UNIVERSIDAD DE LEÓN

INSTITUTO DE MEDIO AMBIENTE, RECURSOS NATURALES Y BIODIVERSIDAD

ÁREA DE INGENIERÍA QUÍMICA

CO-DIGESTIÓN DE PURINES, RESIDUOS URBANOS Y DE LA INDUSTRIA DEL BIODIESEL

"Co-digestion of swine manure, urban wastes and residues from biodiesel production"

Directora:

Dra. Xiomar Arleth Gómez Barrios

Tesis presentada por

Julio Fierro Fernández

para optar al grado de Doctor

León, Junio de 2014

A mis padres

Agradecimientos

Son muchas las personas que de algún modo me han ayudado en el desarrollo de este trabajo y a quienes me gustaría expresar mi gratitud.

En primer lugar quisiera mostrar mi agradecimiento a Dña. Xiomar Gómez Barrios por su constante asesoramiento y disposición en la dirección de la tesis. También debo agradecer a D. Antonio Moran Palao la oportunidad de incorporarme a este grupo de investigación, y a ambos su cercanía y confianza durante estos años.

De igual modo debo agradecer profundamente a todos mis compañeros del Instituto de Recursos Naturales su apoyo, consejos y horas de trabajo compartidas durante este tiempo.

También me gustaría extender este agradecimiento a Jerry D. Murphy y su grupo de investigación, por su ayuda y hospitalidad durante mi estancia en el Environmental Resarch Institute de Cork.

Por último, y no por ello menos importante, a mi familia por estar a mi lado siempre

A todos muchas gracias

Contenido

Contenido ..... *I*

Índice de Tablas ..... *IX*

Índice de Figura ..... *XI*

Resumen ..... *XV*

Abstract ..... *XVII*

Abreviaturas ..... *XIX*

Capítulo 1. Introducción

1.1 Contexto energético 3

1.2 La gestión de los residuos 5

1.2.1 Gestión de purines de porcino 7

1.2.2 Gestión de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos 10

1.2.3 Residuos originados en la producción de biodiesel 12

1.2.3.1 Proceso de producción del biodiesel 12

1.2.3.2 Glicerina 13

1.2.3.3 Lodo procedente del aceite de cocina residual 15

1.3 La digestión anaerobia (DA) como vía de gestión de residuos 17

1.3.1 Situación actual del biogás 17

1.3.2 El biogás. Características y vías de aprovechamiento 18

1.3.2.1 Aprovechamiento en co-generación 19

1.3.2.2 Purificación del biogás. Aplicaciones como sustituto del gas natural 20

1.4 Bibliografía 22

Capítulo 2. Antecedentes y Objetivos

2.1 Antecedentes 29

2.1.1 Fases de la DA 29
2.1.2 Parámetros que intervienen en el proceso de DA 31
2.1.3 Co-digestión de residuos 33
2.1.4 Experiencias previas en el uso de la glicerina como co-sustrato 34

2.2 Objetivos y planificación del trabajo 36

2.2.1 Objetivos generales 36
2.2.2 Planificación del trabajo 37

2.3 Bibliografía 38

Capítulo 3. Material y Métodos

3.1 Materiales empleados 45

3.1.1 Características del inóculo utilizado 45
3.1.2 Características de los sustratos empleados 46
3.1.2.1 Purín 46
3.1.2.2 Residuos generados en la producción de biodiesel 47
3.1.2.3 Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) 49
3.1.3 Descripción de los sistemas de digestión utilizados 49
3.1.3.1 Reactores empleados en ensayos en régimen discontinuo. 49
3.1.3.2 Planta piloto de reactores de mezcla completa de 3 L 50
3.1.3.3 Planta piloto Bioprocess 52

3.2 Análisis rutinarios 55

3.2.1 Contenido en sólidos totales y volátiles 55
3.2.2 Alcalinidad 55
3.2.3 pH 56
3.2.4 Amonio 56
3.2.5 DQO 57
3.2.6 Composición del biogás 57

3.2.7 Contenido en ácidos grasos volátiles (AGV) 58
3.2.8 Contenido en ácidos grasos de cadena larga (AGCL).....58
3.2.9 Análisis realizados sobre la glicerina residual.....59
3.2.9.1 Contenido en glicerol 59
3.2.9.2 Contenido en metanol..... 60
3.2.9.3 Contenido en catalizador y jabones..... 60
3.2.10 Otras técnicas analíticas 61
3.2.10.1 Análisis de la materia orgánica, carbono orgánico y relación C/N. 61
3.2.10.2 Nitrógeno total..... 61
3.2.10.3 Contenido en fósforo, potasio y metales pesados..... 62
3.2.10.4 Sulfatos y Sulfuros 62

3.3 Análisis de estabilidad 63

3.3.1 Análisis termogravimétrico 63
3.3.2 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR).....64
3.3.3 Resonancia magnética nuclear.....65

3.4 Bibliografía 68

Capítulo 4. Co-digestión de purín y glicerinas

4.1 Introducción 73

4.2 Objetivos 74

4.3 Material y métodos 75

4.3.1 Descripción de los sustratos empleados 75
4.3.2 Metodología experimental.....76
4.3.2.1 Ensayos de biodegradabilidad 76
4.3.2.2 Ensayos en régimen semi-continuo 77
4.3.3 Metodología analítica 78

4.4 Resultados y discusión 79

4.4.1 Resultados de los ensayos de biodegradabilidad.....79
4.4.1.1 Biodegradabilidades individuales..... 79

4.4.1.2 Co-digestión en discontinuo de purín y glicerina 80
4.4.2 Resultados de la co-digestión en régimen semi-continuo 83
4.4.2.1 Co-digestión de Purín y Glicerina A (P-GA) 83
4.4.2.2 Co-digestión de Purín y Glicerina B (P-GB)..... 90
4.4.2.3 Comparación de los resultados obtenidos en la co-digestión de purín y glicerinas 95

4.5 Conclusiones 96

4.5.1 Respecto a los ensayos en discontinuo 96
4.5.2 Respecto a los ensayos en semi-continuo 97

4.6 Bibliografía 97

Capítulo 5. Co-digestión de la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos (FORSU) y glicerina

5.1 Introducción 105

5.2 Objetivos 106

5.3 Material y métodos 106

5.3.1 Descripción de los sustratos empleados 106
5.3.2 Metodología experimental 107
5.3.2.1 Ensayos de biodegradabilidad. 107
5.3.2.2 Ensayos en régimen semi-continuo 108
5.3.3 Metodología analítica 109

5.4 Resultados y discusión 110

5.4.1 Resultados de los ensayos en discontinuo 110
5.4.2 Resultados bajo condiciones continuas de alimentación 111

5.5 Conclusiones 116

5.5.1 Respecto a los ensayos en discontinuo 116
5.5.2 Respecto a los ensayos en semi-continuo 117

5.6 Bibliografía 117

Capítulo 6. Co-digestion of swine manure and crude glycerine obtained from biodiesel production. Effect of increasing glycerine ratio over process performance

Abstract **123**

6.1 Introduction **125**

6.2 Material and Methods **127**

6.2.1 Inoculum and substrate 127
6.2.2 Anaerobic digestion 127
6.2.3 Analytical techniques 128
6.2.4 Thermal analysis 129
6.2.5 FTIR analysis 130
6.2.6 NMR analysis 130

6.3 Results and Discussion **131**

6.3.1 Substrate characterisation 131
6.3.2 Anaerobic digestion 134
6.3.3 Thermal analysis 140
6.3.4 FTIR 143
6.3.5 ^{1}H NMR 145

6.4 Conclusions **148**

6.5 References **148**

Capítulo 7. Valorisation of used cooking oil sludge by co-digestion with swine manure.

Abstract **157**

7.1 Introduction **159**

7.2 Materials and methods **161**

7.2.1 Inoculum and substrate 161
7.2.2 Experimental set up 161

7.2.2.1 Batch digestion tests 161
7.2.2.2 Semi-Continuous reactor 163
7.2.3 Analytical techniques 164
7.2.3.1 Respirometry 165
7.2.3.2 Zucconi phytotoxicity test 166

7.3 Results and discussion 167

7.3.1 Batch Tests 167
7.3.2 Semi-continuous test 170
7.3.3 Stability of the digestate 176

7.4 Conclusions 177

7.5 References 178

Capítulo 8. What is the resource of second generation gaseous transport biofuels based on pig slurries in Spain?

Abstract 187

8.1 Introduction 189

8.1.1 Renewable energy targets for Spain 189
8.1.2 Biogas sector in Spain 190
8.1.3 Co-digestion of pig slurry with methane rich substrates 191
8.1.4 Environmental justification for digestion of pig slurry 192
8.1.5 Present treatment of pig slurry in Spain 192
8.1.6 Aims and objectives 193

8.2 Methodology 194

8.2.1 Pig slurry co-digestion 194
8.2.2 Scenario 1: Biogas potential from pig slurries and biodiesel residues 194
8.2.3 Scenario 2: Biogas potential from pig slurries and domestic food wastes 195
8.2.4 Biomethane as a natural gas substitute 197

8.3 Results 198

8.3.1 Biomethane as transport fuel 198

8.3.2 Biomethane replacing NG domestic consumption 199
8.3.3 Environmental benefits of biomethane as a transport fuel 200
8.3.4 GHG Savings 200
8.3.5 Socio-Economic Benefits 202
8.3.6 Cost of biomethane produced 202

8.4 Discussion of Results 204

8.4.1 Advantages of co-digestion 204
8.4.2 Policy and Feed-in Tariffs 205
8.4.3 Food waste, the Landfill Directive and digestate 205

8.5 Conclusions 206

8.6 References 207

Capítulo 9. Conclusiones

9.1 General Conclusions 215

9.1.1 Regarding the co-digestion of swine manure and wastes from biodiesel industry 215
9.1.2 Regarding the co-digestion of OFMSW and glycerine 216
9.1.3 Regarding the prospective application in transport 216

9.2 Conclusiones generales 217

9.2.1 Respecto de la co-digestión de purín y residuos de la industria del biodiesel 217
9.2.2 Respecto de la co-digestión de FORSU y glicerina 218
9.2.3 Respecto a la aplicación en el transporte 219

Índice de Tablas

Tabla 1.1. Composición orientativa del biogás (MAPA, 2010) 18

Tabla 1.2. Necesidad de tratamiento del biogás en de acuerdo con su uso final (MAPA, 2010) 19

Tabla 3.1. Características químicas del lodo digerido utilizado como inóculo. 46

Tabla 4.1. Caracterización de los sustratos empleados 76

Tabla 4.2. Características de la producción de biogás..... 80

Tabla 4.3. Producciones específicas de gas teóricas y experimentales para las diferentes mezclas con glicerina 82

Tabla 4.4. Principales parámetros de la producción de biogás para el reactor P-GA ... 86

Tabla 4.5. Principales parámetros analizados en el reactor P-GA..... 88

Tabla 4.6. Principales parámetros de la producción de biogás para el reactor P-GB.... 92

Tabla 4.7. Parámetros de funcionamiento de los reactores evaluados (promedios calculados desde el día 50 95

Tabla 5.1. Caracterización del inóculo y el FORSU 107

Tabla 5.2. Caracterización de las diferentes mezclas FORSU-Glicerina. 108

Tabla 5.3. Características de la producción de biogás..... 110

Tabla 5.4. Características de la fase líquida al finalizar los ensayos de co-digestión en discontinuo 111

Tabla 5.5. Valor medio de los parámetros de funcionamiento del proceso de digestión de FORSU y glicerina. 113

Tabla 5.6. Valor medio de los parámetros de funcionamiento del proceso de digestión de FORSU y glicerina 116

Table 6.1. Operational parameters of the digestion process. 128

Table 6.2. Substrate characterization..... 131

Table 6.3. Thermal kinetics of substrates. 134

Table 6.4. Main parameters evaluated for the co-digestion reactor at different glycerine ratios 140

Table 6.5 Kinetic parameters of digestates. 142

Table 7.1. Characterisation of substrates used in co-digestion tests 161

Table 7.2. Experimental and calculated biogas productions for WOS-SM batch co-digestion systems. 169

Table 7.3. Performance parameters of the R-WOS reactor. 173

Table 7.4. Relative seed germination of L. sativum after 24 (RSG24), 48 (RSG48) and 72 h RSG72, relative root growth and germination index after 72 hours (RRG72 and GI72 respectively) 177

Table 8.1. Gross Final Energy Consumption forecast for 2020 [2] 189

Table 8.2. Renewable Energy Targets for 2020 [2] 190

Table 8.3. Energy from scenario 1 195

Table 8.4. Energy from scenario 2 196

Table 8.5. Potential Applications of biogas from both scenarios 199

Table 8.6. GHG savings and employment generated by biomethane industry 201

Table 8.7. Summary of Capital Investment for Biomethane System 203

Table 8.8. Evaluation of price of biomethane 204

Índice de Figuras

Figura 1.1. Distribución del consumo de energía primaria (A) y eléctrica en 2012(B). Fuente:(MINETUR, 2013) 4

Figura 1.2. Jerarquía europea en la gestión de residuos (MAGRAMA, 2013a) 5

Figura 1.3. Producción de residuos por actividad económica (MAGRAMA, 2013a) 6

Figura 1.4. Distribución de la producción intensiva de purines (MARM, 2010)..... 7

Figura 1.5. Composición de la "bolsa tipo" de residuos municipales (MAGRAMA, 2012) 11

Figura 1.6. Reacción principal del proceso de síntesis del biodiesel (Zhang et al., 2003) 13

Figura 1.7. Evolución de la producción y consumo de glicerina en la UE. Evolución del precio de la glicerina refinada (Heming, J., 2013)..... 15

Figura 1.8. Evolución del coste de purificación del biogás en función del tamaño de la planta (Browne et al., 2011) 21

Figura 2.1. Diagrama de los diferentes procesos que componen la DA y microorganismos involucrados (Massé y Droste, 2000). 30

Figura 2.2. Esquema general del desarrollo del trabajo 37

Figura 3.1. Esquema del proceso de obtención de los residuos de la industria del biodiesel 47

Figura 3.2. Imagen de las dos glicerinas empleadas en los ensayos de co-digestión..... 48

Figura 3.3. Fotografía del lodo obtenido en el pre-tratamiento del aceite..... 49

Figura 3.4. Ensayos en régimen discontinuo 50

Figura 3.5. Esquema de la planta semi-piloto de reactores de mezcla completa de 3L (a). Detalle de los contadores de gas (b) y reactores (c). 51

Figura 3.6. Agitador con doble sistema de palas agitadoras 52

Figura 3.7. Esquema y fotografía de la planta piloto Bioprocess..... 54

Figura 3.8. Equipo de titulación empleado en la determinación de alcalinidad y DQO..... 57

Figura 3.9. Fotografía y esquema de la termobalanza utilizada 64

Figura 3.10. Estado inicial de los núcleos (a) y alineamiento según la orientación del campo magnético (H0), pasando al estado de alta energía (b). Fuente: www.hartford.edu 66

Figura 3.11. Espectrómetro de resonancia magnética nuclear. Fuente:www.agilent.com 67

Figura 4.1. Diferencia visual entre las dos glicerinas empleadas en el ensayo. glicerina A (izquierda) y glicerina B (derecha) 75

Figura 4.2. Producción acumulada de biogás para las 3 muestras evaluadas..... 79

Figura 4.3. Evolución de la producción de biogás para las muestras de co-digestión con glicerina B 81

Figura 4.4. Evolución del contenido en AGV para los sistemas de co-digestión con glicerina evaluados en los reactores discontinuos 83

Figura 4.5. Evolución de la producción de biogás, y concentración de AGV para el reactor P-GA evaluado bajo condiciones semi-continuas de operación..... 85

Figura 4.6. Evolución de los principales parámetros del reactor P-GA; (a) ST y SV (b), pH (c), Alcalinidad (d) y Amonio total y libre. 87

Figura 4.7. (a) Producción diaria de biogás y (b) contenido en metano..... 91

Figura 4.8. Evolución del contenido en (a) ST y SV (b), alcalinidad, pH (c), y amonio en el reactor operando con GB como co-sustrato..... 93

Figura 5.1. Producción diaria de biogás y AGV para el reactor FORSU+Glicerina.... 112

Figura 5.2. Evolución del contenido en ST y SV (a), alcalinidad (b), y amonio (c), para el reactor FORSU+glicerina 115

Figure 6.1. Evolution of the weight loss profiles TG-DTG for the substrates (a) TG profiles of SM and glycerine, (b) DTG profile of SM sample and (c) DTG of glycerine sample. 134

Figure 6.2. Evolution of the (a) biogas production (b) VFA evolution (c), and H2S content in biogas for the co-digestion reactor with glycerine 135

Figure 6.3. (a) Averaged cumulative biogas production, (b) and biogas production rate for each period evaluated with a content of glycerine in the feed at 4, 6 and 8%. 139

Figure 6.4. Weight loss profiles (a), DTG and thermogram deconvolution (b,c,d,e) for the set of four digestate samples. 141

Figure 6.5 IR spectra of fresh swine manure (SM) and digestates..... 144

Figure 7.1. Cumulative specific biogas production for individual substrates (A) and co-digestion tests (B). VFA profiles for individual substrates (C) and co-digestion (D) 168

Figure 7.2. Evolution of biogas production and methane content (A), VFA (B) and LCFA (C) for the R-WOS reactor. 171

Figure 7.3. Evolution of the main parameters monitored for the reactor; TS and VS, Total ammonia nitrogen (TAN) and free Ammonia (FA) (B), and Total alkalinity (C). 175

Figure 7.4. Cumulative oxygen uptake (COU) and Oxygen uptake rate (OUR) for digestate and feeding. 176

Resumen

Los residuos ganaderos son la mayor fuente de residuos orgánicos producida en la Unión Europea. El aumento de la producción y concentración de estos residuos debido al incremento de las explotaciones intensivas, junto con la aparición de normativas ambientales más estrictas, dificulta su aplicación en el terreno haciendo que sea necesario encontrar vías de gestión que reduzcan su impacto ambiental. Dentro de los diferentes sectores ganaderos, es el sector porcino (asociado a la generación de purines) el que más preocupación genera debido al riesgo de contaminación por nitratos y fosfatos de aguas superficiales y acuíferos.

