correlación de Spearman

| Variable(1) | Variable(2) | n | Spearman | p-valor |
|-------------|------------------------------|----|----------|---------|
| pH | pH | 20 | 1,00 | <0,0001 |
| pH | CE | 20 | -0,10 | 0,6864 |
| pH | ST (gr/l) | 18 | -0,65 | 0,0032 |
| pH | SV (gr/l) | 18 | -0,67 | 0,0023 |
| pH | Fósforo Total (mg/l) | 16 | -0,77 | 0,0027 |
| pH | DQO (total) (mg/l) | 20 | -0,70 | 0,0006 |
| pH | DQO (Soluble) (mg/l) | 20 | -0,43 | 0,0583 |
| pH | DBO (mg/l) | 20 | -0,29 | 0,2181 |
| pH | NTK (Total) (%) | 15 | -0,14 | 0,6154 |
| pH | N NH3 (Total) (%) | 15 | -0,27 | 0,3240 |
| pH | Sulfato (mg/l) | 16 | -0,49 | 0,0557 |
| pH | Alcalinidad (mg/l) | 18 | -0,15 | 0,5643 |
| pH | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 6 | 0,54 | 0,2248 |
| pH | Mn (mg/l) | 10 | -0,79 | 0,0062 |
| pH | Cu (mg/l) | 10 | -0,35 | 0,3000 |
| pH | K (mg/l) | 10 | 0,48 | 0,1509 |
| pH | Zn (mg/l) | 10 | -0,48 | 0,1603 |
| pH | Fe (mg/l) | 10 | -0,21 | 0,5245 |
| pH | Ca (mg/l) | 9 | 0,03 | 0,9249 |
| pH | Na (mg/l) | 10 | 0,58 | 0,0841 |
| pH | Mg (mg/l) | 10 | -0,72 | 0,0305 |
| CE | pH | 20 | -0,10 | 0,6864 |
| CE | CE | 20 | 1,00 | <0,0001 |
| CE | ST (gr/l) | 18 | 0,40 | 0,1023 |
| CE | SV (gr/l) | 18 | 0,03 | 0,9085 |
| CE | Fósforo Total (mg/l) | 16 | -0,16 | 0,5235 |
| CE | DQO (total) (mg/l) | 20 | 0,59 | 0,0106 |
| CE | DQO (Soluble) (mg/l) | 20 | 0,88 | 0,0001 |
| CE | DBO (mg/l) | 20 | 0,76 | 0,0009 |
| CE | NTK (Total) (%) | 15 | 0,80 | 0,0003 |
| CE | N NH3 (Total) (%) | 15 | 0,75 | 0,0052 |
| CE | Sulfato (mg/l) | 16 | 0,26 | 0,3053 |
| CE | Alcalinidad (mg/l) | 18 | 0,89 | 0,0002 |
| CE | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 6 | 0,31 | 0,4822 |
| CE | Mn (mg/l) | 10 | -0,02 | 0,9467 |
| CE | Cu (mg/l) | 10 | -0,01 | 0,9855 |
| CE | K (mg/l) | 10 | 0,77 | 0,0209 |
| CE | Zn (mg/l) | 10 | 0,02 | 0,9462 |
| CE | Fe (mg/l) | 10 | -0,26 | 0,4343 |
| CE | Ca (mg/l) | 9 | 0,58 | 0,0990 |
| CE | Na (mg/l) | 10 | 0,77 | 0,0209 |
| CE | Mg (mg/l) | 10 | -0,38 | 0,2520 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| ST (gr/l) | pH | 18 | -0,65 | 0,0032 |
| ST (gr/l) | CE | 18 | 0,40 | 0,1023 |
| ST (gr/l) | ST (gr/l) | 18 | 1,00 | <0,0001 |
| ST (gr/l) | SV (gr/l) | 18 | 0,83 | <0,0001 |
| ST (gr/l) | Fósforo Total (mg/l) | 16 | 0,46 | 0,0757 |
| ST (gr/l) | DQO (total) (mg/l) | 18 | 0,80 | 0,0001 |
| ST (gr/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 18 | 0,51 | 0,0322 |
| ST (gr/l) | DBO (mg/l) | 18 | 0,52 | 0,0275 |
| ST (gr/l) | NTK (Total) (%) | 14 | 0,21 | 0,4776 |
| ST (gr/l) | N NH3 (Total) (%) | 13 | 0,20 | 0,5225 |
| ST (gr/l) | Sulfato (mg/l) | 14 | 0,57 | 0,0342 |
| ST (gr/l) | Alcalinidad (mg/l) | 17 | 0,33 | 0,1943 |
| ST (gr/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 5 | -0,50 | 0,3173 |
| ST (gr/l) | Mn (mg/l) | 9 | 0,55 | 0,1227 |
| ST (gr/l) | Cu (mg/l) | 9 | 0,79 | 0,0104 |
| ST (gr/l) | K (mg/l) | 9 | 0,26 | 0,5003 |
| ST (gr/l) | Zn (mg/l) | 9 | 0,90 | 0,0010 |
| ST (gr/l) | Fe (mg/l) | 9 | 0,64 | 0,0656 |
| ST (gr/l) | Ca (mg/l) | 8 | 0,36 | 0,3447 |
| ST (gr/l) | Na (mg/l) | 9 | 0,24 | 0,5292 |
| ST (gr/l) | Mg (mg/l) | 9 | 0,38 | 0,3063 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| SV (gr/l) | pH | 18 | -0,67 | 0,0023 |
| SV (gr/l) | CE | 18 | 0,03 | 0,9085 |
| SV (gr/l) | ST (gr/l) | 18 | 0,83 | <0,0001 |
| SV (gr/l) | SV (gr/l) | 18 | 1,00 | <0,0001 |
| SV (gr/l) | Fósforo Total (mg/l) | 16 | 0,54 | 0,0361 |
| SV (gr/l) | DQO (total) (mg/l) | 18 | 0,52 | 0,0330 |
| SV (gr/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 18 | 0,18 | 0,4514 |
| SV (gr/l) | DBO (mg/l) | 18 | 0,20 | 0,4019 |
| SV (gr/l) | NTK (Total) (%) | 14 | -0,12 | 0,6914 |
| SV (gr/l) | N NH3 (Total) (%) | 13 | -0,13 | 0,6616 |
| SV (gr/l) | Sulfato (mg/l) | 14 | 0,52 | 0,0626 |
| SV (gr/l) | Alcalinidad (mg/l) | 17 | 0,09 | 0,7168 |
| SV (gr/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 5 | -0,50 | 0,3173 |
| SV (gr/l) | Mn (mg/l) | 9 | 0,66 | 0,0553 |
| SV (gr/l) | Cu (mg/l) | 9 | 0,80 | 0,0237 |
| SV (gr/l) | K (mg/l) | 9 | -0,17 | 0,6374 |
| SV (gr/l) | Zn (mg/l) | 9 | 0,95 | 0,0001 |
| SV (gr/l) | Fe (mg/l) | 9 | 0,70 | 0,0477 |
| SV (gr/l) | Ca (mg/l) | 8 | 0,02 | 0,9498 |
| SV (gr/l) | Na (mg/l) | 9 | -0,27 | 0,4507 |
| SV (gr/l) | Mg (mg/l) | 9 | 0,58 | 0,0990 |