En la misma línea, la política de residuos Europea enfocada a la reducción, reutilización y reciclado ha requerido en los últimos años la recogida separada de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU) y la reducción significativa de la cantidad que llega al vertedero, promoviendo procesos de valorización que permitan su aprovechamiento.

En ambos casos la digestión anaerobia (DA) permite el tratamiento y valorización de estos residuos, obteniendo un biocombustible catalogado por la Comisión Europea como uno de los más sostenibles, y un material digerido estabilizado que puede ser compostado para su uso como biofertilizante. Sin embargo, la DA puede presentar problemas en la aplicación al tratamiento de algunos residuos, ya sea debido a su bajo potencial de producción de biogás o a la aparición de ciertos compuestos en concentraciones que pueden resultar inhibitorias. La co-digestión con otros residuos cuyas características sean complementarias al sustrato principal puede considerarse como una vía para solventar estos problemas.

En este trabajo se estudia la co-digestión de purín y FORSU utilizando como co-sustratos los residuos obtenidos en el proceso de producción de biodiesel, a fin de incrementar la estabilidad del sistema y la producción de metano. Por otra parte, el aprovechamiento de subproductos y residuos en las plantas de biodiesel es un factor clave en la aplicación del concepto de biorrefinería, donde a partir de una materia prima se elaboran varios productos de diferente valor, al igual que ocurre en una refinería de

petróleo, a fin de maximizar el aprovechamiento de la biomasa y hacer la producción de biocombustibles más sostenible.

En primer lugar se han realizado ensayos de co-digestión empleando dos glicerinas diferentes y evaluando distintas proporciones glicerina-purín a fin de evaluar el efecto sobre la producción de biogás y determinar la concentración adecuada. Posteriormente, se evaluó el proceso en condiciones de operación semi-continua a fin de evaluar la estabilidad del sistema. Los ensayos mostraron un incremento de la producción de biogás por efecto de la adición de glicerina, apreciándose también un comportamiento diferente asociado a las características de las dos glicerinas.

Siguiendo una metodología similar, se realizaron ensayos de co-digestión de FORSU y glicerina obteniéndose también en este caso un notable incremento en la producción de biogás, además de un funcionamiento estable del reactor durante el periodo evaluado.

Posteriormente se realizó el estudio del proceso de co-digestión de purín y lodo de aceite de cocina usado obtenido de la etapa de pre-tratamiento en el proceso de fabricación de biodiesel. Los resultados mostraron un aumento de la producción de biogás de 1,5-2 veces. A diferencia de los ensayos con glicerina, en este caso se pudo observar un efecto sinérgico en la co-digestión. Debido a la mayor complejidad del residuo se observaron problemas de acumulación de ácidos grasos de cadena larga (AGCL) al incrementar la carga orgánica. Los ensayos de estabilidad realizados sobre el digerido demostraron la necesidad de aplicar un post-tratamiento si se pretende su utilización como enmienda orgánica.

Finalmente se realizó un análisis del potencial de producción de biogás a partir de estos residuos a nivel nacional, y el impacto que tendría su aplicación como sustituto del gas natural en transporte y hogares. De acuerdo con los resultados obtenidos, la co-digestión de estos residuos podría ayudar significativamente a alcanzar los objetivos de energías renovables fijados para el sector transporte en 2020, con una reducción anual de 1 - 1,2 Mt de CO_2 eq.

Abstract

Livestock wastes are the major source of organic wastes in the European Union. The increasing amount and concentration of these wastes, as a consequence of intensive farming, and the more strict environmental regulations poses restrictions to land application. It is necessary to develop new management practices to reduce the environmental impact. Among the different sectors, swine industry raises great concerns due to the potential of surface and groundwater contamination by nitrates and phosphates. In this same line, the waste management policy of the EU is focused in reducing, reuse and recycling, encouraging source separation of the organic fraction of municipal solid wastes (OFMSW), and prompting a significant reduction of the amount of organic material that ends in landfills. In either case, anaerobic digestion (AD) allows the treatment and valorisation of these wastes, obtaining a biofuel which is classified by the European Commission as one of the most sustainable fuels, along with a digested material that can be further composted to be used as biofertiliser. Nevertheless, AD can be problematic when treating some residues, due to their low biogas potential or to the presence of some compounds acting as inhibitor based on their concentration. Co-digestion of wastes with complementary characteristics can solve these problems.

This work assesses the co-digestion of swine manure (SM) and OFMSW using wastes obtained in the production of biodiesel to achieve a greater stability and methane production of the system. In addition, the use of by-products and wastes from biodiesel plants is a key factor in the application of the biorefinery concept, where several products are obtained from a raw material, as it occurs in a conventional petroleum refinery, maximising the use of biomass and increasing sustainability of biofuel production.

Co-digestion tests were performed using two types of glycerines and evaluating different glycerine-SM proportions to determine their effect over biogas production and obtain the best glycerine-manure ratio. Posteriorly, the digestion process was carried out under semi-continuous conditions to evaluate the stability of the system. Tests showed an increase in biogas production as a consequence of the addition of glycerine, showing also differences in behaviour linked to glycerine types.

Following a similar methodology, the co-digestion of OFMSW and glycerine was assessed, obtaining as a result a significant increase in biogas production as well as a stable operation during the period under study.

Co-digestion of SM and waste oil sludge (WOS) was also evaluated. WOS used as co-substrate were obtained at the pre-treatment stage of the biodiesel production process. Results showed an increase in biogas production of 1.5 - 2 fold. Unlike glycerine tests, in this case a synergistic effect was observed. Due to the complex composition of this waste, problems related with the accumulation of long chain fatty acids (LCFA) were experienced when increasing organic loading. Stability tests performed over digested samples showed the need of a post-treatment stage if its use as organic amendment is intended.

Finally, the theoretical assessment of the biogas potential of these wastes at a national level was performed, evaluating the potential applications of biogas as substitute of natural gas in transport and homes. In accordance with results obtained, co-digestion of these wastes could significantly help to fulfill renewable energy targets in transport sector for 2020, with a reduction of 1 - 1.2 Mt CO_2 eq.

Abreviaturas

AGCL	Ácidos grasos de cadena larga
AGV	Ácidos grasos volátiles
bs	Base seca
C/N	Relación carbono/nitrógeno
CO	Carga orgánica
CSTR	Reactor continuo de mezcla completa (Continuous stirred tank reactor)
DBO	Demanda biológica de oxígeno
DQO	Demanda química de oxígeno
DQOs	Demanda química de oxígeno soluble
DTA	Análisis Térmico Diferencial (Differential thermal analysis)
DTG	Termogravimetría derivada (Derivative thermogravimetric curve)
EDAR	Estación depuradora de aguas residuales
FID	Detector de ionización de llama (Flame ionization detector)
FORSU	Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos
FT-IR	Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier (Fourier transform infrared spectroscopy)
GC	Cromatografía de gases (Gas chromatography analysis)
GEI / GHG	Gases de efecto invernadero (Greenhouse gases)
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución (High-performance liquid chromatography)
NMR	Espectroscopía de resonancia Magnética nuclear (Nuclear Magnetic Resonance)
PANER	Plan Nacional de Energías Renovables
PEG	Producción específica acumulada de gas (mL gas/g SV alimentado)

PNRU	Plan Nacional de Residuos Urbanos
RES-T	Objetivo de energías renovables en el sector transporte en 2020
SANDACH	Subproductos animales no destinados al consumo humano
SMP	Producción específica de metano (Specific methane production)
TCD	Detector de conductividad térmica (Thermal Conductivity Detector)
tep	Toneladas equivalentes de petróleo
UASB	Reactor anaerobio de flujo ascendente (upflow anaerobic sludge blanket)
Vr	Volumen del reactor

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1 CONTEXTO ENERGÉTICO

El desarrollo de la actividad humana e industrial se encuentra inevitablemente ligado a la obtención de energía. Desde el comienzo de la Revolución Industrial la demanda energética mundial ha crecido de manera continuada, de modo que durante el pasado siglo XX, el consumo mundial de energía primaria se multiplicó por 10 como consecuencia del desarrollo y mecanización del sector industrial, las mejoras de la calidad de vida, y al crecimiento de la población mundial (Henry y Heinke, 1999).

En España, el consumo de energía primaria ha aumentado de manera ininterrumpida durante las últimas décadas, pasando de unas 90 000 ktep en 1999 hasta prácticamente alcanzar las 150 000 ktep entre 2004 y 2006. Esta tendencia creciente comienza a detenerse a partir de 2004, debido al desarrollo de las energías renovables y al incremento en el consumo de gas natural (asociado a sistemas más eficientes) en contrapartida con la tendencia de petróleo y carbón (MINETUR, 2013). A partir de 2008 se observa una clara caída del consumo energético como consecuencia de la crisis económica que llega a ser de un 8,56% en 2009, y una relativa estabilización los años posteriores. El consumo de energía primaria en 2013 fue de 121 000 ktep lo que supone una reducción de 6% respecto al año anterior. El grado de dependencia energética exterior también se ha reducido en los últimos años como consecuencia del aporte de las energías renovables y nuclear, siendo de un 62,7% en 2012.

La Figura 1.1 muestra la distribución del consumo de energía primaria y de la generación de energía eléctrica en 2012. Durante este año, a pesar de la reducción en el consumo de energía primaria, se observó un incremento de la energía procedente de fuentes renovables hasta alcanzar un 12,4% de la energía primaria consumida y aproximadamente un tercio de la energía eléctrica. Este hecho es especialmente significativo si tenemos en cuenta el menor aporte de la energía hidroeléctrica (aproximadamente un 26,6%) debido a la menor cantidad de agua disponible en comparación con 2011. Eólica e hidráulica se posicionan como las principales fuentes de energía en lo que respecta a generación eléctrica, sumando un 80% de la energía generada. No obstante el peso de las demás fuentes renovables aumenta respecto a años anteriores, pasando de un 16 a un 19,5% del total generado.

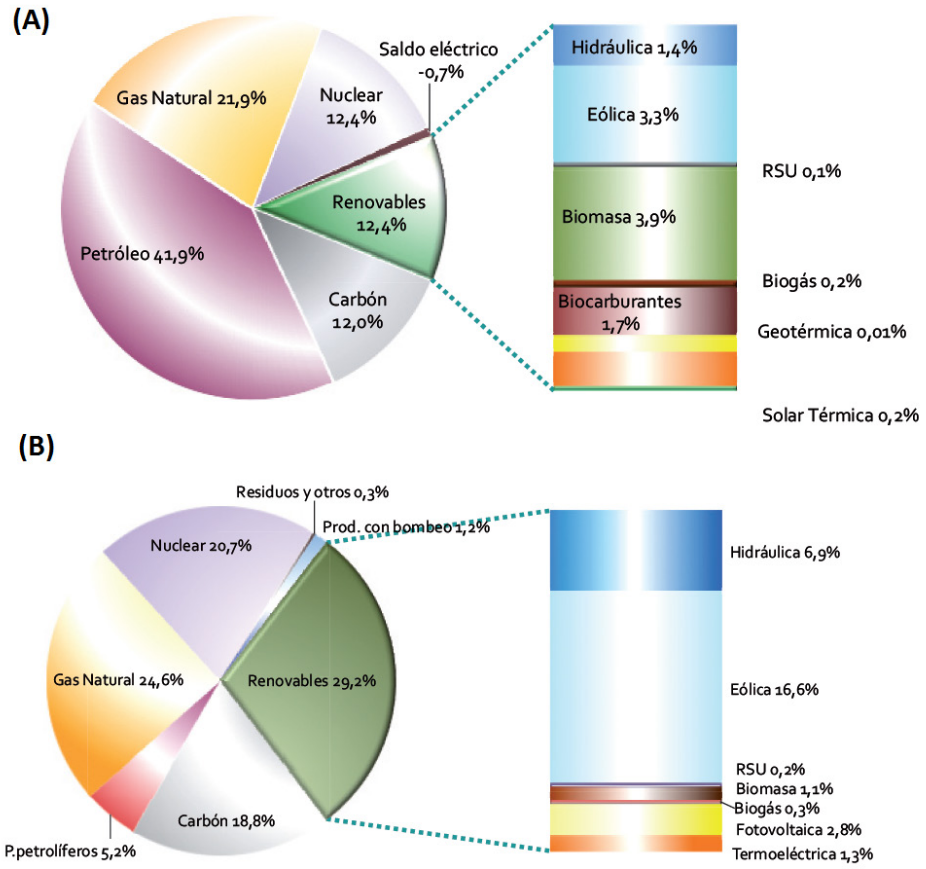

Figura 1.1. Distribución del consumo de energía primaria (A) y eléctrica en 2012(B). Fuente:(MINETUR, 2013)

EL Plan de Energías Renovables 2011-2020 (IDAE, 2011) establece los objetivos del sector energético a 2020, de acuerdo con los objetivos fijados por la Directiva 2009/28/CE (Comisión Europea, 2009). Según las previsiones del Plan Nacional de Energías Renovables (PANER) 2011-2020 el consumo de energía final en 2014 será de 96 955 ktep, distribuyéndose de manera similar entre demanda térmica, electricidad y transporte. Según con las previsiones fijadas en el PANER, la contribución de las energías renovables para alcanzar los objetivos de 2020 será de 20525 ktep, lo cual supondrá un 20,8% del consumo de energía final y un 11,3% del consumo del sector transportes. Cabe destacar que las previsiones descritas en el PANER 2011-2020 en cuanto a consumo de energía se basan en una previsión de crecimiento económico de 2,2% entre los años 2011-2014 y 2,5% del PIB a partir del año 2014, valores que no se están cumpliendo y que previsiblemente reducirán a la baja la demanda energética prevista en 2020.

1.2 LA GESTIÓN DE LOS RESIDUOS

Del volumen total de residuos que se producen en la Unión Europea, únicamente el 40% es reciclado o reutilizado de algún modo, mientras que la fracción restante es incinerada o enterrada en vertederos (MAGRAMA, 20113a). Con el objetivo de reducir el volumen de residuos producidos anualmente en la UE (aproximadamente 2 700 millones de toneladas) y aumentar la eficiencia en el uso de los recursos, la Comisión Europea aprobó la Directiva Marco sobre residuos (Directiva 2008/98/CE), en la cual establece que todos los Estados miembros deben adoptar medidas para el reducir el volumen de residuos generado per cápita, y disponer de una política de gestión de residuos que dé prioridad a la prevención de la generación, la reutilización, y el reciclaje de residuos (Figura 1.2).