| | | | | |
|----------------------|------------------------------|----|-------|---------|
| Fósforo Total (mg/l) | pH | 16 | -0,77 | 0,0027 |
| Fósforo Total (mg/l) | CE | 16 | -0,16 | 0,5235 |
| Fósforo Total (mg/l) | ST (gr/l) | 16 | 0,46 | 0,0757 |
| Fósforo Total (mg/l) | SV (gr/l) | 16 | 0,54 | 0,0361 |
| Fósforo Total (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 16 | 1,00 | <0,0001 |
| Fósforo Total (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 16 | 0,63 | 0,0148 |
| Fósforo Total (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 16 | 0,19 | 0,4590 |
| Fósforo Total (mg/l) | DBO (mg/l) | 16 | 0,16 | 0,5310 |
| Fósforo Total (mg/l) | NTK (Total) (%) | 12 | -0,03 | 0,9077 |
| Fósforo Total (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 11 | -0,13 | 0,6873 |
| Fósforo Total (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 12 | -0,24 | 0,4169 |
| Fósforo Total (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 15 | -0,24 | 0,3635 |
| Fósforo Total (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 5 | -0,90 | 0,0719 |
| Fósforo Total (mg/l) | Mn (mg/l) | 8 | 0,53 | 0,1765 |
| Fósforo Total (mg/l) | Cu (mg/l) | 8 | 0,50 | 0,1859 |
| Fósforo Total (mg/l) | K (mg/l) | 8 | -0,64 | 0,0890 |
| Fósforo Total (mg/l) | Zn (mg/l) | 8 | 0,51 | 0,1942 |
| Fósforo Total (mg/l) | Fe (mg/l) | 8 | 0,31 | 0,4128 |
| Fósforo Total (mg/l) | Ca (mg/l) | 7 | -0,57 | 0,1616 |
| Fósforo Total (mg/l) | Na (mg/l) | 8 | -0,57 | 0,1306 |
| Fósforo Total (mg/l) | Mg (mg/l) | 8 | 0,57 | 0,1306 |

| | | | | |
|--------------------|------------------------------|----|-------|---------|
| DQO (total) (mg/l) | pH | 20 | -0,70 | 0,0006 |
| DQO (total) (mg/l) | CE | 20 | 0,59 | 0,0106 |
| DQO (total) (mg/l) | ST (gr/l) | 18 | 0,80 | 0,0001 |
| DQO (total) (mg/l) | SV (gr/l) | 18 | 0,52 | 0,0330 |
| DQO (total) (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 16 | 0,63 | 0,0148 |
| DQO (total) (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 20 | 1,00 | <0,0001 |
| DQO (total) (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 20 | 0,79 | 0,0006 |
| DQO (total) (mg/l) | DBO (mg/l) | 20 | 0,58 | 0,0110 |
| DQO (total) (mg/l) | NTK (Total) (%) | 15 | 0,63 | 0,0123 |
| DQO (total) (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 15 | 0,48 | 0,0712 |
| DQO (total) (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 16 | 0,20 | 0,4319 |
| DQO (total) (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 18 | 0,50 | 0,0382 |
| DQO (total) (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 6 | -0,26 | 0,5653 |
| DQO (total) (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 0,36 | 0,3072 |
| DQO (total) (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 0,22 | 0,5011 |
| DQO (total) (mg/l) | K (mg/l) | 10 | 0,38 | 0,2520 |
| DQO (total) (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 0,20 | 0,5736 |
| DQO (total) (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | -0,05 | 0,8700 |
| DQO (total) (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,23 | 0,5093 |
| DQO (total) (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | 0,35 | 0,3000 |
| DQO (total) (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 0,13 | 0,7026 |