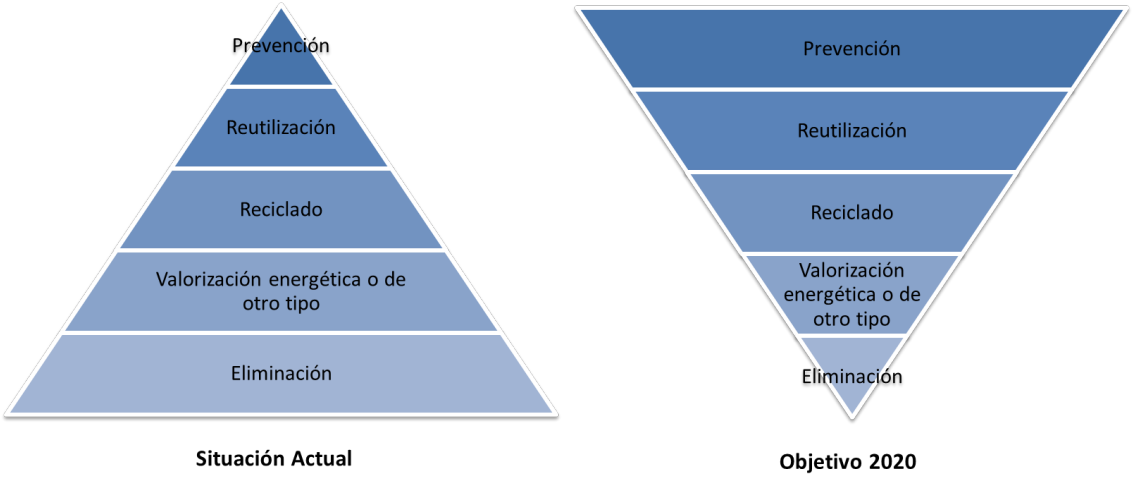

Figura 1.2. Jerarquía europea en la gestión de residuos (MAGRAMA, 2013a)

La Ley 22/2011, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados establece como límite Diciembre de 2013 para que todas las administraciones públicas hayan desarrollado un programa para la prevención de residuos dentro de sus competencias. A nivel nacional, el Programa Estatal de Prevención de Residuos 2014-2020 desarrolla la política de prevención para alcanzar el objetivo de reducir un 10% el volumen de residuos generado en 2020, tomando como referencia 2010. Este programa se configura

en torno a cuatro líneas estratégicas destinadas a incidir en los elementos clave de la prevención de residuos:

- Reducción de la cantidad de residuos,
- Reutilización y alargamiento de la vida útil de los productos,
- Reducción del contenido de sustancias nocivas en materiales y productos,
- Reducción de los impactos adversos de los residuos generados sobre la salud humana y el medio ambiente.

De acuerdo con los últimos datos disponibles (Eurostat), en España se producen anualmente unos 137 millones de toneladas de residuos. La Figura 1.3 muestra su distribución según la actividad. Se puede observar como construcción y minería son los sectores con mayor volumen de producción, si bien dichos residuos son en su práctica totalidad material mineral. Los hogares y el sector servicios son los siguientes productores en volumen, presentando una distribución más heterogénea entre residuos orgánicos (biorresiduos), papel plástico y otros.

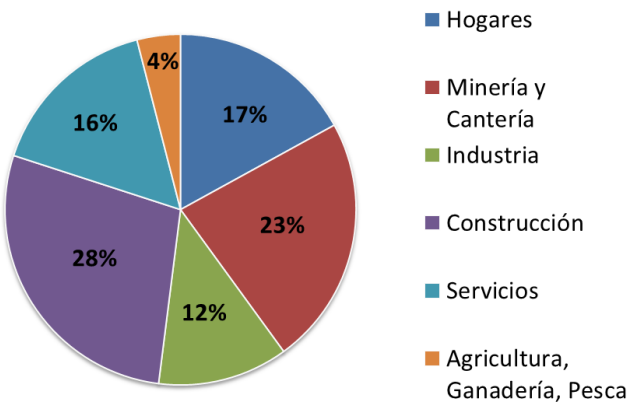

Figura 1.3. Producción de residuos por actividad económica (MAGRAMA, 2013a)

La Directiva define como biorresiduo como todo "*residuo biodegradable de jardines y parques, residuos alimenticios y de cocina procedentes de hogares, restaurantes, servicios de restauración colectiva y establecimientos de consumo al por menor, y residuos comparables procedentes de plantas de transformación de alimentos*". No se incluyen por tanto dentro de esta definición, los residuos agrícolas o forestales, el estiércol, los lodos de depuración ni otros residuos biodegradables como

textiles naturales, papel o madera tratada. También quedan excluidos los subproductos de la industria alimentaria, que nunca se convierten en residuos (Comisión Europea, 2008a).

1.2.1 Gestión de purines de porcino

El purín es un residuo generado a partir de las deyecciones animales, restos de alimentos, agua en proporción variable y en su caso, restos de materiales de lecho. Todos estos componentes varían según el sistema productivo aplicado en cada explotación porcina, resultando un residuo de consistencia fluida con un contenido en materia seca bajo, generalmente inferior al 5%.

El sector porcino español es el segundo mayor de la UE, únicamente superado por Alemania. España produce unos 42 millones de animales al año, centrándose dicha producción en las provincias de Zaragoza, Huesca, Lérida, Murcia, Barcelona, Segovia y Teruel (Figura 1.4). Dicha producción generó 4 452 millones de euros en 2010, lo que supuso el 35,2% de la producción final ganadera (PFG) (MAGRAMA, 2013b). El Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente cifra la producción de purín porcino en 46 millones de toneladas anuales, lo que supone el 35,2% del total de residuos ganaderos, y el 61,9% si se considera únicamente los purines y estiércoles generados en ganadería intensiva.

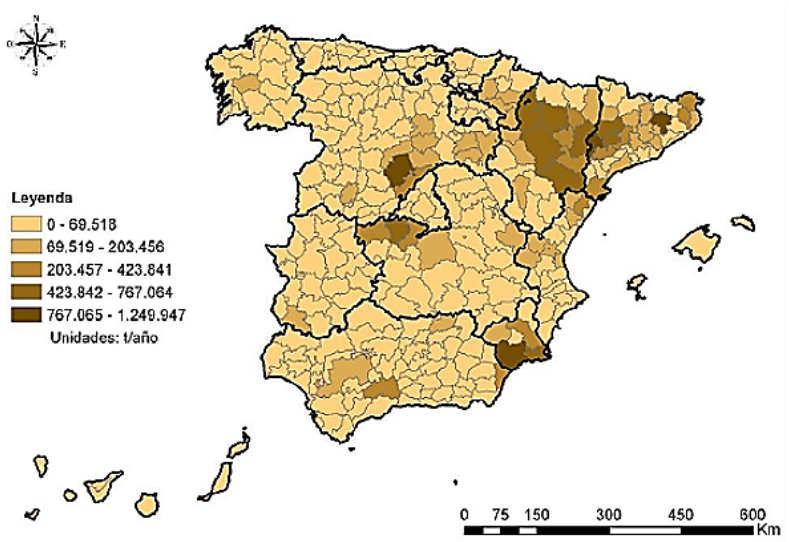

Figura 1.4. Distribución de la producción intensiva de purines (MARM, 2010)

A fin de garantizar que no se generan riesgos para la actividad humana, la gestión de los subproductos animales está regulada desde el momento de su producción hasta su aplicación final, valorización o destrucción. El Reglamento (CE) Nº 1069/2009, del Parlamento Europeo y del Consejo y el Reglamento (UE) Nº 142/2011, de la Comisión, constituyen desde el 4 de marzo de 2011 el marco legal comunitario aplicable al manejo de los subproductos animales no destinados al consumo humano (SANDACH) y sus derivados, clasificándolos en tres categorías atendiendo a su grado de peligrosidad. Este reglamento contempla la valorización energética de los residuos ganaderos (estiércoles y purines), mediante compostaje o transformación en biogás, así como su aplicación directa como abonado o enmienda orgánica. En España el Real Decreto 1528/2012 estableció las condiciones de aplicación de la normativa comunitaria sobre SANDACH.

El contenido en nutrientes del purín es muy heterogéneo. Su contenido en nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K) varía en función del régimen de estabulación, el tipo de alimentación, la raza, la configuración de las instalaciones, el tiempo de permanencia en la balsa o la época de aplicación (Scotford *et al*., 1999; Moral *et al*., 2005). Tradicionalmente tanto purines como estiércoles han sido empleados como enmienda orgánica para fertilizar los campos de cultivo próximos a las explotaciones. Sin embargo, la intensificación de las explotaciones porcinas que ha tenido lugar en las últimas décadas, unida a la heterogénea distribución de dichas explotaciones, ha llegado a colapsar la capacidad del medio agrícola para aprovechar estos residuos, generando problemas de contaminación de aguas superficiales y acuíferos por exceso de fósforo y nitrógeno (Greaves *et al*., 1999). Se considera que aproximadamente el 30% del purín producido en España se genera en zonas en las que no es posible su aplicación agrícola (ADAP, 2012).

La problemática ambiental derivada de los purines es compartida con otros países europeos como Holanda, Dinamarca, Alemania o Portugal, lo que ha favorecido el desarrollo de políticas europeas en este aspecto. La Directiva 91/676/CEE, denominada *"Directiva Nitratos"* y sus posteriores modificaciones Reglamento (CE) Nº 1882/2003 y Nº 1137/2008, regulan en uso del purín como abono agrícola. Su publicación surge a raíz del riesgo detectado para la salud humana debido al incremento continuado en la concentración de nitratos en el agua potable. La Directiva incluye un

inventario de las aguas contaminadas o susceptibles de estarlo, así como una designación de zonas vulnerables que se aplica igualmente en la normativa estatal que la transpone. Su aplicación práctica supone una restricción en el uso anual de purín en una determinada zona en función del número de plazas (animales) de la explotación ganadera.

La Directiva se transpone al ordenamiento jurídico español a través del Real Decreto 261/1996 (B.O.E., 1996). Este Real Decreto establece unas limitaciones en la aplicación del purín como abono, junto con la extensificación de la explotación a través de la disminución en el número de plazas o del aumento de la superficie agraria útil para poder aplicar los purines producidos. Aquellos purines que no puedan cumplir en su aplicación los requerimientos normativos en su uso agrícola, serán considerados residuos y por tanto regulados por la normativa sectorial correspondiente a ellos. El Real Decreto 3483/2000 (B.O.E., 2000c) establece las normas que regulan la aplicación de medidas de ordenación sanitaria y zootécnica de las explotaciones porcinas, con implicación en materia de higiene, sanidad animal, bienestar de los animales y medio ambiente.

Además de la problemática ambiental debida a la contaminación de acuíferos y aguas superficiales, la ganadería es responsable del 10,7% de las emisiones de gases de efecto invernadero en España, siendo la gestión de los residuos ganaderos responsable de un tercio de dichas emisiones (MAPA, 2007).

En la gestión convencional, los purines son almacenados en lagunas hasta su aplicación en los terrenos agrícolas. Este almacenamiento es responsable de la emisión de 8,9 Mt de CO_2 eq cada año, principalmente en forma de metano. A estas emisiones hay que añadirles las derivadas de la aplicación agrícola, cuantificadas en 1,1 Mt CO_2 eq en forma principalmente de NO_2 (MAPA, 2008). Con el objetivo de reducir estas emisiones el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación elaboró un Plan de Biodigestión de Purines, a fin de fomentar esta vía de tratamiento, teniendo como objetivo la digestión de 9,5 Mt de purines y la reducción de 1,8 Mt CO_2 eq (MAPA, 2008). Este plan no tuvo el impacto deseado debido a las bajas tarifas retributivas fijadas por el RD 661/2007 y al bajo rendimiento de producción de gas de este tipo de residuos (MAPA, 2010).

Para lograr compatibilizar el desarrollo del sector porcino con las exigencias ambientales, el Gobierno permitió la aplicación de la co-generación en el tratamiento de purines y su inclusión en el régimen especial eléctrico mediante el RD 2818/98. Este modelo dio lugar a la aparición de plantas de tratamiento de purines en las cuales se separa la fase líquida de la sólida, que es secada empleando el calor producido por la instalación de gas natural. El resultado final del tratamiento es agua y un material orgánico peletizado que puede ser utilizado como fertilizante.

En la actualidad existen 29 plantas de este tipo en España con una potencia instalada de 364 MW, las cuales tratan anualmente 2,5 millones de m^3, reduciendo las emisiones en 700 000 t CO_2 eq (ADAP, 2012). La modificación posterior del marco retributivo propuesto en la Orden Ministerial sobre Renovables, Co-generación y Residuos ocasionó el cese de actividad de estas instalaciones. Esta reforma, actualmente en periodo de alegaciones, entró en vigor con carácter retroactivo desde julio de 2013 y reduce la prima por venta de electricidad para este tipo de instalaciones de 156 a 100 €/MWh haciendo inviable su funcionamiento (Mundo Ganadero, 2014; Raso, C. 2014).

1.2.2 Gestión de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos

Los residuos sólidos urbanos (RSU) están compuestos por materia orgánica, papel y cartón, plásticos, vidrio, metales, material textil y madera, variando su composición según el país, las características socio-económicas e incluso la época del año. De acuerdo con datos de Eurostat, la producción per cápita de residuos en 2012 fue de 464 kg, ligeramente por debajo de la media europea (492 kg), y muy por debajo de países como Dinamarca o Alemania con más de 600 kg por persona.

La Figura 1.5 muestra la composición típica de los RSU. Cabe destacar que aproximadamente un 43% de los residuos generados en el ámbito urbano son orgánicos (biorresiduos).

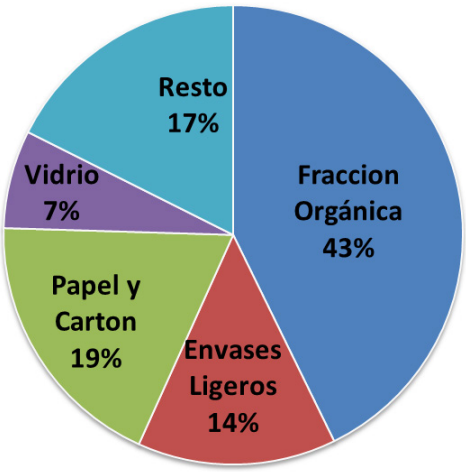

Figura 1.5. Composición de la "bolsa tipo" de residuos municipales (MAGRAMA, 2012)

La Directiva Marco de Residuos (Comisión Europea, 2008b) obliga la recogida separada de los biorresiduos con vistas a su compostaje o digestión, evitando así su enterrado en vertedero. La directiva establece una reducción de un 10% del volumen total de residuos producidos en 2020, tomando como base el volumen generado en 2010, y establece un porcentaje de reciclado y reutilización de al menos un 50% reciclado para las fracciones de papel, metales, biorresiduos, plástico, vidrio u otras fracciones reciclables. Esta política de reducción del volumen de residuos orgánicos que llega a vertedero fue limitada con anterioridad por la denominada Directiva Vertederos (Comisión Europea, 1999), la cual limita a un 35% la cantidad de residuos biodegradables que pueden ser depositados en vertedero en 2016, utilizando en este caso el año 1995 como base.

El tratamiento biológico de los biorresiduos (compostaje y DA) es considerado como reciclado cuando el producto final (compost o digestato) es aplicado al suelo o utilizado para la producción de sustratos de cultivo. En caso contrario, es considerado como pre-tratamiento antes del depósito en vertederos o la incineración.

El compostaje es la opción más adecuada para el tratamiento de residuos verdes y material leñoso, mientras que la DA se considera la mejor opción para el tratamiento de residuos húmedos y no lignocelulósicos. El biogás producido puede ser utilizado energéticamente de diversas formas, y el digestato (o digerido) obtenido puede ser

compostado, maximizando la recuperación global de recursos de los biorresiduos (Comisión Europea, 2008a).

La adecuada separación de las diferentes fracciones es un paso crucial para el correcto tratamiento de los biorresiduos. Por ello la Ley de Residuos, en trasposición de lo indicado en la Directiva Marco, establece diversas opciones de recogida selectiva de los residuos biodegradables: compostaje doméstico, recogida separada de la fracción vegetal, recogida en grandes productores y recogida de la fracción orgánica de los residuos domésticos. Numerosos ensayos muestran que el FORSU separado en el punto de producción presenta una mayor producción de biogás y una mejor calidad del material digerido que el obtenido de la separación mecánica en planta (Browne *et al*., 2011; Mata-Alvarez *et al*., 2000).

Como paso previo a la DA, el FORSU es sometido a un proceso para eliminar el material no degradable, y posteriormente es triturado hasta reducir la fracción biodegradable a un tamaño adecuado y homogéneo que facilite la biometanización.

1.2.3 Residuos originados en la producción de biodiesel

1.2.3.1 Proceso de producción del biodiesel

La producción de biodiesel en la UE ha aumentado progresivamente durante la última década hasta llegar a los 9,5 millones de toneladas en 2010. A pesar de la reducción que experimentó dicha producción en 2011, debido principalmente a las importaciones de países como Indonesia y Argentina, la capacidad de producción ha seguido aumentando, hasta superar las 23 millones de toneladas en 2012. Los mayores productores de biodiesel en la UE son Alemania y Francia con 2,8 y 1,9 millones de toneladas respectivamente, seguidos de España e Italia con 0,9 y 0,7 millones de toneladas en 2010 (European Biodiesel Board, 2011).

La reacción principal que tiene lugar en la síntesis del biodiesel es la de transesterificación (Figura 1.6), mediante la cual se producen los ésteres metílicos que componen el biodiesel a partir de un ácido graso y metanol. Esta reacción tiene lugar en

presencia de un catalizador, que puede ser ácido, alcalino o enzimático, produciendo glicerol como sub-producto del proceso.

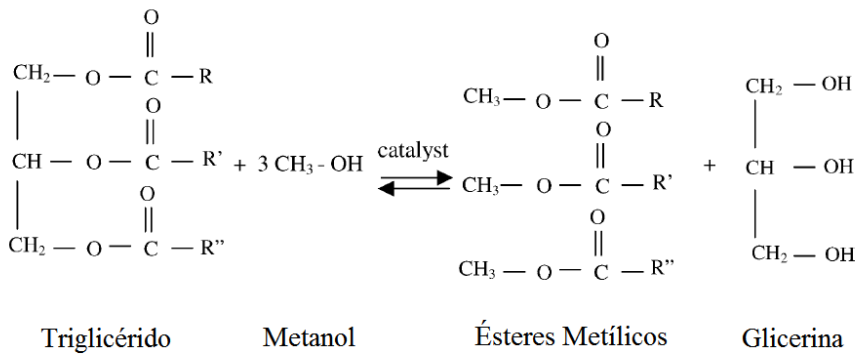

Figura 1.6. Reacción principal del proceso de síntesis del biodiesel (Zhang et al., 2003)

Una vez finaliza la reacción de transesterificación, el glicerol y los esteres metílicos son separados fácilmente gracias a la diferencia de densidad, empleando tanques de sedimentación o centrífugas. El exceso de metanol presente ralentiza la separación, pero éste no se elimina hasta que los ésteres metílicos y el glicerol no se han separado, ya que la reacción de transesterification es reversible. Para mejorar la separación de las dos fases se puede añadir agua. La corriente de glicerina a la salida del separador tiene un contenido en glicerol de aproximadamente el 50%, además contiene metanol y la mayor parte del catalizador y de los jabones. El contenido en metanol hace que deba ser tratado como un residuo peligroso.

Los catalizadores más utilizados en la actualidad son el hidróxido sódico (NaOH) y el hidróxido potásico (KOH) debido a su menor coste y mayor velocidad de reacción. Sin embargo estos catalizadores son muy sensibles a la presencia de ácidos grasos libres y agua en los aceites.

1.2.3.2 Glicerina

En el proceso de fabricación de biodiesel se generan aproximadamente 10 L de glicerina por cada 100 L de biodiesel, con una composición típica de un 50 - 60% de glicerol, 12 - 16% de álcalis, especialmente en forma de jabones alcalinos e hidróxidos,

15 - 18% de ésteres metílicos, 2 - 3% de metanol y un 3% de agua y otros compuestos (Kolesárová, Nina *et al*., 2011; Thompson y He, 2006).

Las impurezas y el contenido en metanol presente en esta glicerina hacen que sea necesario someterla a un proceso de refinado para su posterior aprovechamiento. El proceso de purificación comienza con la neutralización del catalizador empleando un ácido, eliminando la sal formada por centrifugación o decantación. Cuando el catalizador es KOH se emplea ácido fosfórico, obteniendo como producto de la neutralización fosfato potásico, que puede ser empleado posteriormente como fertilizante (Viana *et al*., 2012). Los restos de agua y alcohol son eliminados mediante evaporación en la propia planta de biodiesel para su reutilización en el proceso, logrando una glicerina con un contenido en glicerol de 80-88% denominada *"glicerina cruda comercial"*. Esta glicerina es vendida a empresas que se encargan de su purificación mediante destilación hasta el grado técnico (98%) o el denominado USP/FCC (99,7%) mediante destilación para su uso en la industria alimentaria o farmacéutica (Posada-Duque y Cardona-Alzate, 2010; Van Gerpen, 2005).

Tradicionalmente la glicerina ha sido un subproducto de gran valor, debido al gran número de aplicaciones que tiene tanto en la industria química como en la cosmética e incluso en la alimentaria. Sin embargo, el incremento en la producción de biodiesel de los últimos años ha generado un stock de glicerina que el mercado no puede absorber, provocando el desplome de su precio (Figura 1.7). En la actualidad 2/3 de la producción mundial de glicerina proviene de la industria del biodiesel (Heming, J., 2013). Esta situación ha hecho que el refinado de la glicerina sea económicamente inviable en las plantas de pequeño y mediano tamaño (Pachauri y He, 2006), llegando a ser necesario su tratamiento como residuo, generando un coste adicional para la planta (Ayoub y Abdullah, 2012).

Por otra parte, el aprovechamiento de subproductos y residuos en las plantas de biodiesel es un factor clave en la aplicación del concepto de *biorrefinería,* donde a partir de una materia prima se elaboran varios productos de diferente valor, al igual que ocurre en una refinería de petróleo, a fin de maximizar el aprovechamiento de la biomasa y hacer la producción de biocombustibles sostenible.

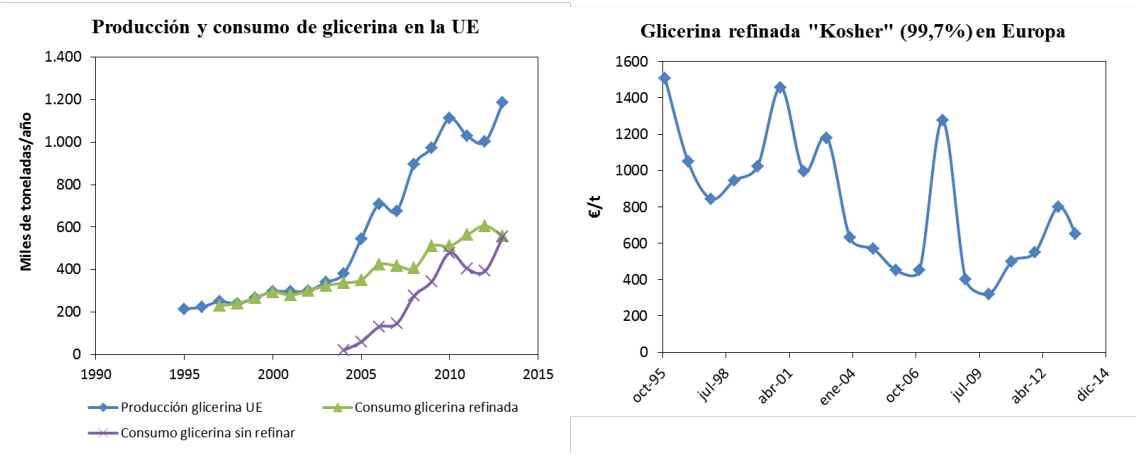

Figura 1.7. Evolución de la producción y consumo de glicerina en la UE. Evolución del precio de la glicerina refinada (Heming, J., 2013)

Existen numerosas vías de aprovechamiento de la glicerina residual en las que mediante procesos catalíticos o biológicos se transforma el glicerol en otros compuestos químicos de mayor valor, si bien gran parte de estas técnicas aun necesitan ser mejoradas para que su aplicación en una biorrefinería sea económicamente viable (Johnson y Taconi, 2007). Además de estos aprovechamientos, existen otras vías cuyo objetivo es la valorización energética de la glicerina residual. Una de las vías más prometedoras es su tratamiento mediante DA, al tratarse de un residuo con una elevada carga orgánica y fácilmente degradable por los microrganismos anaerobios.

1.2.3.3 Lodo procedente del aceite de cocina residual

El aceite de cocina usado, producido principalmente en hostelería, servicios de catering, cocinas etc., se considera un residuo alimenticio de categoría 3 de acuerdo con el Reglamento SANDACH, siendo necesaria su gestión siguiendo los procedimientos aprobados por dicho Reglamento, como son su transformación en plantas de biodiesel, biogás o compostaje. Tradicionalmente estos aceites eran empleados como aditivos para piensos animales, pero esta práctica está prohibida en la UE desde 2002 para animales destinados al consumo humano (Reglamento (CE) No 1774/2002), por la presencia de compuestos potencialmente nocivos debido al repetido calentamiento de los aceites de cocina (Kulkarni y Dalai, 2006).

El empleo de aceites residuales procedentes de la industria alimentaria ha ganado interés en los últimos años como materia prima para la producción de biodiesel. Esto se debe a que, a pesar de presentar mayores dificultades técnicas en comparación con el empleo de aceites vegetales, presenta importantes ventajas desde el punto de vista ambiental y económico, al ser su precio considerablemente inferior al de los aceites vegetales empleados en la producción de biodiesel como colza, o palma (Kulkarni y Dalai, 2006)

Desde el punto de vista ambiental, la producción de biocombustibles a partir de residuos posee un doble valor a efectos del cálculo de los objetivos energéticos fijados para 2020. Además la Comisión Europea, en una propuesta de Octubre de 2012 (Comisión Europea, 2012) plantea la reducción del contribución de los biocombustibles de primera generación del 10 al 5% de los objetivos del plan de Energías Renovables, a fin de fomentar el uso de biocombustibles de segunda y tercera generación.

Como inconveniente, los aceites de cocina presentan además de otras impurezas un mayor contenido en ácidos grasos libres (FFA), lo cual dificulta el proceso de fabricación de biodiesel. Los aceites de cocina usados pueden tener un contenido en FFAs de 2 - 7%. Es necesario realizar un pre-tratamiento, o bien utilizar catalizadores ácidos como el ácido sulfúrico, para de este modo reducir los problemas de saponificación (Wang *et al*., 2006; Zhang *et al*., 2003). Adicionalmente, el uso de este tipo de aceites implica la retirada de impurezas presentes en el aceite usado. Estas impurezas son en esencia restos de comida que quedan en el aceite tras su uso y deben ser eliminadas mediante decantación y filtración. El residuo obtenido de este proceso tiene consistencia de fango y un elevado contenido en aceite, siendo necesaria su eliminación mediante un gestor de residuos, lo cual supone un coste añadido para las plantas. El elevado contenido en aceite otorga a este residuo de un elevado potencial de generación de biogás, siendo por tanto la DA una vía interesante de valorización del residuo.

1.3 LA DIGESTIÓN ANAEROBIA (DA) COMO VÍA DE GESTIÓN DE RESIDUOS

1.3.1 Situación actual del biogás

A causa de la crisis energética de los setenta, la DA se ha desarrollado significativamente, orientada hacia la producción de biogás como alternativa al petróleo. El mayor número de instalaciones se encuentra asociado a la digestión de fangos en las estaciones depuradoras de aguas residuales. En Europa, Alemania, Reino Unido e Italia son los países en los que encuentra el mayor número de instalaciones, sumando el 75% de la potencia instalada en toda Europa y la mayor parte de la energía primaria producida 12 049 ktep en 2012. El impacto económico del sector del biogás en Europa se estima en unos 5 700 M€, generado 69 000 puestos de trabajo (EurObserv'ER, 2014).

Alemania es el país en el que más desarrollado se encuentra el proceso de digestión, sin embargo cambios en los incentivos existentes para el sector han causado una importante reducción de la instalación de plantas nuevas en el último año, especialmente las plantas de gran tamaño destinadas al tratamiento de residuos agrícolas. No obstante esta reducción de la actividad se ve compensada por una elevada actividad de estas compañías en el exterior. En Reino Unido, Francia y España, el desarrollo de plantas de biogás es mucho menor, siendo principalmente los vertederos los principales generadores de biogás. Considerando las actuales estrategias comunitarias en materia de gestión de residuos, se prevé el descenso de los residuos biodegradables destinados a vertedero, incrementándose el biogás agro-industrial hasta ser el protagonista principal dado su elevado potencial disponible.

De acuerdo con los objetivos fijados en el PANER 2011-2020 (IDAE, 2011), la contribución del biogás en los objetivos de 2020 son de 400 MWe de potencia instalada y 2 600 GWh de producción anual para el sector eléctrico y 100 ktep para el sector térmico. El plan anterior fijó un objetivo de 235 MWe para 2010 el cual no pudo ser cumplido. El escaso desarrollo del sector del biogás en España se debe principalmente a la escasa remuneración de las electricidad producida, y la falta de incentivos por co-digestión, tratamiento de residuos con bajo potencial de producción de biogás, o

reducción de emisiones de gases de efecto invernadero (MARM, 2010). Adicionalmente, dentro de las medidas tomadas para reducir el déficit del sector eléctrico, el Gobierno mediante el RD-Ley 1/2012 suspendió los incentivos económicos para las instalaciones de nueva construcción sometidas al régimen especial, quedando pendiente de aprobación una futura reforma del régimen retributivo para las plantas que se encuentran en funcionamiento.

1.3.2 El biogás. Características y vías de aprovechamiento

Denominamos biogás al biocombustible generado en la degradación biológica de sustratos orgánicos en condiciones anaerobias. El biogás engloba la mezcla de varios gases producidos en las diferentes fases de la digestión en las cuales intervienen varias poblaciones de microorganismos. Generalmente el biogás está compuesto por dos gases mayoritarios metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2). La Tabla 1.1 muestra la composición general del biogás.

Tabla 1.1. Composición orientativa del biogás (MAPA, 2010)

Gas	***Concentración***
Metano (CH_4)	50 – 75%
Dióxido de carbono (CO_2)	25 – 45%
Vapor de agua (H_2O)	1 – 2%
Monóxido de carbono (CO)	0 – 0,3%
Nitrógeno (N_2)	1 – 5%
Hidrógeno (H_2)	0 – 3%
Sulfuro de hidrógeno (H_2S)	0,1 – 0,5%
Oxígeno (O_2)	0,1 – 1,0%

Frecuentemente se realiza una clasificación del biogás de acuerdo al lugar y sustrato del que se obtiene, distinguiendo generalmente los siguientes tipos de biogás:

- Biogás agro-industrial: procedente de residuos agrícolas, ganaderos o de la industria de su transformación
- Biogás de estación depuradora: Generado a partir de la DA de los fangos obtenidos en el proceso de tratamiento de aguas residuales.
- Biogás procedente de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU).
- Biogás de vertedero: Se obtiene de la descomposición de los residuos sólidos urbanos y es el único de los aquí considerados que no se genera en un digestor, sino que se recolecta mediante una red de conducciones tras el sellado del vertedero

Existen diferentes vías de aprovechamiento del biogás producido mediante DA, pudiendo emplearse en producción de energía térmica, eléctrica, o como sustituto del gas natural. En función del uso final, el biogás deberá ser purificado en mayor o menor grado (ver Tabla 1.2), para eliminar el CO_2, vapor de agua, H_2S, NH_3, partículas, etc.

Tabla 1.2. Necesidad de tratamiento del biogás en de acuerdo con su uso final (MAPA, 2010)

Aplicación	***Eliminación de agua***	***Eliminación CO_2***	***Eliminación H_2S***
Producción térmica en calderas	Parcial	No	No / Parcial
Producción térmica y eléctrica en co-generación	Parcial / Elevado	No / Parcial	Parcial / Elevado
Combustible en vehículos	Elevado	Elevado	Elevado
Inyección a red de gas natural	Elevado	Elevado	Elevado
Pilas de combustible	Elevado	Elevado	Elevado

1.3.2.1 Aprovechamiento en co-generación

La vía de aprovechamiento del biogás más extendida es la co-generación mediante motores. La co-generación permite obtener de manera conjunta electricidad, gracias a un generador convencional acoplado al motor, y calor mediante la

recuperación de la energía térmica que los gases de escape. Este proceso tiene una eficiencia energética elevada, (alrededor del 85%), con un rendimiento eléctrico del orden del 35 al 42%. Para esta aplicación el biogás debe tener un contenido en CH_4 superior al 40% y requiere la eliminación del H_2S ya que provoca daños por corrosión en la instalación.

Las microturbinas con potencias de hasta 200 kW también se empleas en sistemas de co-generación. Se trata de una tecnología menos extendida que los motores y en la actualidad más costosa. Presentan una mayor tolerancia al H_2S y a concentraciones más bajas de CH_4 que los motores.

1.3.2.2 Purificación del biogás. Aplicaciones como sustituto del gas natural

El empleo del biogás en vehículos o su inyección en la red de gas natural son dos aplicaciones muy interesantes desde el punto de vista ambiental, y permiten un aprovechamiento energético distinto de la producción eléctrica mediante co-generación. Sin embargo, ambas aplicaciones requieren de un elevado grado de limpieza y purificación hasta concentraciones de CH_4 superiores al 96%, lo cual supone un elevado coste limitando su aplicación a instalaciones de grandes dimensiones (>250 m^3/h).

Generalmente los sistemas de purificación eliminan en primer lugar el H_2S, mediante la adición de hidróxido de hierro al digestor o la adición de aire en el espacio de cabeza del digestor. Cuando la concentración supera las 2 000 ppm es necesario utilizar algún tipo de bio-scruber. Una vez se ha eliminado el H_2S y otros componentes se procede a eliminar el CO_2, para alcanzar concentraciones de CH_4 de 96 - 97%, pasando a denominarse biometano. Existen varias técnicas para la eliminación del CO_2 del biogás, las tres más utilizadas comercialmente son la denominada *High pressure wáter scrubbing* (HPWS), *Pressure swing adsorption* (PSA) y *Chemical (amine) scrubbing*, siendo las dos primeras las más extendidas debido a los costes de purificación.