| | | | | |
|----------------------|------------------------------|----|-------|---------|
| DQO (Soluble) (mg/l) | pH | 20 | -0,43 | 0,0583 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | CE | 20 | 0,88 | 0,0001 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | ST (gr/l) | 18 | 0,51 | 0,0322 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | SV (gr/l) | 18 | 0,18 | 0,4514 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 16 | 0,19 | 0,4590 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 20 | 0,79 | 0,0006 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 20 | 1,00 | <0,0001 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | DBO (mg/l) | 20 | 0,78 | 0,0007 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | NTK (Total) (%) | 15 | 0,87 | <0,0001 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 15 | 0,68 | 0,0107 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 16 | 0,21 | 0,4186 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 18 | 0,80 | 0,0010 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 6 | 0,26 | 0,5653 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 0,40 | 0,2568 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 0,16 | 0,6235 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | K (mg/l) | 10 | 0,30 | 0,3730 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 0,17 | 0,6340 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | -0,20 | 0,5485 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,48 | 0,1716 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | 0,24 | 0,4783 |
| DQO (Soluble) (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 0,05 | 0,8700 |

| | | | | |
|------------|------------------------------|----|-------|---------|
| DBO (mg/l) | pH | 20 | -0,29 | 0,2181 |
| DBO (mg/l) | CE | 20 | 0,76 | 0,0009 |
| DBO (mg/l) | ST (gr/l) | 18 | 0,52 | 0,0275 |
| DBO (mg/l) | SV (gr/l) | 18 | 0,20 | 0,4019 |
| DBO (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 16 | 0,16 | 0,5310 |
| DBO (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 20 | 0,58 | 0,0110 |
| DBO (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 20 | 0,78 | 0,0007 |
| DBO (mg/l) | DBO (mg/l) | 20 | 1,00 | <0,0001 |
| DBO (mg/l) | NTK (Total) (%) | 15 | 0,91 | <0,0001 |
| DBO (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 15 | 0,21 | 0,4305 |
| DBO (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 16 | 0,14 | 0,6003 |
| DBO (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 18 | 0,81 | 0,0009 |
| DBO (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 6 | -0,09 | 0,8480 |
| DBO (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 0,44 | 0,2043 |
| DBO (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 0,22 | 0,5011 |
| DBO (mg/l) | K (mg/l) | 10 | 0,33 | 0,3173 |
| DBO (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 0,22 | 0,5501 |
| DBO (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | -0,10 | 0,7573 |
| DBO (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,55 | 0,1198 |
| DBO (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | 0,25 | 0,4560 |
| DBO (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 0,14 | 0,6758 |

| | | | | |
|-----------------|------------------------------|----|-------|---------|
| NTK (Total) (%) | pH | 15 | -0,14 | 0,6154 |
| NTK (Total) (%) | CE | 15 | 0,80 | 0,0003 |
| NTK (Total) (%) | ST (gr/l) | 14 | 0,21 | 0,4776 |
| NTK (Total) (%) | SV (gr/l) | 14 | -0,12 | 0,6914 |
| NTK (Total) (%) | Fósforo Total (mg/l) | 12 | -0,03 | 0,9077 |
| NTK (Total) (%) | DQO (total) (mg/l) | 15 | 0,63 | 0,0123 |
| NTK (Total) (%) | DQO (Soluble) (mg/l) | 15 | 0,87 | <0,0001 |
| NTK (Total) (%) | DBO (mg/l) | 15 | 0,91 | <0,0001 |
| NTK (Total) (%) | NTK (Total) (%) | 15 | 1,00 | <0,0001 |
| NTK (Total) (%) | N NH3 (Total) (%) | 14 | 0,48 | 0,0795 |
| NTK (Total) (%) | Sulfato (mg/l) | 13 | -0,16 | 0,6089 |
| NTK (Total) (%) | Alcalinidad (mg/l) | 14 | 0,95 | <0,0001 |
| NTK (Total) (%) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 5 | 0,10 | 0,8415 |
| NTK (Total) (%) | Mn (mg/l) | 10 | 0,12 | 0,7499 |
| NTK (Total) (%) | Cu (mg/l) | 10 | -0,32 | 0,3352 |
| NTK (Total) (%) | K (mg/l) | 10 | 0,44 | 0,1844 |
| NTK (Total) (%) | Zn (mg/l) | 10 | -0,28 | 0,4280 |
| NTK (Total) (%) | Fe (mg/l) | 10 | -0,27 | 0,4133 |
| NTK (Total) (%) | Ca (mg/l) | 9 | 0,58 | 0,0990 |
| NTK (Total) (%) | Na (mg/l) | 10 | 0,39 | 0,2373 |
| NTK (Total) (%) | Mg (mg/l) | 10 | -0,01 | 0,9855 |

| | | | | |
|-------------------|------------------------------|----|-------|---------|
| N NH3 (Total) (%) | pH | 15 | -0,27 | 0,3240 |
| N NH3 (Total) (%) | CE | 15 | 0,75 | 0,0052 |
| N NH3 (Total) (%) | ST (gr/l) | 13 | 0,20 | 0,5225 |
| N NH3 (Total) (%) | SV (gr/l) | 13 | -0,13 | 0,6616 |
| N NH3 (Total) (%) | Fósforo Total (mg/l) | 11 | -0,13 | 0,6873 |
| N NH3 (Total) (%) | DQO (total) (mg/l) | 15 | 0,48 | 0,0712 |
| N NH3 (Total) (%) | DQO (Soluble) (mg/l) | 15 | 0,68 | 0,0107 |
| N NH3 (Total) (%) | DBO (mg/l) | 15 | 0,21 | 0,4305 |
| N NH3 (Total) (%) | NTK (Total) (%) | 14 | 0,48 | 0,0795 |
| N NH3 (Total) (%) | N NH3 (Total) (%) | 15 | 1,00 | <0,0001 |
| N NH3 (Total) (%) | Sulfato (mg/l) | 13 | 0,52 | 0,0706 |
| N NH3 (Total) (%) | Alcalinidad (mg/l) | 13 | 0,47 | 0,1057 |
| N NH3 (Total) (%) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 5 | 0,60 | 0,2301 |
| N NH3 (Total) (%) | Mn (mg/l) | 10 | 0,13 | 0,7118 |
| N NH3 (Total) (%) | Cu (mg/l) | 10 | 0,09 | 0,7851 |
| N NH3 (Total) (%) | K (mg/l) | 10 | 0,77 | 0,0209 |
| N NH3 (Total) (%) | Zn (mg/l) | 10 | 0,02 | 0,9462 |
| N NH3 (Total) (%) | Fe (mg/l) | 10 | -0,08 | 0,8132 |
| N NH3 (Total) (%) | Ca (mg/l) | 9 | 0,72 | 0,0427 |
| N NH3 (Total) (%) | Na (mg/l) | 10 | 0,68 | 0,0399 |
| N NH3 (Total) (%) | Mg (mg/l) | 10 | -0,10 | 0,7573 |

| | | | | |
|----------------|------------------------------|----|-------|---------|
| Sulfato (mg/l) | pH | 16 | -0,49 | 0,0557 |
| Sulfato (mg/l) | CE | 16 | 0,26 | 0,3053 |
| Sulfato (mg/l) | ST (gr/l) | 14 | 0,57 | 0,0342 |
| Sulfato (mg/l) | SV (gr/l) | 14 | 0,52 | 0,0626 |
| Sulfato (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 12 | -0,24 | 0,4169 |
| Sulfato (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 16 | 0,20 | 0,4319 |
| Sulfato (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 16 | 0,21 | 0,4186 |
| Sulfato (mg/l) | DBO (mg/l) | 16 | 0,14 | 0,6003 |
| Sulfato (mg/l) | NTK (Total) (%) | 13 | -0,16 | 0,6089 |
| Sulfato (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 13 | 0,52 | 0,0706 |
| Sulfato (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 16 | 1,00 | <0,0001 |
| Sulfato (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 14 | 0,15 | 0,5845 |
| Sulfato (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 5 | 0,30 | 0,5485 |
| Sulfato (mg/l) | Mn (mg/l) | 8 | 0,49 | 0,2166 |
| Sulfato (mg/l) | Cu (mg/l) | 8 | 0,10 | 0,8011 |
| Sulfato (mg/l) | K (mg/l) | 8 | 0,07 | 0,8501 |
| Sulfato (mg/l) | Zn (mg/l) | 8 | 0,34 | 0,4045 |
| Sulfato (mg/l) | Fe (mg/l) | 8 | -0,02 | 0,9498 |
| Sulfato (mg/l) | Ca (mg/l) | 7 | 0,61 | 0,1370 |
| Sulfato (mg/l) | Na (mg/l) | 8 | 0,00 | >0,9999 |
| Sulfato (mg/l) | Mg (mg/l) | 8 | 0,52 | 0,1658 |

| | | | | |
|--------------------|------------------------------|----|-------|---------|
| Alcalinidad (mg/l) | pH | 18 | -0,15 | 0,5643 |
| Alcalinidad (mg/l) | CE | 18 | 0,89 | 0,0002 |
| Alcalinidad (mg/l) | ST (gr/l) | 17 | 0,33 | 0,1943 |
| Alcalinidad (mg/l) | SV (gr/l) | 17 | 0,09 | 0,7168 |
| Alcalinidad (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 15 | -0,24 | 0,3635 |
| Alcalinidad (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 18 | 0,50 | 0,0382 |
| Alcalinidad (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 18 | 0,80 | 0,0010 |
| Alcalinidad (mg/l) | DBO (mg/l) | 18 | 0,81 | 0,0009 |
| Alcalinidad (mg/l) | NTK (Total) (%) | 14 | 0,95 | <0,0001 |
| Alcalinidad (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 13 | 0,47 | 0,1057 |
| Alcalinidad (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 14 | 0,15 | 0,5845 |
| Alcalinidad (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 18 | 1,00 | <0,0001 |
| Alcalinidad (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 5 | 0,40 | 0,4237 |
| Alcalinidad (mg/l) | Mn (mg/l) | 9 | 0,34 | 0,3765 |
| Alcalinidad (mg/l) | Cu (mg/l) | 9 | -0,18 | 0,6041 |
| Alcalinidad (mg/l) | K (mg/l) | 9 | 0,57 | 0,1090 |
| Alcalinidad (mg/l) | Zn (mg/l) | 9 | -0,05 | 0,8975 |
| Alcalinidad (mg/l) | Fe (mg/l) | 9 | -0,13 | 0,7061 |
| Alcalinidad (mg/l) | Ca (mg/l) | 8 | 0,83 | 0,0275 |
| Alcalinidad (mg/l) | Na (mg/l) | 9 | 0,42 | 0,2386 |
| Alcalinidad (mg/l) | Mg (mg/l) | 9 | 0,13 | 0,7061 |