El empleo del biometano en el transporte es técnicamente más sencillo, al existir en la actualidad un importante número de vehículos que funcionan con gas natural, siendo una tecnología bastante desarrollada. Solamente en Madrid existen 790

autobuses urbanos y 350 camiones de recogida de basura funcionando con gas natural comprimido (GNC). Estos vehículos emiten un 20% menos de CO_2 que su equivalente diesel o gasolina, presentan una mayor eficiencia y son menos ruidosos. Como inconveniente, la autonomía de estos vehículos es baja, (aproximadamente 150 km) y un arrancado muy lento. Ambientalmente el biometano se considera uno de los biocombustibles más sostenibles, de acuerdo con la Directiva Europa de energías renovables (Comisión Europea, 2009), con un menor impacto ambiental que el biodiesel y otros combustibles de primera generación (Murphy y Power, 2009; Patterson *et al*., 2011)

La inyección en la red de gas natural es otra vía de aprovechamiento del biogás. Presenta la ventaja de aprovechar la red existente, de modo que el biogás inyectado reemplaza el gas natural utilizado en industrias y hogares. Es la alternativa de aprovechamiento más compleja, ya que requiere del cumplimiento de una serie de condiciones técnicas de pureza especificadas por ENAGAS, la empresa encargada de la distribución del gas natural en España. Las dos principales barreras existentes para el desarrollo de esta vía de aprovechamiento del biogás en España están asociadas al elevado coste de inversión de las instalaciones de purificación y compresión del gas, y a la falta de un marco retributivo. Se estima que el coste del proceso se encuentra en el rango de los 0,22 y 0,18 €/m^3 para plantas con una producción de biogás de 250 - 500 m^3/h, siendo inviable en instalaciones inferiores (Figura 1.8). En la actualidad las plantas de biometanización de "La Paloma" y "Las Dehesas" situadas en el centro de tratamiento de residuos de Valdemingómez (Madrid) son la única experiencia en inyección de biometano en España.

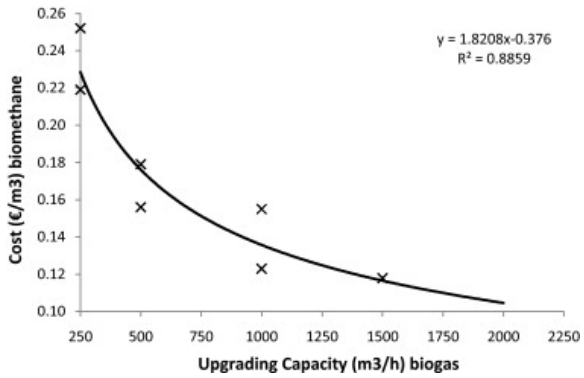

Figura 1.8. Evolución del coste de purificación del biogás en función del tamaño de la planta (Browne et al., 2011)

1.4 BIBLIOGRAFÍA

ADAP, 2012. Los purines y su impacto [WWW Document]. Asociación de Empresas Para el Desimpacto Ambiental de Los Purines. URL http://www.adap.org.es/quienessomos/los-purines-y-su-impacto/ (accessed 10.29.12).

Ayoub, M., Abdullah, A.Z., 2012. Critical review on the current scenario and significance of crude glycerol resulting from biodiesel industry towards more sustainable renewable energy industry. Renew. Sustain. Energy Rev. 16, 2671–2686.

Browne, J., Nizami, A.-S., Thamsiriroj, T., Murphy, J.D., 2011. Assessing the cost of biofuel production with increasing penetration of the transport fuel market: A case study of gaseous biomethane in Ireland. Renew. Sustain. Energy Rev. 15, 4537–4547.

B.O.E., 1996. Real Decreto 261/1996, de 16 de febrero, sobre protección de las aguas contra la contaminación producida por los nitratos procedentes de fuentes agrarias.

B.O.E, 2000. Real Decreto 3483/2000, de 29 de diciembre, por el que se modifica el Real Decreto 324/2000, de 3 de marzo, por el que se establecen normas básicas de ordenación de las explotaciones porcinas.

Comisión Europea, 1991. Directiva 91/676/CEE del Consejo, de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura

Comisión Europea, 1999. Directiva 1999/31/CE del Consejo, de 26 de abril 1999, relativa al vertido de residuos.

Comisión Europea, 2008a. Libro Verde sobre la gestión de los biorresiduos en la Unión Europea. Comision Europea, Bruselas.

Comisión Europea, 2008b. Directiva 2008/98/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 19 de noviembre de 2008, sobre los residuos y por la que se derogan determinadas Directivas.

Comisión Europea, 2009. Directiva 2009/28/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 23 de abril de 2009 relativa al fomento del uso de energía procedente de fuentes renovables y por la que se modifican y se derogan las Directivas 2001/77/CE y 2003/30/CE.

Comisión Europea, 2012. EU Commission tackles the climate impacts of biofuel production [WWW Document]. URL http://ec.europa.eu/clima/policies/transport/fuel/documentation_en.htm (accessed 10.30.12).

EurObserv'ER, 2014. The State of Renewable Energies in Europe 2013. EurObserv'ER.

European Biodiesel Board, 2011. 2010-2011: EU biodiesel industry production forecasts.

Greaves, J., Hobbs, P., Chadwick, D., Haygarth, P., 1999. Prospects for the recovery of phosphorus from animal manures: a review. Environ. Technol. 20, 697–708.

Heming, J., 2013. Glycerine Market Report (No. 102). Oleonline.

Henry, J.G., Heinke, G.W., 1999. Ingeniería ambiental. Pearson Educación.

IDAE, 2011. Plan de Energías Renovables 2011-2020. Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, Madrid.

Johnson, D.T., Taconi, K.A., 2007. The glycerin glut: Options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. Environ. Prog. 26, 338–348.

Kolesárová, Nina, Huntnan, Miroslav, Bodík, Igor, Spalková, Viera, 2011. Utilization of Biodiesel By-Products for Biogas Production. BioMed Res. Int. 2011. doi:10.1155/2011/126798

Kulkarni, M.G., Dalai, A.K., 2006. Waste cooking oil an economical source for biodiesel: A review. Ind. Eng. Chem. Res. 45, 2901–2913.

MAGRAMA, 2012. Plan piloto de caracterización de residuos urbanos de origen domiciliario. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaria de Estado de Medio Ambiente, Madrid.

MAGRAMA, 2013a. Programa Estatal de Prevención de Residuos. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Secretaria de Estado de Medio Ambiente, Madrid.

MAGRAMA, 2013b. Anuario Estadistico 2012. Centro de Publicaciones. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente, Madrid.

MAPA, 2007. Inventario Nacional de Emisiones a la Atmósfera 1990-2009 en el territorio español. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

MAPA, 2008. Plan de biodigestion de purines.

MAPA, 2010. El sector del biogás agro-industrial en España.

MARM, 2010. El sector del biogás agro-industrial en España. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Mata-Alvarez, J., Macé, S., Llabrés, P., 2000. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. Bioresour. Technol. 74, 3–16.

MINETUR, 2013. La energía en España 2012. Ministerio de Industria, Turismo y Comercio, Madrid.

Moral, R., Pérez-Murcia, M.D., Pérez-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.

Mundo Ganadero, 2014. El sector denuncia la inviabilidad de las plantas de tratamiento de purines [WWW Document]. URL http://www.mundoganadero.es/noticias-sector-denuncia-inviabilidad-plantas-tratamiento-purines/1/10397.html (accessed 3.13.14).

Murphy, J.D., Power, N.M., 2009. An argument for using biomethane generated from grass as a biofuel in Ireland. Biomass Bioenergy 33, 504–512.

Pachauri, N., He, B., 2006. Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production: a survey of current research activities. ASABE Pap. 1–16.

Patterson, T., Esteves, S., Dinsdale, R., Guwy, A., 2011. An evaluation of the policy and techno-economic factors affecting the potential for biogas upgrading for transport fuel use in the UK. Energy Policy 39, 1806–1816.

Posada-Duque, J.A., Cardona-Alzate, C.A., 2010. Análisis de la refinación de glicerina obtenida como coproducto en la producción de biodiésel. Ing. Univ. 9–27.

Raso, Concha, 2014. El recorte en la retribución obliga al cierre de las plantas de purines. ElEconomista Rev. Energ. 18, 20–24.

Scotford, I.M., Cumby, T.R., Richards, P.A., Keppel, D., Lenehan, J.J., 1999. Development of an in-line nutrient sensing system for livestock slurries. Journal of Agricultural Engineering Research 74, 303 - 316.

Thompson, J.C., He, B.B., 2006. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. Appl. Eng. Agric. 22, 261.

Van Gerpen, J., 2005. Biodiesel processing and production. Fuel Process. Technol. 86, 1097–1107. doi:10.1016/j.fuproc.2004.11.005

Viana, M.B., Freitas, A.V., Leitão, R.C., Pinto, G.A.S., Santaella, S.T., 2012. Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. Environ. Technol. Rev. 1, 81–92. doi:10.1080/09593330.2012.692723

Wang, Y., Ou, S., Liu, P., Xue, F., Tang, S., 2006. Comparison of two different processes to synthesize biodiesel by waste cooking oil. J. Mol. Catal. Chem. 252, 107–112. doi:10.1016/j.molcata.2006.02.047

Zhang, Y., Dubé, M.A., McLean, D.D., Kates, M., 2003. Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. Bioresour. Technol. 89, 1–16.

Capítulo 2

ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Fases de la DA

La DA es un proceso microbiológico que tiene lugar en ausencia de oxígeno y por el cual la materia orgánica es descompuesta, de manera secuencial, por diversas poblaciones de microorganismos. El producto final del proceso es una mezcla de gases denominada biogás. El material sólido o líquido obtenido se denomina digerido o digestato, y contiene los componentes orgánicos menos degradables junto con el nitrógeno, fosforo y otros minerales presentes en la biomasa (Mata-Alvarez, J., 2002)

La interacción cooperativa de varios grupos fisiológicos de procariotas permite la formación de metano a partir de sustancias de elevado peso molecular, tales como polisacáridos, proteínas y grasas. Los precursores inmediatos del metano (CH_4) son el hidrógeno (H_2), el dióxido de carbono (CO2) (metanogénesis hidrogenotrófica) y el ácido acético (metanogénesis acetoclástica), los cuales se generan por las actividades de los fermentadores anaerobios (Cuetos, M.J., 2007).

La digestión anaerobia comprende un proceso en cuatro etapas que tienen lugar de forma simultánea y están relacionados entre sí (Figura 2.1). El proceso de hidrólisis se produce gracias a la presencia de bacterias hidrolíticas y acidogénicas las cuales excretan exo-enzimas que provocan la ruptura de los polímeros orgánicos, dando lugar a subunidades más pequeñas que pueden ser transportadas con mayor facilidad al interior celular. Es la primera etapa del proceso y permite que las proteínas sean hidrolizadas (fundamentalmente por las proteasas de las especies de *Clostridium*) a proteosas, peptonas, péptidos y aminoácidos; las grasas por lipasas a través de la β-oxidación, a ácidos grasos de cadena larga (AGCL) y moléculas de glicerol o galactasa; y los policarbohidratos a azúcares y alcoholes. Posteriormente las bacterias fermentativas convierten a estos intermediarios en ácidos grasos volátiles (AGV), hidrógeno y dióxido de carbono (Zinder, 1984; Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991; Salminen y Rintala, 2002). Frecuentemente la hidrólisis es la etapa limitante de los procesos de DA en fase sólida o con una elevada concentración de materia orgánica particulada (Vavilin *et al.*, 2001).

La hidrólisis es una etapa indispensable, dado que los microorganismos de las etapas posteriores sólo son capaces de actuar sobre la materia orgánica disuelta, pudiendo considerarse que la velocidad de producción de biogás es proporcional a la velocidad de solubilización de materia orgánica (Fernández-Polanco y García, 2000). Por otra parte, los residuos lignocelulósicos se caracterizan por ser un material difícilmente hidrolizable, debido a las complejas matrices de celulosa, hemicelulosa y lignina, teniendo un efecto limitante en la actividad de los microorganismos encargados de su degradación, especialmente en el caso de la lignina (Jiménez *et al*., 1990; Fermor, 1993). Los polímeros de cadena larga de la celulosa y hemicelulosa se hidrolizan a mono o disacáridos por enzimas holocelulóticas extracelulares (Tong *et al.*, 1990).

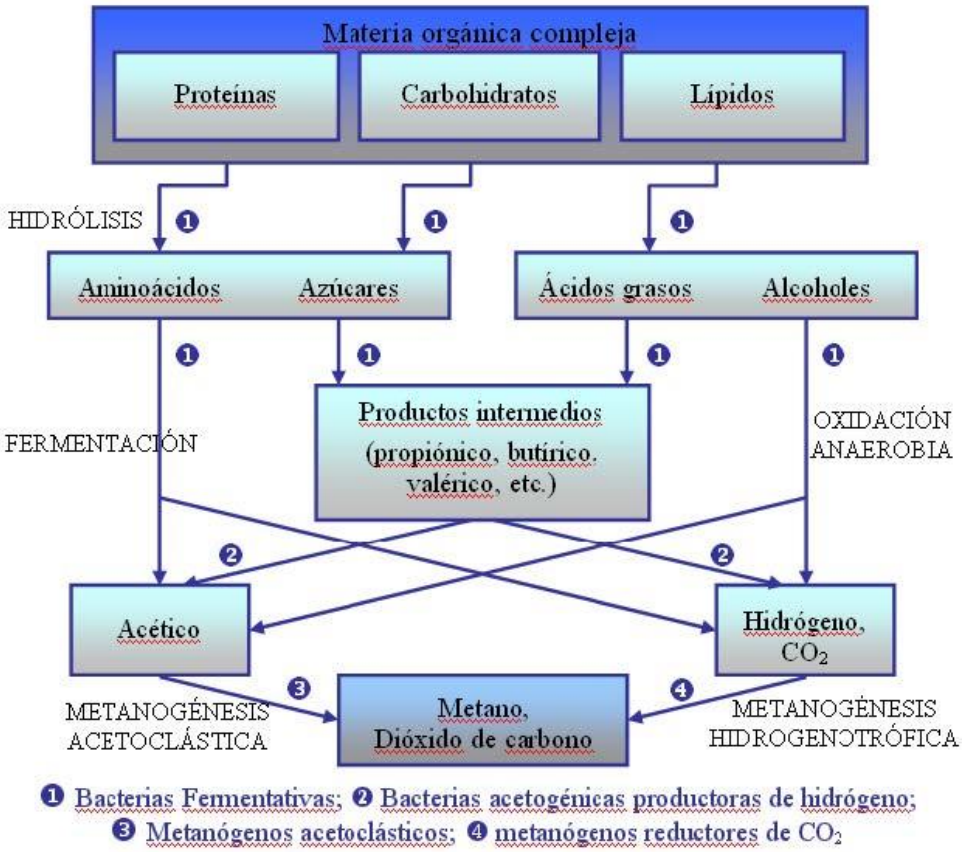

Figura 2.1. Diagrama de los diferentes procesos que componen la DA y microorganismos involucrados (Massé y Droste, 2000).

En la segunda fase del proceso (la fase de acidogénesis) las bacterias acidogénicas transforman la materia orgánica disuelta, originando una gran variedad de productos de fermentación. Los productos finales son principalmente AGV (acetato,

propionato, butirato, sucinato), así como pequeñas cantidades de ácido láctico y etanol, dióxido de carbono e hidrógeno. La cinética del proceso es relativamente rápida y el pH óptimo bajo. Estos procesos son la base energética de las poblaciones no metanogénicas (Cuetos, M.J., 2007). Posteriormente en la etapa de acetogénesis (tercera fase) *los compustos* más reducidos de la fermentación acidogénica son oxidados, bajo condiciones anaerobias, a ácido acético, CO_2 e hidrógeno (H_2), que sirven de sustrato a bacterias metanogénicas. Esta conversión es sólo posible si la presión parcial de H_2 se mantiene en valores bajos, con presiones parciales menores de 10^{-3} atm (Zinder, 1984). Asimismo, se produce también la respiración acetogénica de bicarbonato por bacterias homo-acetogénicas. Estas bacterias catabolizan mezclas de CO_2 e H_2 a compuestos de carbonos múltiples pero se ven limitadas por la competencia por el H_2 por parte de las bacterias metanogénicas.

La metanogénesis es la etapa final del proceso, que implica dos tipos de reacciones: aquellas en las que el CO_2 e H_2 se combinan para producir CH_4 y agua, y las que convierten el acetato en CH_4 y CO_2. Los microorganismos responsables de la primera etapa suelen denominarse utilizadores de hidrógeno o "hidrogenotróficos", mientras que los responsables de la segunda transformación se denominan "acetoclásticos".

2.1.2 Parámetros que intervienen en el proceso de DA

Para el adecuado desarrollo del proceso de DA, es necesario que las velocidades de transformación metabólica estén equilibradas, ya que los productos finales de una etapa son consumidos en la siguiente, dando lugar a una relación simbiótica que estabiliza el proceso. La tolerancia a determinados factores de los diferentes grupos bacterianos implicados es desigual, así las bacterias metanógenas son mucho más sensibles frente a cualquier modificación del medio, por lo que al producirse distorsiones sobre los parámetros de control del sistema sobreviene una acumulación de productos intermedios (en general AGV, AGCL e hidrógeno) que provocan la acidificación del medio y en consecuencia se produce la paralización del proceso global (Romero *et al.*, 2002).

En general, la temperatura, la agitación y el pH del sistema son parámetros asociados al funcionamiento que deben ser controlados para garantizar un proceso estable. Con relación a la proporción de nitrógeno en el sustrato, la DA se caracteriza por los bajos requerimientos de nutrientes, frente a las fermentaciones aerobias, debido básicamente a los bajos índices de producción de biomasa que presenta. Los principales nutrientes son nitrógeno y fósforo (Fernández-Polanco y García, 2000), considerándose que la relación C/N (carbono/nitrógeno) debe oscilar entre 15-35/1 (Hawkes, 1980; Llabrés-Luengo y Mata-Álvarez, 1988).

Por otra parte, el proceso puede verse afectado por la presencia de tóxicos e inhibidores. La magnitud de la toxicidad es función de diversos factores, destacando concentración, antagonismos y sinergismos, formación de complejos y aclimatación (Kugelman y Chin, 1971), por lo que una misma substancia puede considerarse tóxico o sustrato utilizando frecuentemente la concentración como el factor principal para su catalogación. Los compuestos que más frecuentemente causan la inhibición del proceso de DA suelen ser los lípidos y el alto contenido en nitrógeno del sustrato. El este último caso, la alta concentración de nitrógeno afecta el proceso de forma negativa debido a la presencia de este elemento como amoniaco libre derivado de la degradación de proteínas. La tolerancia de los microorganismos depende en buena medida de la adaptación previa a la que hayan sido sometidos, de aquí se deriva el amplio grado de límites inhibitorios para este compuesto. Los límites de tolerancia pueden ser tan bajos como 2 - 3 g/L (Hobson and Shaw, 1976) o tan altos como alcanzar los 6 g/L (Cuetos *et al*., 2011).

Por otra parte los lípidos son el sustrato con mayor potencial de producción de biogás con aproximadamente 1 L CH_4/g VS (Angelidaki *et al*., 2011), pero su presencia en elevadas concentraciones puede provocar el fallo del proceso de digestión debido a la acumulación de AGCL y AGVs. Durante el proceso de hidrólisis, las lipasas extracelulares liberadas por bacterias acidogénicas comienzan la degradación de los lípidos (Masse *et al.*, 2003), pudiéndose generar altas concentraciones transitorias de AGCL. Una acumulación de estas moléculas puede causar la inhibición por su toxicidad para acetógenos y metanógenos (Salminen y Rintala, 2002). Por otro lado, la acumulación de AGCL también puede inhibir la DA como consecuencia de la adsorción de estos compuestos alrededor de las partículas de biomasa (Alves *et al.*, 2001; Masse *et*

al., 2003), afectando a los procesos de transporte por flotabilidad de la biomasa en el reactor (Cirne *et al.*, 2007; Hatamoto *et al.*, 2007) y formación de espumas (Broughton *et al.*, 1998; Salminen *et al.*, 2001).

Por otro lado, los AGVs constituyen una herramienta importante en la monitorización y control de reactores anaerobios, mostrando rápidas respuestas ante variaciones en el sistema, como sobrecargas orgánicas o introducción de tóxicos (Ahring *et al.*, 1995). La acumulación de AGV afecta a varias etapas del proceso de digestión, causando una reducción del biogás producido. Fukuzaki *et al*., (1990) vincula la inhibición de la acetogénesis a la acumulación de propiónico y acético en el reactor, mientras que Barredo y Evison (1991) relacionan la presencia de propiónico a la inhibición de la metanogénesis acetoclástica.

2.1.3 Co-digestión de residuos

Se denomina co-digestión de residuos a la digestión de al menos dos residuos diferentes, denominado generalmente sustrato principal al residuo que se encuentra en mayor proporción, y co-sustrato al que se encuentra en menor cantidad. La co-digestión es una opción interesante para aumentar la producción de biogás de algunos residuos mediante el efecto sinérgico que se establece en el medio (Mata-Alvarez, J., 2002). El incremento en la producción de biogás permite aumentar los ingresos de la planta de biogás, pudiendo ser determinante para la viabilidad económica de plantas que tratan residuos con una bajo potencial de producción de biogás, como es el caso del tratamiento de estiércoles y purines (Angelidaki *et al*., 2011; Asam *et al*., 2011). Además del incremento en la producción de biogás, la co-digestión presenta las siguientes ventajas (Mata-Álvarez *et al*., 2000):

- Dilución de compuestos tóxicos o inhibidores del proceso.
- Incremento de la carga orgánica en el digestor, mejor aprovechamiento de su volumen.
- Aumento de la estabilización del digerido.
- Mayor reducción de emisiones de gases de efecto invernadero a la atmósfera.

- Ahorro por el aprovechamiento de equipo y costes al tratar varios residuos en el mismo lugar.

Sin embargo, la co-digestión también presenta inconvenientes como son el incremento en los costes de transporte, al tener que transportar el co-sustrato al lugar donde se encuentre la planta. Por otra parte la co-digestión puede alterar el comportamiento del digestor y modificar la composición y características del digerido.

2.1.4 Experiencias previas en el uso de la glicerina como co-sustrato

Existen numerosas vías de aprovechamiento de la glicerina residual en las que mediante procesos catalíticos o biológicos se transforma el glicerol en otros compuestos químicos de mayor valor, si bien gran parte de estas técnicas aun necesitan ser mejoradas para que su aplicación en una biorrefinería sea económicamente viable (Johnson y Taconi, 2007). Además de las vías de aprovechamiento que tienen como objetivo la síntesis de compuestos químicos, también existen otras vías destinadas a la valorización energética como es el caso de la DA.

Numerosas experiencias en el uso de la glicerina como único sustrato en digestión muestran problemas de inhibición relacionados con la acumulación de AGVs y la falta de nutrientes, haciendo que el funcionamiento de los reactores sea muy inestable (Hutňan *et al*., 2008; Kolesárová *et al*., 2011). Siles López *et al*. (2009) realizaron ensayos de biodegradabilidad utilizando glicerina residual como único sustrato. En el ensayo se realizó un pre-tratamiento a la glicerina. Una parte fue acidificada con H_3PO_4 y posteriormente centrifugada para eliminar los restos de catalizador (KOH), mientras que otra parte fue acidificada y posteriormente destilada. En los ensayos, realizados en discontinuo y en régimen mesofílico, se emplearon dos tipos diferentes de inóculo, un lodo granular procedente de un digestor de agua de cervecería, y un lodo no granular del digestor de una planta de tratamiento de aguas residuales. Los mejores resultados se obtuvieron para el ensayo de lodo granular con glicerina acidificada. 0,306 m^3 CH_4/kg glicerol. Las cargas orgánicas ensayadas fueron relativamente bajas 0,92 – 2 kg DQO/m^3 d, observándose una disminución de la producción específica de gas con el aumento de la carga orgánica.

También Bodík *et al*. (2008) emplearon glicerina residual como sustrato en sus ensayos en un reactor de 4 L de capacidad que se mantuvo funcionando en régimen mesofílico durante varios meses. De acuerdo con los autores el reactor funcionó de manera estable con una carga orgánica de 4 kg/m^3 d y una producción de biogás de 0,980 m^3/L. El aumento de la carga orgánica del reactor hasta los 8 - 10 kg/m^3 d produjo una gran inestabilidad, observándose una caída de la producción y la acumulación de AGVs.

Otro elemento que puede dar lugar a problemas de inhibición de la actividad microbiana en procesos de DA de glicerol es su salinidad. La glicerina residual contiene elevadas concentraciones de sales de sodio o potasio provenientes del catalizador empleado en la producción de biodiesel. Concentraciones de sodio o potasio elevadas (20 - 100 g/L) pueden afectar considerablemente a la actividad microbiana del reactor (Chen *et al*., 2008). No obstante, si bien tradicionalmente se han considerado que concentraciones de sodio superiores a los 10 g/L inhibían el proceso de DA, numerosos ensayos con diferentes residuos salinos han demostrado que es posible su tratamiento empleando una estrategia adaptación adecuada de los microrganismos (Lefebvre y Moletta, 2006).

Debido a los problemas que plantea la digestión de la glicerina como único sustrato, su co-digestión con otros residuos orgánicos disponibles es una de las vías de valorización energética más atractivas en la actualidad. Existe un gran número de publicaciones sobre la co-digestión de glicerina residual con una amplia variedad de residuos tales como; residuos sólidos urbanos (Fountoulakis y Manios, 2009), lodos de depuradora de aguas residuales urbanas (Fountoulakis *et al.*, 2010), aguas residuales procedentes de la fabricación de biodiesel, (Siles *et al*., 2011, 2010), residuos agro-industriales (Álvarez *et al*., 2010; Fountoulakis y Manios, 2009; Kryvoruchko *et al*., 2004) y ganaderos (Astals *et al*., 2013, 2012; Castrillón *et al*., 2013; Lobato *et al*., 2010; Nuchdang y Phalakornkule, 2012; Robra *et al*., 2010). Si bien los resultados obtenidos varían ampliamente de unos autores a otros, y es difícil establecer comparaciones debido a las diferentes características de los sustratos empleados, todos observaron un incremento de la producción de biogás con la adición de glicerina.

2.2 OBJETIVOS Y PLANIFICACIÓN DEL TRABAJO

2.2.1 Objetivos generales

En este trabajo se estudia la mejora del tratamiento de DA de dos residuos cuyo tratamiento de forma individual es problemática, mediante la co-digestión con residuos procedentes de la industria del biodiesel. De este modo se pretende conseguir un incremento de la producción de biogás hasta niveles que hagan su funcionamiento económicamente viable, al mismo tiempo que se logra mantener unas condiciones en el reactor que permiten su funcionamiento estable. Adicionalmente se pretende valorizar energéticamente dos residuos generados en la producción de biodiesel y cuya gestión supone un coste para dichas plantas, integrando producción de distintos tipos de biocombustibles a partir de la misma materia prima, siguiendo el concepto de biorrefinería.

De manera específica, las actividades desarrolladas en este trabajo pretenden dar respuesta a los siguientes objetivos particulares:

- Estudio del proceso de co-digestión de glicerina residual y purín a distintas concentraciones, a fin de determinar los límites máximos que permiten un funcionamiento estable del reactor.
- Estudio de las características y estabilidad del digerido obtenido en la co-digestión de purín con glicerina y lodo residual.
- Estudio de la viabilidad del empleo del lodo residual obtenido en el pre-tratamiento de aceite de cocina usado como co-sustrato en la digestión de purín.
- Estudio de la co-digestión de glicerina y la fracción orgánica de residuos sólidos urbanos.
- Evaluación general de la aplicación a escala nacional de la co-digestión de estos residuos dentro del marco de objetivos de reducción de emisiones fijados por la Unión Europea, planteando una serie de hipótesis de aplicación del biogás como combustible para el transporte e inyección en la red.

2.2.2 Planificación del trabajo

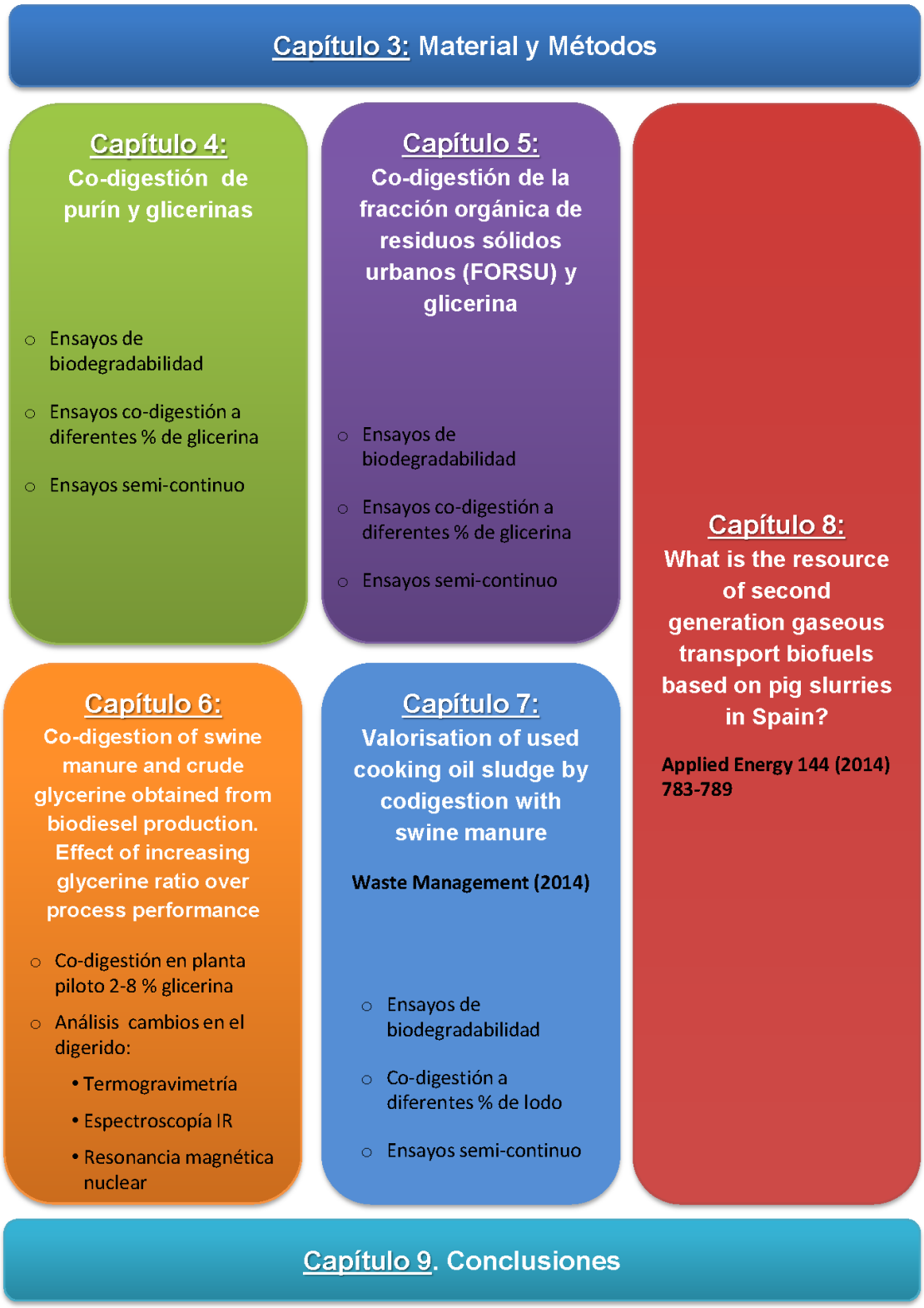

Figura 2.2. Esquema general del desarrollo del trabajo

2.3 BIBLIOGRAFÍA

Ahring, B.K., Sandberg, M., Angelidaki, I., 1995. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. Applied Microbiological and Biotechnology 43, 559 - 565.

Álvarez, J.A., Otero, L., Lema, J.M., 2010. A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. Bioresour. Technol. 101, 1153–1158. doi:10.1016/j.biortech.2009.09.061

Alves, M.M., Mota, J.A., Álvares, R.M., Pereira, M.A., Mota, M., 2001. Effects of lipids and oleic acid in biomass development in anaerobic fixed-bed reactors. Part II: Oleic acid toxicity and biodegradability. Water Research 35, 264 - 270.

Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D.J., Plugge, C.M., Stams, A.J.M., 2011. Biomethanation and its potential. Methods Enzymol. 494, 327–351. doi:10.1016/B978-0-12-385112-3.00016-0

Asam, Z.-Z., Poulsen, T.G., Nizami, A.-S., Rafique, R., Kiely, G., Murphy, J.D., 2011. How can we improve biomethane production per unit of feedstock in biogas plants? Appl. Energy 88, 2013–2018. doi:10.1016/j.apenergy.2010.12.036

Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., Mata-Alvarez, J., 2012. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. Bioresour. Technol. 110.

Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., Mata-Alvarez, J., 2013. Thermophilic co-digestion of pig manure and crude glycerol: Process performance and digestate stability. J. Biotechnol. 166, 97–104. doi:10.1016/j.jbiotec.2013.05.004

Barredo, M.S., Evison, L.M., 1991. Effect of propionate toxicity on methanogen-enriched sludge, Methanobrevibacter smithii, and Methanospirillum hungatii at different pH values. Applied and Environmental Microbiology 56, 1764 - 1769.

Bodík, I., Hutňan, M., Petheöová, T., Kalina, A., 2008. Anaerobic treatment of biodiesel production wastes, in: Proceedings of the Book of Lectures on 5th International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes and Energy Crops.

Broughton, M.J., Thiele, J.H., Birch, E.J., Cohen, A., 1998. Anaerobic batch digestion of sheep tallow. Water Research 5, 1423 - 1428.