| | | | |
|---|---|-------|---------|
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. pH | 6 | 0,54 | 0,2248 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. CE | 6 | 0,31 | 0,4822 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. ST (gr/l) | 5 | -0,50 | 0,3173 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. SV (gr/l) | 5 | -0,50 | 0,3173 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Fósforo Total (mg/l) | 5 | -0,90 | 0,0719 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. DQO (total) (mg/l) | 6 | -0,26 | 0,5653 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. DQO (Soluble) (mg/l) | 6 | 0,26 | 0,5653 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. DBO (mg/l) | 6 | -0,09 | 0,8480 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. NTK (Total) (%) | 5 | 0,10 | 0,8415 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. N NH3 (Total) (%) | 5 | 0,60 | 0,2301 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Sulfato (mg/l) | 5 | 0,30 | 0,5485 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Alcalinidad (mg/l) | 5 | 0,40 | 0,4237 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 6 | 1,00 | <0,0001 |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Mn (mg/l) | 2 | -1,00 | sd |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Cu (mg/l) | 2 | 1,00 | sd |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. K (mg/l) | 2 | 1,00 | sd |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Zn (mg/l) | 2 | 1,00 | sd |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Fe (mg/l) | 2 | 1,00 | sd |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Ca (mg/l) | 2 | 1,00 | sd |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Na (mg/l) | 2 | 1,00 | sd |
| Amonio Cuaternario (mg/l c.. Mg (mg/l) | 2 | -1,00 | sd |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| Mn (mg/l) | pH | 10 | -0,79 | 0,0062 |
| Mn (mg/l) | CE | 10 | -0,02 | 0,9467 |
| Mn (mg/l) | ST (gr/l) | 9 | 0,55 | 0,1227 |
| Mn (mg/l) | SV (gr/l) | 9 | 0,66 | 0,0553 |
| Mn (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 8 | 0,53 | 0,1765 |
| Mn (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 10 | 0,36 | 0,3072 |
| Mn (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 10 | 0,40 | 0,2568 |
| Mn (mg/l) | DBO (mg/l) | 10 | 0,44 | 0,2043 |
| Mn (mg/l) | NTK (Total) (%) | 10 | 0,12 | 0,7499 |
| Mn (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 10 | 0,13 | 0,7118 |
| Mn (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 8 | 0,49 | 0,2166 |
| Mn (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 9 | 0,34 | 0,3765 |
| Mn (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | -1,00 | sd |
| Mn (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 1,00 | <0,0001 |
| Mn (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 0,51 | 0,1355 |
| Mn (mg/l) | K (mg/l) | 10 | -0,20 | 0,5772 |
| Mn (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 0,69 | 0,0281 |
| Mn (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | 0,30 | 0,3917 |
| Mn (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,40 | 0,2817 |
| Mn (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | -0,33 | 0,3529 |
| Mn (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 0,84 | 0,0026 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| Cu (mg/l) | pH | 10 | -0,35 | 0,3000 |
| Cu (mg/l) | CE | 10 | -0,01 | 0,9855 |
| Cu (mg/l) | ST (gr/l) | 9 | 0,79 | 0,0104 |
| Cu (mg/l) | SV (gr/l) | 9 | 0,80 | 0,0237 |
| Cu (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 8 | 0,50 | 0,1859 |
| Cu (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 10 | 0,22 | 0,5011 |
| Cu (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 10 | 0,16 | 0,6235 |
| Cu (mg/l) | DBO (mg/l) | 10 | 0,22 | 0,5011 |
| Cu (mg/l) | NTK (Total) (%) | 10 | -0,32 | 0,3352 |
| Cu (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 10 | 0,09 | 0,7851 |
| Cu (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 8 | 0,10 | 0,8011 |
| Cu (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 9 | -0,18 | 0,6041 |
| Cu (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | 1,00 | sd |
| Cu (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 0,51 | 0,1355 |
| Cu (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 1,00 | <0,0001 |
| Cu (mg/l) | K (mg/l) | 10 | -0,13 | 0,7026 |
| Cu (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 0,89 | 0,0006 |
| Cu (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | 0,79 | 0,0172 |
| Cu (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,07 | 0,8504 |
| Cu (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | -0,30 | 0,3730 |
| Cu (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 0,52 | 0,1222 |