Castrillón, L., Fernández-Nava, Y., Ormaechea, P., Marañón, E., 2013. Methane production from cattle manure supplemented with crude glycerin from the biodiesel industry in CSTR and IBR. Bioresour. Technol. 127, 312–317. doi:10.1016/j.biortech.2012.09.080

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Bioresour. Technol. 99, 4044–4064. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057

Cirne, D.G., Pauloumet, X., Björnsson, L., Alves, M.M., Mattiasson, B., 2007. Anaerobic digestion of lipid-rich waste: Effects of lipid concentration. Renewable Energy 32, 965 - 975.

Cuetos, M.J., 2007. Digestión y co-digestión anaerobia de residuos de matadero avícola: Control del proceso y evaluación del grado de estabilización. Universidad de León, León.

Cuetos, M.J., Fernández, C., Gómez, X., Morán, A., 2011. Anaerobic co-digestion of swine manure with energy crop residues. Biotechnol. Bioprocess Eng. 16, 1044–1052.

Fermor, T.R., 1993. Applied aspects of composting and bioconversion of lignocellulosic materials: an overview. International Biodetermination and Biodegradation 31, 87 - 106.

Fernández-Polanco, F., García, A., 2000. Procesos biológicos anaerobios. Jornadas sobre tratamientos biológicos de residuos orgánicos. Ingeniería Química, Universidad de Valladolid.

Fountoulakis, M.S., Manios, T., 2009. Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. Bioresour. Technol. 100, 3043–3047. doi:10.1016/j.biortech.2009.01.016

Fountoulakis, M.S., Petousi, I., Manios, T., 2010. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. Waste Manag. 30, 1849–1853. doi:10.1016/j.wasman.2010.04.011

Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M., Nagai, S., 1990. Inhibition of fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate, and propionate. Applied and Environmental Microbiology 56, 716 - 723.

Hatamoto, M., Imachi, H., Yashiro, Y., Ohashi, A., Harada, H., 2007. Diversity of anaerobic microorganisms involved in long-chain fatty acids degradation in methanogenic sludges revealed by RNA-based stable isotope probing. Applied and Environmental Microbiology 73, 4119 - 4127.

Hawkes, D.L., 1980. Factors affecting net energy production from mesophilic anaerobic digestion. Anaerobic Digestion, eds D.A. Stratford, B.I. Wheatley and D.E. Hughes, 131 - 50.

Hobson, P.N., Shaw, B.G., 1976. Inhibition of methane production by Methanobacterium formicicum. Water Res. 10, 849–852. doi:10.1016/0043-1354(76)90018-X

Hutňan, M., Kolesárová, N., Bodík, I., Špalková, V., Lazor, M., 2008. Possibilities of anaerobic treatment of crude glycerol from biodiesel production, in: Proceedings of 36th International Conference of Slovak Society of Chemical Engineering.

Jiménez, S., Cartagena, M.C., Arce, A., 1990. Influence of lignin on the methanization of lignocellulosic wastes. Biomass 21, 43 - 45.

Johnson, D.T., Taconi, K.A., 2007. The glycerin glut: Options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. Environ. Prog. 26, 338–348.

Kolesárová, Nina, Huntnan, Miroslav, Bodík, Igor, Spalková, Viera, 2011. Utilization of Biodiesel By-Products for Biogas Production. BioMed Res. Int. 2011. doi:10.1155/2011/126798

Kryvoruchko, V., Amon, T., Amon, B., Gruber, L., Schreiner, M., Zolitsch, W., 2004. Influence of nutrient composition on methane production from animal manures and co-digestion with maize and glycerine, in: International Scientific Conference Bioecotechnologies and Biofuel in Agroindustry. National Agrarian University of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

Kugelman, I.J., Chin, K.K., 1971. Toxicity synergism, and antagonism in anaerobic waste treatment processes. Anaerobic biological treatment processes. Advances in chemistry series, 105. American Chemical Society. Washington D.C.

Lefebvre, O., Moletta, R., 2006. Treatment of organic pollution in industrial saline wastewater: A literature review. Water Res. 40, 3671–3682.

Llabrés-Luengo, P., Mata-Álvarez, J., 1988. Influence of temperature, buffer, composition and straw particle length on the anaerobic digestion of wheat straw-pig manure mixtures. Resources, Conservation and Recycling. 1 - 1, 27 - 37.

Lobato, A., Cuetos, M.J., Gómez, X., Morán, A., 2010. Improvement of biogas production by co-digestion of swine manure and residual glycerine. Biofuels 1, 59–68.

Massé, D.I., Droste, R.L., 2000. Comprehensive model of anaerobic digestion of swine manure slurry in a sequencing batch reactor. Water Research 34, 3087 - 3106.

Masse, L., Massé, D.I., Kennedy, K.J., 2003. Effect of hydrolysis pretreatment on fat degradation during anaerobic digestion of slaughterhouse wastewater. Process Biochemistry 38, 1365 - 1372.

Mata-Alvarez, J., 2002. Fundamentals of the anaerobic digestion process, in: Mata-Alvarez, J. (Ed.), Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes. IWA, pp. 1–20.

Mata-Alvarez, J., Macé, S., Llabrés, P., 2000. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. Bioresour. Technol. 74, 3–16.

Nuchdang, S., Phalakornkule, C., 2012. Anaerobic digestion of glycerol and co-digestion of glycerol and pig manure. J. Environ. Manage. 101, 164–172.

Pavlostathis, S.G., Giraldo-Gómez E., 1991. Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. Critical Reviews in Environmental Control 21, 411 - 490.

Robra, S., Serpa da Cruz, R., de Oliveira, A.M., Neto, J.A.A., Santos, J.V., 2010. Generation of biogas using crude glycerin from biodiesel production as a supplement to cattle slurry. Biomass Bioenergy 34, 1330–1335.

Romero, L.I., de la Rubia, M.A., Pérez, M., Sales, D., 2002. Digestión anaerobia termofílica de lodos de EDAR. Retema 90, 8 - 22.

Salminen, E.A., Einola, J., Rintala, J.A., 2001. Characterisation and anaerobic batch degradation of materials accumulating in anaerobic digesters treating poultry slaughterhouse waste. Environmental Technology 22, 577 - 585.

Salminen, E.A., Rintala, J.A., 2002. Anaerobic digestion of organic solid poultry slaughterhouse waste: a review. Bioresource Technology 83, 13 - 26.

Siles López, J.Á., Martín Santos, M. de los Á., Chica Pérez, A.F., Martín Martín, A., 2009. Anaerobic digestion of glycerol derived from biodiesel manufacturing. Bioresour. Technol. 100, 5609–5615. doi:10.1016/j.biortech.2009.06.017

Tong, X., Smith, L.H., McCarty, P.L., 1990. Methane fermentation of selected lignocellulosic materials. Biomass 21, 239 - 255.

Vavilin, V.A., Rytov, S.V., Lokshina, L.Y. Rintala, J.A., Liveratos, G., 2001. Simplified hydrolysis models for the optimal desing of two-stage anaerobic digestion. Water Research 35, 4247 - 4251.

Zinder, S.H., 1984. Microbiology of anaerobic conversion of organic wastes to methane: recent developments. ASM News 50, 294 - 298.

Capítulo 3

MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 MATERIALES EMPLEADOS

3.1.1 Características del inóculo utilizado

A excepción de los ensayos incluidos en el capítulo 5, el inóculo empleado en todos los ensayos se obtuvo del digestor anaerobio de la Estación Depuradora de Aguas Residuales (EDAR) de León. Esta instalación trata un caudal promedio de 4 460 m^3/h de aguas residuales, dando servicio a aproximadamente 185 000 habitantes de León, su alfoz, y el área industrial, depurando en total el agua residual de 300 000 habitantes equivalentes (SALEAL, 2014).

El lodo empleado como inóculo se toma del tanque de espesado de fangos digeridos con que cuenta la planta. El contenido en sólidos promedio de este digerido oscila entre el 1.5 - 5% de sólidos totales (ST), y un contenido en sólidos volátiles (SV) de aproximadamente el 70% de los ST. El contenido en sólidos del inóculo empleado en el arranque de los reactores puede ser mayor al haber sido espesado por decantación del mismo.

Como excepción, en los ensayos realizados con FORSU como sustrato se utilizó como inóculo digerido procedente del propio digestor existente en el centro de tratamiento de residuos (CTR), a fin de emplear un inóculo mejor adaptado a las características del sustrato. La caracterización de dicho inóculo se incluye en el apartado correspondiente a Material y Métodos del capítulo 5.

Los resultados de la caracterización química del inóculo empleado se recogen en la Tabla 3.1. Cabe destacar que el contenido en metales pesados y micro-elementos del lodo se encuentra dentro de los límites fijados por la Directiva 86/278/CE[1] y el RD 1310/90[2] para su aplicación agrícola.

[1] Directiva 86/278/CEE del Consejo de 12 de junio de 1986 relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos, en la utilización de los lodos de depuradora en agricultura

[2] Real Decreto 1310/1990, de 29 de octubre, por el que se regula la utilización de los lodos de depuración en el sector agrario

Tabla 3.1. Características químicas del lodo digerido utilizado como inóculo.

Parámetros	***Lodo digerido EDAR(*)***
Materia orgánica (%)	31,3 ± 3,1
Nitrógeno total (%)	4,2 ± 0,5
Relación C/N	4,4 ± 0,4
Fósforo total (%)	1,8 ± 0,2
Calcio (%)	3,3 ± 0,4
Magnesio (%)	0,5 ± 0,1
Potasio (%)	0,8 ± 0,1
Sodio (mg/kg)	856 ± 77
Hierro (mg/kg)	22 ± 1
Manganeso (mg/kg)	381 ± 32
Cinc (mg/kg)	895 ± 71
Cobre (mg/kg)	181 ± 15
Boro (mg/kg)	75 ± 7
Mercurio (mg/kg)	1,5 ± 0,1
Plomo (mg/kg)	81 ± 7
Níquel (mg/kg)	30 ± 4
Cadmio (mg/kg)	0,9 ± 0,1
Cromo (mg/kg)	91 ± 10

(*) Valores expresados en base seca

3.1.2 Características de los sustratos empleados

3.1.2.1 Purín

El purín de cerdo fue el sustrato principal utilizado en todos los ensayos a excepción de los realizados en el capítulo 5. Este residuo fue obtenido de dos explotaciones porcinas diferentes, y estaba compuesto por deyecciones, restos de alimentos y agua en proporciones variables, por lo que la caracterización fue realizada en cada caso particular, observando ligeras variaciones en cada lote utilizado.

3.1.2.2 Residuos generados en la producción de biodiesel

Dos tipos de residuo generados en la producción de biodiesel fueron utilizados como co-sustrato en el presente trabajo: glicerina y lodo (ver Figura 3.1).

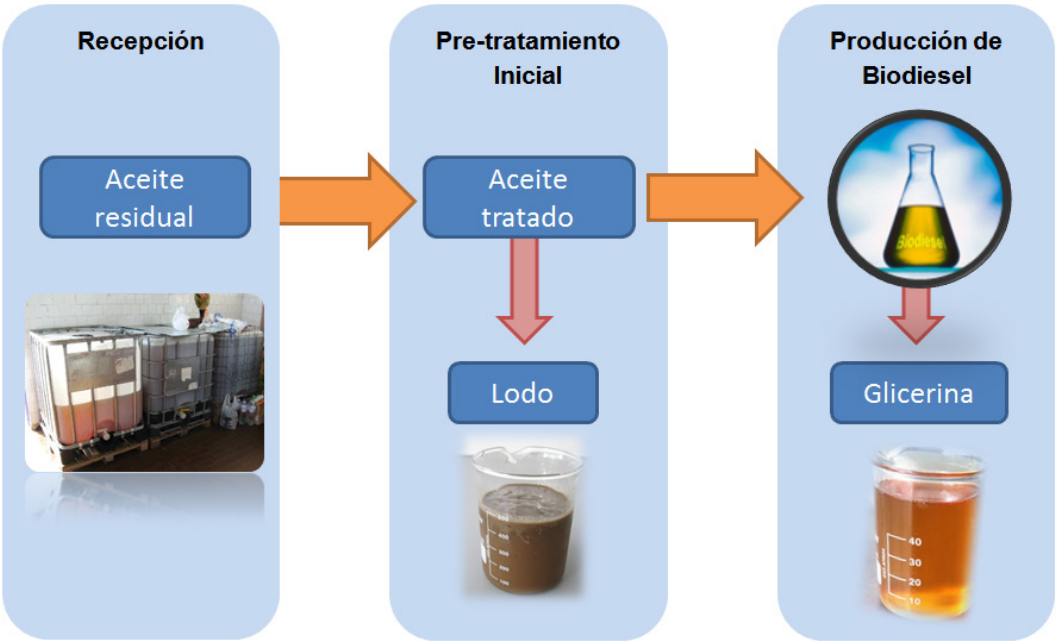

Figura 3.1. Esquema del proceso de obtención de los residuos de la industria del biodiesel

Glicerina residual

En los ensayos se utilizaron dos glicerinas procedentes de dos plantas distintas. Por una parte se utilizó glicerina procedente de la planta Biocyl, la cual produce biodiesel a partir de aceites de cocina usados. Esta glicerina presenta un menor contenido en glicerol y una mayor cantidad de impurezas, puesto que es la glicerina bruta que se obtiene del proceso sin someterla a ningún proceso de refinado.

La segunda glicerina utilizada se obtuvo de la planta Abengoa San Roque, la cual utiliza aceites vegetales (soja, colza y palma). Esta glicerina en cambio ha sido refinada, presentando un mayor contenido en glicerol y menor cantidad de impurezas. Visualmente puede observarse la diferencia entre ambas glicerinas en la Figura 3.2. Dado que la glicerina se obtuvo en varios lotes, a medida que fue necesaria para la realización de los ensayos, su caracterización detallada se incluye en cada capítulo.

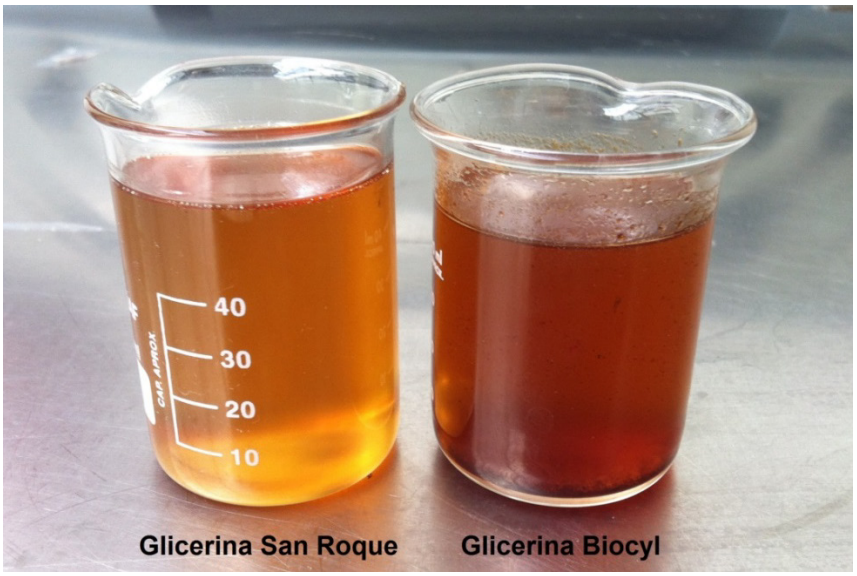

Figura 3.2. Imagen de las dos glicerinas empleadas en los ensayos de co-digestión

Lodo de aceite residual

El segundo residuo utilizado es un lodo generado durante el pre-tratamiento del aceite residual empleado en la planta de biodiesel Biocyl. Cuando el aceite de cocina usado llega a la planta es sometido a un proceso de filtrado y centrifugado para eliminar las partículas que contiene el aceite. El material obtenido en este proceso de filtrado es un lodo con un elevado contenido en sólidos (aproximadamente un 60%), que está compuesto por aceite, restos de comida, y agua.

En la actualidad este residuo debe ser recogido periódicamente por un gestor para su tratamiento, generando un coste importante para la planta. Al mismo tiempo es un residuo con un elevado potencial de producción de biogás, por estar compuesto esencialmente por restos de comida y aceite. La Figura 3.3 muestra la apariencia del lodo utilizado.

Figura 3.3. Fotografía del lodo obtenido en el pre-tratamiento del aceite

3.1.2.3 Fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU)

Este sustrato se obtiene tras separar mediante medios mecánicos la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos. Para los ensayos realizados dentro del capítulo 5, se utilizó FORSU procedente del centro de tratamiento de residuos (CTR) de San Román de la Vega, el cual gestiona los residuos generados en toda la provincia de León (aproximadamente 195 000 t/año).

La línea de valorización de la fracción orgánica consiste en su digestión, a fin de utilizar el biogás generado en un motor de co-generación y el posterior compostaje del digerido generado con vistas a su aplicación agrícola. La caracterización del FORSU utilizado en los ensayos se recoge en el capítulo 5.