| | | | | |
|----------|------------------------------|----|-------|---------|
| K (mg/l) | pH | 10 | 0,48 | 0,1509 |
| K (mg/l) | CE | 10 | 0,77 | 0,0209 |
| K (mg/l) | ST (gr/l) | 9 | 0,26 | 0,5003 |
| K (mg/l) | SV (gr/l) | 9 | -0,17 | 0,6374 |
| K (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 8 | -0,64 | 0,0890 |
| K (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 10 | 0,38 | 0,2520 |
| K (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 10 | 0,30 | 0,3730 |
| K (mg/l) | DBO (mg/l) | 10 | 0,33 | 0,3173 |
| K (mg/l) | NTK (Total) (%) | 10 | 0,44 | 0,1844 |
| K (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 10 | 0,77 | 0,0209 |
| K (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 8 | 0,07 | 0,8501 |
| K (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 9 | 0,57 | 0,1090 |
| K (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | 1,00 | sd |
| K (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | -0,20 | 0,5772 |
| K (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | -0,13 | 0,7026 |
| K (mg/l) | K (mg/l) | 10 | 1,00 | <0,0001 |
| K (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | -0,12 | 0,7477 |
| K (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | -0,19 | 0,5730 |
| K (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,68 | 0,0533 |
| K (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | 0,90 | 0,0067 |
| K (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | -0,42 | 0,2096 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| Zn (mg/l) | pH | 10 | -0,48 | 0,1603 |
| Zn (mg/l) | CE | 10 | 0,02 | 0,9462 |
| Zn (mg/l) | ST (gr/l) | 9 | 0,90 | 0,0010 |
| Zn (mg/l) | SV (gr/l) | 9 | 0,95 | 0,0001 |
| Zn (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 8 | 0,51 | 0,1942 |
| Zn (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 10 | 0,20 | 0,5736 |
| Zn (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 10 | 0,17 | 0,6340 |
| Zn (mg/l) | DBO (mg/l) | 10 | 0,22 | 0,5501 |
| Zn (mg/l) | NTK (Total) (%) | 10 | -0,28 | 0,4280 |
| Zn (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 10 | 0,02 | 0,9462 |
| Zn (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 8 | 0,34 | 0,4045 |
| Zn (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 9 | -0,05 | 0,8975 |
| Zn (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | 1,00 | sd |
| Zn (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 0,69 | 0,0281 |
| Zn (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 0,89 | 0,0006 |
| Zn (mg/l) | K (mg/l) | 10 | -0,12 | 0,7477 |
| Zn (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 1,00 | <0,0001 |
| Zn (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | 0,63 | 0,0490 |
| Zn (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,17 | 0,6656 |
| Zn (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | -0,26 | 0,4708 |
| Zn (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 0,53 | 0,1157 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| Fe (mg/l) | pH | 10 | -0,21 | 0,5245 |
| Fe (mg/l) | CE | 10 | -0,26 | 0,4343 |
| Fe (mg/l) | ST (gr/l) | 9 | 0,64 | 0,0656 |
| Fe (mg/l) | SV (gr/l) | 9 | 0,70 | 0,0477 |
| Fe (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 8 | 0,31 | 0,4128 |
| Fe (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 10 | -0,05 | 0,8700 |
| Fe (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 10 | -0,20 | 0,5485 |
| Fe (mg/l) | DBO (mg/l) | 10 | -0,10 | 0,7573 |
| Fe (mg/l) | NTK (Total) (%) | 10 | -0,27 | 0,4133 |
| Fe (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 10 | -0,08 | 0,8132 |
| Fe (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 8 | -0,02 | 0,9498 |
| Fe (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 9 | -0,13 | 0,7061 |
| Fe (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | 1,00 | sd |
| Fe (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 0,30 | 0,3917 |
| Fe (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 0,79 | 0,0172 |
| Fe (mg/l) | K (mg/l) | 10 | -0,19 | 0,5730 |
| Fe (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 0,63 | 0,0490 |
| Fe (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | 1,00 | <0,0001 |
| Fe (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,10 | 0,7773 |
| Fe (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | -0,36 | 0,2834 |
| Fe (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 0,58 | 0,0841 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|---|-------|---------|
| Ca (mg/l) | pH | 9 | 0,03 | 0,9249 |
| Ca (mg/l) | CE | 9 | 0,58 | 0,0990 |
| Ca (mg/l) | ST (gr/l) | 8 | 0,36 | 0,3447 |
| Ca (mg/l) | SV (gr/l) | 8 | 0,02 | 0,9498 |
| Ca (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 7 | -0,57 | 0,1616 |
| Ca (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 9 | 0,23 | 0,5093 |
| Ca (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 9 | 0,48 | 0,1716 |
| Ca (mg/l) | DBO (mg/l) | 9 | 0,55 | 0,1198 |
| Ca (mg/l) | NTK (Total) (%) | 9 | 0,58 | 0,0990 |
| Ca (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 9 | 0,72 | 0,0427 |
| Ca (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 7 | 0,61 | 0,1370 |
| Ca (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 8 | 0,83 | 0,0275 |
| Ca (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | 1,00 | sd |
| Ca (mg/l) | Mn (mg/l) | 9 | 0,40 | 0,2817 |
| Ca (mg/l) | Cu (mg/l) | 9 | 0,07 | 0,8504 |
| Ca (mg/l) | K (mg/l) | 9 | 0,68 | 0,0533 |
| Ca (mg/l) | Zn (mg/l) | 9 | 0,17 | 0,6656 |
| Ca (mg/l) | Fe (mg/l) | 9 | 0,10 | 0,7773 |
| Ca (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 1,00 | <0,0001 |
| Ca (mg/l) | Na (mg/l) | 9 | 0,43 | 0,2203 |
| Ca (mg/l) | Mg (mg/l) | 9 | 0,17 | 0,6374 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| Na (mg/l) | pH | 10 | 0,58 | 0,0841 |
| Na (mg/l) | CE | 10 | 0,77 | 0,0209 |
| Na (mg/l) | ST (gr/l) | 9 | 0,24 | 0,5292 |
| Na (mg/l) | SV (gr/l) | 9 | -0,27 | 0,4507 |
| Na (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 8 | -0,57 | 0,1306 |
| Na (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 10 | 0,35 | 0,3000 |
| Na (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 10 | 0,24 | 0,4783 |
| Na (mg/l) | DBO (mg/l) | 10 | 0,25 | 0,4560 |
| Na (mg/l) | NTK (Total) (%) | 10 | 0,39 | 0,2373 |
| Na (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 10 | 0,68 | 0,0399 |
| Na (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 8 | 0,00 | >0,9999 |
| Na (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 9 | 0,42 | 0,2386 |
| Na (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | 1,00 | sd |
| Na (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | -0,33 | 0,3529 |
| Na (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | -0,30 | 0,3730 |
| Na (mg/l) | K (mg/l) | 10 | 0,90 | 0,0067 |
| Na (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | -0,26 | 0,4708 |
| Na (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | -0,36 | 0,2834 |
| Na (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,43 | 0,2203 |
| Na (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | 1,00 | <0,0001 |
| Na (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | -0,54 | 0,1056 |

| | | | | |
|-----------|------------------------------|----|-------|---------|
| Mg (mg/l) | pH | 10 | -0,72 | 0,0305 |
| Mg (mg/l) | CE | 10 | -0,38 | 0,2520 |
| Mg (mg/l) | ST (gr/l) | 9 | 0,38 | 0,3063 |
| Mg (mg/l) | SV (gr/l) | 9 | 0,58 | 0,0990 |
| Mg (mg/l) | Fósforo Total (mg/l) | 8 | 0,57 | 0,1306 |
| Mg (mg/l) | DQO (total) (mg/l) | 10 | 0,13 | 0,7026 |
| Mg (mg/l) | DQO (Soluble) (mg/l) | 10 | 0,05 | 0,8700 |
| Mg (mg/l) | DBO (mg/l) | 10 | 0,14 | 0,6758 |
| Mg (mg/l) | NTK (Total) (%) | 10 | -0,01 | 0,9855 |
| Mg (mg/l) | N NH3 (Total) (%) | 10 | -0,10 | 0,7573 |
| Mg (mg/l) | Sulfato (mg/l) | 8 | 0,52 | 0,1658 |
| Mg (mg/l) | Alcalinidad (mg/l) | 9 | 0,13 | 0,7061 |
| Mg (mg/l) | Amonio Cuaternario (mg/l c.. | 2 | -1,00 | sd |
| Mg (mg/l) | Mn (mg/l) | 10 | 0,84 | 0,0026 |
| Mg (mg/l) | Cu (mg/l) | 10 | 0,52 | 0,1222 |
| Mg (mg/l) | K (mg/l) | 10 | -0,42 | 0,2096 |
| Mg (mg/l) | Zn (mg/l) | 10 | 0,53 | 0,1157 |
| Mg (mg/l) | Fe (mg/l) | 10 | 0,58 | 0,0841 |
| Mg (mg/l) | Ca (mg/l) | 9 | 0,17 | 0,6374 |
| Mg (mg/l) | Na (mg/l) | 10 | -0,54 | 0,1056 |
| Mg (mg/l) | Mg (mg/l) | 10 | 1,00 | <0,0001 |

9 ANEXO II. CÁLCULOS UTILIZADOS PARA LA ACTIVIDAD METANOGÉNICA ESPECÍFICA

R1: RELACION F/M =0,5

**Promedio
R1**

| Fecha | Hora mtra | Presión (bar) | Temp (°C) | CH ₄ (%) | CO ₂ | N ₂ | Hora | H acum | Días acum | V METANO DIARIO | | V acum CH ₄ (ml) ⁽³⁾ | Pendiente ⁽⁴⁾ |
|--------------------------|--------------|------------------|--------------|------------------------|-----------------|----------------|----------|-----------|--------------|------------------------|----------------------|---|--------------------------|
| | | | | | | | | | | INICIAL ⁽¹⁾ | FINAL ⁽²⁾ | | |
| 04-may | 20:30 | 0 | 35 | 0 | 0 | 100,00 | 0:00:00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 05-may | 11:05 | 0,02 | 35 | 17,77 | 3,11 | 78,94 | 14:35:00 | 14:35:00 | 0,61 | 17,99 | 17,64 | 17,99 | 29,61 |
| 06-may | 11:02 | 0,19 | 35 | 41,66 | 3,04 | 55,95 | 23:57:00 | 38:32:00 | 1,61 | 49,11 | 41,36 | 49,46 | 31,54 |
| 07-may | 12:25 | 0,33 | 35 | 62,23 | 2,78 | 34,86 | 25:23:00 | 63:55:00 | 2,66 | 81,90 | 61,78 | 90,01 | 38,34 |
| 08-may | 10:15 | 0,35 | 35 | 79,00 | 3,04 | 17,90 | 21:50:00 | 85:45:00 | 3,57 | 105,52 | 78,43 | 133,75 | 48,09 |
| 09-may | 11:30 | 0,34 | 35 | 81,05 | 3,08 | 15,78 | 25:15:00 | 111:00:00 | 4,63 | 107,47 | 80,46 | 162,80 | 27,61 |
| Pendiente: | 48,09 | | | | | | | | | | | | |
| g ssv ⁽⁵⁾ | 1,79 | | | | | | | | | | | | |
| AME⁽⁶⁾ | 0,08 | | | | | | | | | | | | |

R 2: RELACION F/M =0,26

Promedio R2

| Fecha | Hora mtra | Presión (bar) | Temp (°C) | CH ₄ (%) | CO ₂ (%) | N ₂ (%) | Hora | H acum | Días acum | V METANO DIARIO | | V acum CH ₄ (ml) ⁽³⁾ | Pendiente ⁽⁴⁾ |
|---------------------------|-----------|---------------|-----------|---------------------|---------------------|--------------------|----------|-----------|-----------|------------------------|----------------------|--|--------------------------|
| | | | | | | | | | | INICIAL ⁽¹⁾ | FINAL ⁽²⁾ | | |
| 04-may | 20:30 | 0 | 35 | 0 | 0 | 0 | 0:00:00 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 05-may | 11:05 | 0,05 | 35 | 19,87 | 5,19 | 74,81 | 14:35:00 | 14:35:00 | 0,61 | 20,70 | 19,73 | 20,70 | 34,07 |
| 06-may | 11:02 | 0,51 | 35 | 53,46 | 5,10 | 41,31 | 23:57:00 | 38:32:00 | 1,61 | 79,80 | 53,08 | 80,77 | 60,19 |
| 07-may | 12:25 | 0,49 | 35 | 70,87 | 5,08 | 23,96 | 25:23:00 | 63:55:00 | 2,66 | 104,39 | 70,35 | 132,08 | 48,51 |
| 08-may | 10:15 | 0,39 | 35 | 76,75 | 5,61 | 17,56 | 21:50:00 | 85:45:00 | 3,57 | 105,53 | 76,19 | 167,25 | 38,66 |
| 09-may | 11:30 | 0,11 | 35 | 76,84 | 6,86 | 16,13 | 25:15:00 | 111:00:00 | 4,63 | 84,56 | 76,28 | 175,62 | 7,96 |
| Pendiente: | | 60,19 | | | | | | | | | | | |
| g ssv ⁽⁵⁾ | | 3,42 | | | | | | | | | | | |
| AME ⁽⁶⁾ | | 0,05 | | | | | | | | | | | |

(1) $((\text{Presión} + 1.013) \times 112 \times 273 / (1.013 \times (273 + \text{Temp } ^\circ\text{C}))) \times (\% \text{CH}_4 / 100)$

En donde: 1atm = 1.013 bar

(2) $((1.013 \times 273) / (1.013 \times (273 + \text{Temp } ^\circ\text{C}))) \times (\% \text{CH}_4 / 100)$

(3) $(\text{V. Metano Diario Inicial} - \text{V Metano Diario Final}) + (\text{V. Acum CH}_4 \text{ del día anterior})$

(4) $(\text{Vol. Acum de CH}_4 \text{ del 5 de mayo} - \text{Vol. Acum de CH}_4 \text{ del 4 de mayo}) / (\text{Día Acum del 5 de mayo} - \text{Día acum. del 4 de mayo})$

(5) g de SSV: $(\text{vol. de inóculo agregado} \times \text{conc. inicial de SSV del inóculo}) / 1000$

(6) $(\text{Pendiente} / 350) / \text{g SSV}$

10 ANEXO III. PKA

| Tratamiento Inicial | TAN (g/l) | T °C | Ph | PkA | 1+10(pka-ph) | FAN (g/l) |
|----------------------------|------------------|-------------|-----------|------------|---------------------|------------------|
| T1 | 2,72 | 35 | 7,05 | 8,937965 | 78,26183169 | 0,034768548 |
| T1 | 2,72 | 35 | 7,06 | 8,937965 | 76,50313769 | 0,035567825 |
| T1 | 2,65 | 35 | 7,06 | 8,937965 | 76,50313769 | 0,03463183 |
| T2 | 1,86 | 35 | 6,94 | 8,937965 | 100,53252 | 0,018519094 |
| T2 | 1,79 | 35 | 6,95 | 8,937965 | 98,26688328 | 0,018217375 |
| T2 | 1,86 | 35 | 6,95 | 8,937965 | 98,26688328 | 0,01894607 |

| Tratamiento Final | TAN (mg/l) | T °C | Ph | PkA | 1+10(pka-ph) | FAN (mg/l) |
|--------------------------|-------------------|-------------|-----------|------------|---------------------|-------------------|
| 63 | 3,222 | 35 | 7,24 | 8,937965 | 50,88442837 | 0,063325784 |
| 70 | 3,294 | 35 | 7,24 | 8,937965 | 50,88442837 | 0,064733024 |
| 77 | 3,294 | 35 | 7,24 | 8,937965 | 50,88442837 | 0,064733024 |
| 91 | 2,721 | 35 | 7,1 | 8,937965 | 69,85967998 | 0,038950225 |
| 105 | 2,793 | 35 | 7,1 | 8,937965 | 69,85967998 | 0,039975231 |
| 112 | 2,793 | 35 | 7,1 | 8,937965 | 69,85967998 | 0,039975231 |

11 GLOSARIO

AGV: Ácidos grasos volátiles

AME: Actividad metanogénica específica

AP: Alcalinidad Parcial

AT: Alcalinidad total

BMP: Potencial bioquímico de metano

CE: conductividad eléctrica

CH₄: Gas Metano

CNPT: Condiciones normales de temperatura y presión

CTAB: Bromuro de hexadeciltrimetilamonio

DA: Digestión anaeróbica

DBO₅: La demanda bioquímica de oxígeno a 5 días

DQO: Demanda química de oxígeno

EEA: Estación experimental agropecuaria

FAN: Nitrógeno amoniacal libre (NH₃)

FAO: Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas

GITEP: Grupo de Intercambio Tecnológico de Explotaciones Porcinas

H₂SO₄: ácido sulfúrico

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

MAGyP: Ministerio de Agricultura, ganadería y pesca de la Nación

N: Nitrógeno

NaOH: hidróxido de sodio

Nivel de significancia (p<): En estadística, un resultado es estadísticamente significativo cuando no es probable que haya sido debido al azar, es decir que hay evidencias estadísticas de que hay una diferencia entre los tratamientos. El nivel de significancia de un test es un concepto estadístico asociado a la verificación de una hipótesis. Se define como la probabilidad de tomar la decisión de rechazar la hipótesis nula cuando ésta es verdadera. La decisión se toma a menudo utilizando el valor p (o p-valor): si el valor p es inferior al nivel de significación, entonces la hipótesis nula es rechazada. Cuanto menor sea el valor p, más significativo será el resultado.

N-NH₄⁺: Nitrógeno amoniacal

NO₃: Nitrato

NTK: Nitrógeno total Kjeldah

OECD: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico

OMS: Organización Mundial de la Salud

P: Fósforo

Piso *full slats*: Piso enrejillado

PT: Fósforo total

R1: Tratamiento 1 utilizado para la prueba de AME con una relación sustrato/inóculo (S/I) de 0.26 g DQO/g SSV

R2: Tratamiento 2 utilizado para la prueba de AME con una relación sustrato/inóculo (S/I) 0.5 g DQO/g SSV

S/I: Relación sustrato/Inóculo

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria

SO₄⁻²: Ion sulfato

SST: Sólidos suspendidos totales

SSV: Solidos suspendidos volátiles

ST: Sólidos totales

ST: Sólidos totales

SV: Sólidos volátiles

SV: Sólidos volátiles

T1: Tratamiento 1 utilizado para la prueba de biodegradabilidad, utilizando una relación sustrato/inóculo (S/I) de 0.6 de gr DQO/ gr de SSV

T2: Tratamiento 2 utilizado para la prueba de biodegradabilidad, utilizando una relación sustrato/inóculo (S/I) de 0.37 gr DQO/ gr de SSV