3.1.3 Descripción de los sistemas de digestión utilizados

3.1.3.1 Reactores empleados en ensayos en régimen discontinuo.

Los ensayos en régimen discontinuo se realizaron utilizando como reactores matraces erlenmeyer de 250, 500 o 1 000 mL, los cuales se llenan una única vez con una cantidad determinada de residuo fresco e inóculo, para evaluar su total degradación. Para mantener constante la temperatura de digestión los matraces erlenmeyer se sitúan en un baño termostatizado modelo Selecta Digiterm 100, el cual cuenta con una placa

de agitación IKA® RO15 en su parte inferior para garantizar la correcta mezcla de sustrato e inóculo.

Debido al bajo volumen de muestra empleado y a la baja producción de biogás es necesario montar dos réplicas para cada muestra. También se realiza el montaje de un reactor con la misma cantidad de inóculo que en los demás montajes, a fin de determinar su producción de biogás y sustraerla del volumen producido por las muestras. El volumen de biogás generado se mide mediante el desplazamiento de una solución salina de los medidores conectados a los matraces Erlenmeyer.

Figura 3.4. Ensayos en régimen discontinuo

3.1.3.2 Planta piloto de reactores de mezcla completa de 3 L

La planta semi-piloto utilizada está constituida por cinco reactores de mezcla completa de 3 L de capacidad cada uno, agitados mecánicamente y termostatizados. Cada reactor está provisto de agitadores de tipo RZR1 de la casa Heidolph y constan de un dispositivo para la regulación de la velocidad de agitación. Los reactores son de metacrilato transparente de 5 mm de espesor montados sobre una estructura

autoportante de acero inoxidable. Están provistos de un encamisado exterior por el que circula agua de calefacción que permite mantener el sistema a una temperatura controlada. El sistema de calefacción dispone de un depósito de 60 L en el que el agua es calentada con una resistencia eléctrica de 2,5 kW de potencia. La temperatura en el depósito se mide con una sonda Pt-100 y se regula mediante un controlador digital PID. El agua de calefacción es permanentemente bombeada hacia las camisas con una bomba centrífuga EBAR modelo JESX de 0,37 kW de potencia y desde éstas vuelve al depósito.

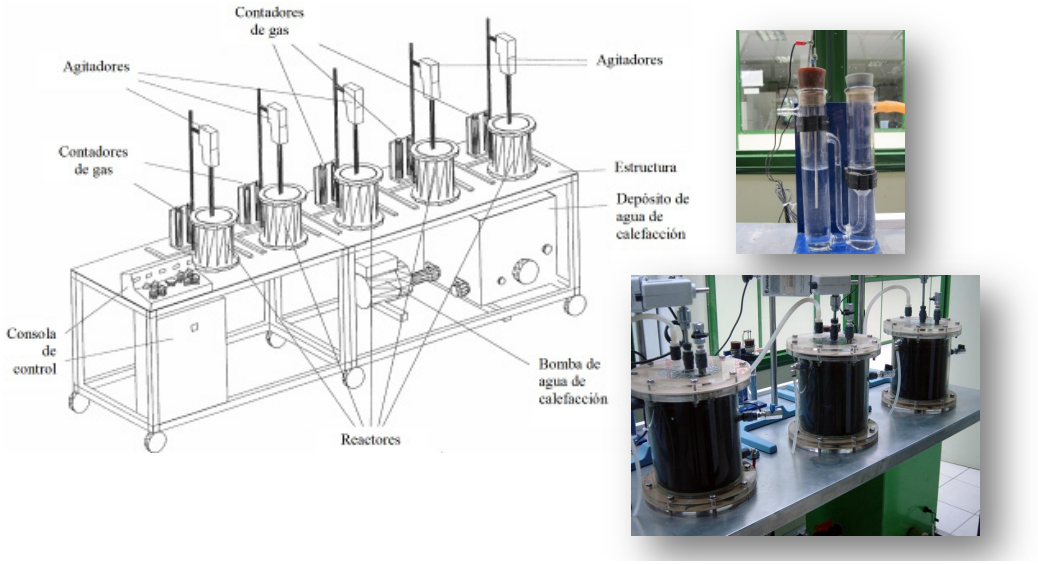

Figura 3.5. Esquema de la planta semi-piloto de reactores de mezcla completa de 3L (a). Detalle de los contadores de gas (b) y reactores (c).

Los reactores cuentan con una toma de fondo, otra superior por donde entra la corriente de alimentación, y una toma lateral para la salida del efluente digerido. También en la parte superior cuenta con una abertura para la salida del biogás generado hacia los contadores. Cuando las características de los sustratos lo permiten, alimentación y efluente son bombeadas mediante bombas peristálticas modelo Dosiper C1R equipadas con programadores. El gas producido en cada reactor es conducido desde la salida superior al contador de gas. La medición del volumen de biogás se realiza mediante medidores de desplazamiento de agua de volumen reversible asociados a contadores de contacto húmedo que registran el conteo en la consola de control.

A fin de impedir la formación de una capa en la parte superior del digestor, o de depósitos en el fondo del reactor, se han empleado agitadores con un doble sistema de palas agitadoras (ver Figura 3.6). De este modo se crea un doble vórtice que arrastra el material de la parte superior del reactor hacia el fondo, mientras que el de la parte inferior asciende. Se logra de esta manera que el efluente extraído del digestor sea homogéneo y se impide la acumulación de sólidos y la obstrucción de las tomas de muestra.

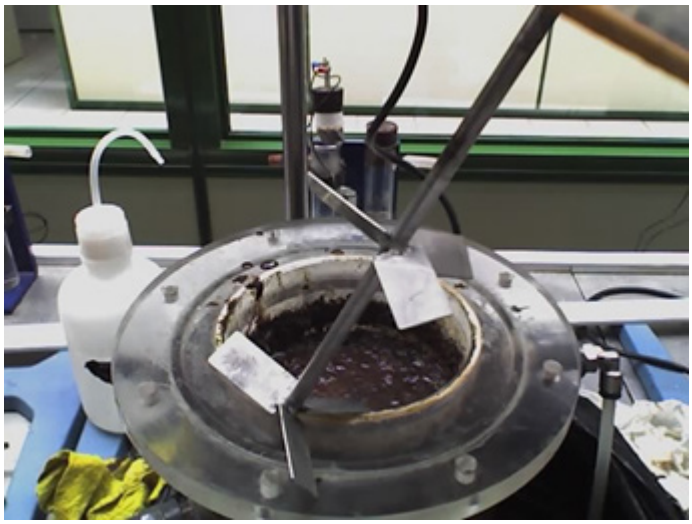

Figura 3.6. Agitador con doble sistema de palas agitadoras

3.1.3.3 Planta piloto Bioprocess

La planta piloto descrita a continuación fue inicialmente diseñada para la producción de biogás mediante DA en fase oscura y en doble etapa, a partir de residuos orgánicos. Dicha planta consta de tres reactores de acero tipo SS316 L:

El primer reactor (R1) es utilizado para almacenar la alimentación y consiste en un tanque agitado y encamisado de 20 L. Un circuito externo de refrigeración tipo HIROSS ICE-005 STD de 2,98 kW (10 730 kJ/h) permite mantenerlo a baja temperatura (en torno a 7 ºC) para reducir la velocidad de degradación biológica del residuo almacenado.

El segundo reactor (R2) es un tanque de mezcla completa de 5 L con agitación mecánica y termostatizado, donde tiene lugar la primera etapa de fermentación cuando se realiza el proceso en dos etapas. Un circuito externo de calefacción/enfriamiento permite regular la temperatura de operación del reactor. El control de temperatura está gestionado por un controlador digital instalado en el cuadro de control (EUROTHERM 3208) que permite la entrada de agua fría de red o la entrada de agua caliente (procedente de un calentador SIEMENS) al circuito de recirculación de agua de la camisa del reactor. Los gases generados en esta primera etapa de fermentación son medidos mediante un caudalímetro de impulsos. El control del pH consta de un electrodo con membrana de vidrio y gel resistente a altas temperaturas (JUMO tecLine for HT). El control de pH está gestionado por un controlador instalado en el cuadro de control (JUMO dTrans pH01) que acciona una bomba peristáltica (Watson-Marlow 101U/R) para la dosificación de solución ácida/alcalina.

El tercer reactor de la planta (R3) es un reactor de mezcla completa de 30 L con agitación mecánica y termostatizado, donde tiene lugar la segunda etapa de digestión. Un circuito externo de calefacción/enfriamiento, independiente pero análogo al del reactor 2, permite regular la temperatura de operación del reactor. Los gases generados en esta etapa son también medidos mediante un segundo caudalímetro de impulsos.

La temperatura interna de los tres reactores es medida mediante una termoresistencia tipo Pt-100. La agitación es controlada mediante un variador de frecuencia instalado en el cuadro de control. Un cuadro eléctrico de control y un ordenador personal donde está instalado un software específico (Labview), permiten el control y la adquisición de datos del proceso.

Los tres reactores están instalados en serie. El trasvase de fluido de un reactor al siguiente es realizado mediante un sistema de inyección que consta de una válvula neumática de 3 vías, una jeringa de acero inoxidable de volumen variable (volumen máximo 7,5 mL), una rótula de interconexión entre el vástago de la jeringa y el cilindro y un cilindro neumático para el accionamiento del vástago de la jeringa. Existen tres sistemas de inyección diferentes:

- *Inyector 1* → aspira fluido del reactor 1 y lo descarga en el reactor 2.
- *Inyector 2* → aspira fluido del reactor 2 y lo descarga en el reactor 3.

- *Inyector 3* → aspira fluido del reactor 3 y lo descarga al exterior.

La planta también tiene un sistema de bypass que permite trabajar utilizando únicamente el tanque de alimentación (R1) y el reactor de 30 L (R3). Esta fue la configuración empleada en los ensayos de digestión en los que se utilizó esta planta piloto. La Figura 3.7 muestra un esquema de la planta piloto descrita.

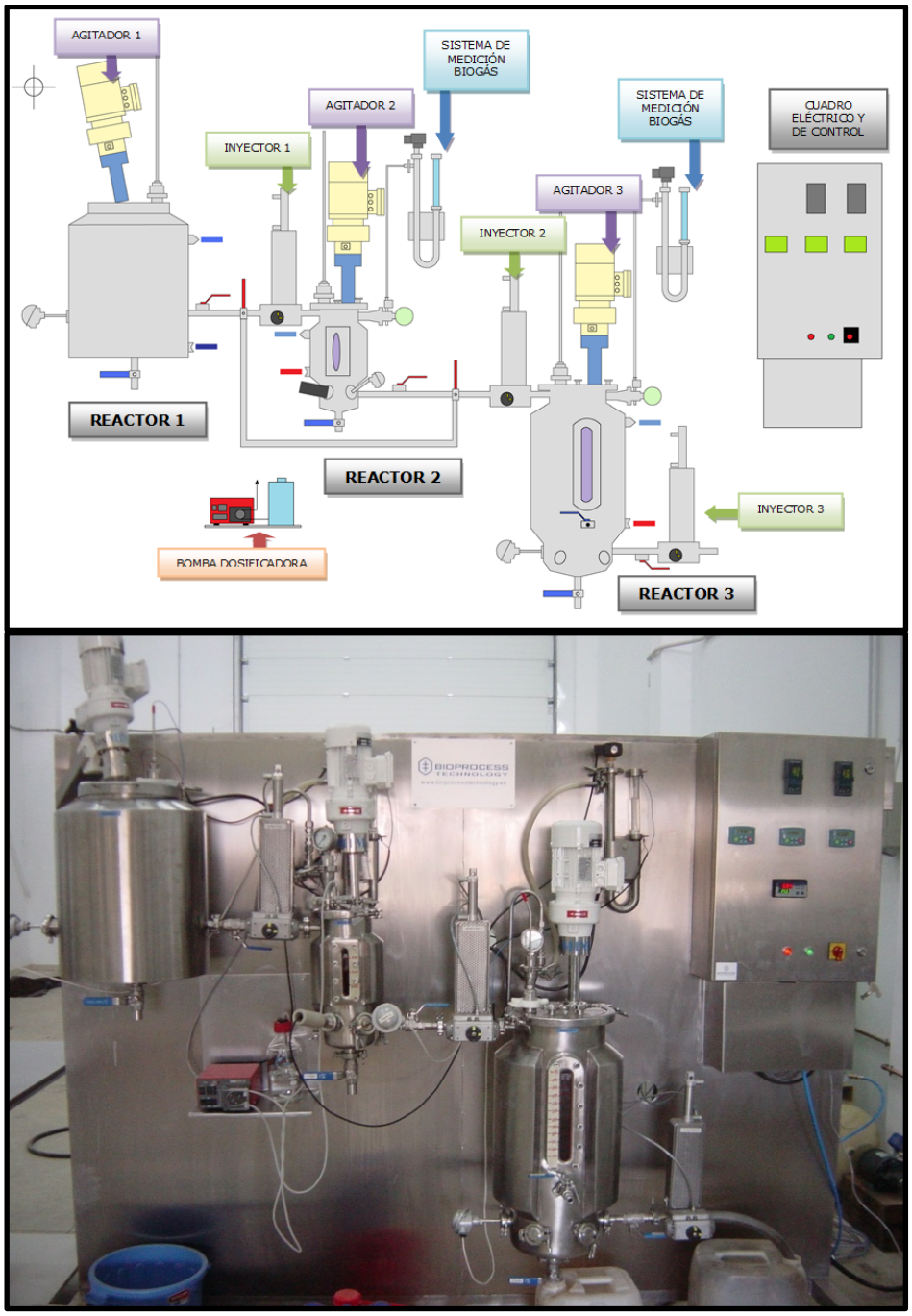

Figura 3.7. Esquema y fotografía de la planta piloto Bioprocess

3.2 ANÁLISIS RUTINARIOS

El seguimiento del proceso de DA en los diferentes ensayos se llevó a cabo mediante una serie de análisis realizados periódicamente tanto sobre el digerido como sobre la alimentación: pH, sólidos totales (ST) y volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), alcalinidad, amonio, producción y composición del biogás, y concentración de ácidos grasos volátiles (AGV). Todos estos parámetros fueron medidos dos veces por semana, a excepción de la producción de biogás, que fue medida diariamente. Las determinaciones de ST, SV, DQO, alcalinidad, y amonio se realizaron de acuerdo con lo indicado en APHA, (2005).

3.2.1 Contenido en sólidos totales y volátiles

Para determinar los sólidos totales fueron tomados 10 mL de muestra homogeneizada y dispuestos en un crisol tarado previamente (P_0), a continuación fueron llevados a una estufa Memmert a 105 ºC hasta evaporación total durante 24 horas. Después de enfriar la muestra en el desecador fue pesada hasta peso constante. Para determinar la cantidad sólidos totales volátiles, los crisoles fueron colocados en una mufla Hobersal 12 PR/300 8B para calcinación de las muestras durante 60 min a 550 ºC.

3.2.2 Alcalinidad

Se toman 5 mL de la muestra homogeneizada, previamente centrifugada 5 minutos a 5 100 rpm y se diluye a 50 mL con agua destilada, se valora la muestra con HCl 0,2 N hasta pH 5,7 y 4,3 para obtener la alcalinidad parcial (AP) y total (AT) respectivamente. La titulación se realizó mediante un valorador automático (Metrohm 862 compact titrosampler).

El ratio de alcalinidad RA se calculó mediante la relación entre la relación entre la alcalinidad intermedia (AI) y la alcalinidad parcial, determinada a pH 5,7. Se considera que el proceso de digestión es estable cuando el valor RA es inferior a 0,4 (Ferrer *et al*., 2010).

$$RA = \frac{AI}{AP} = \frac{AT - AP}{AP}$$

3.2.3 pH

Las medidas de pH se realizaron de manera directa empleando un medidor de pH Crison GLP22

3.2.4 Amonio

El amonio se midió mediante el método del electrodo selectivo, empleando un medidor de pH Methron 781 equipado con un electrodo selectivo para el ion amonio (No133/1e). Como paso previo a la medición en el equipo, las muestras fueron centrifugadas durante 5 minutos a 5 100 rpm.

La concentración de amoniaco se calcula a partir del equilibrio amonio-amoniaco:

$$NH_4^+ \overset{K_a}{\longleftrightarrow} NH_3 + H^+$$

En este trabajo se considera como amoniaco total a la suma ambas especies (NH_4^+ y NH_3), calculando la concentración de amoniaco libre (NH_3) mediante las ecuaciones propuestas por Calli *et al*., 2005 y Hansen *et al*., 1998.

$$A.Libre = \frac{A.Total}{1 + 10^{pK_a - pH}}$$

$$pK_a = 0{,}09018 + \frac{2\,729{,}92}{T + 273{,}15}$$

Donde, pK_a es la constante de disociación para el ion amonio y T la temperatura en ºC, (pK_a tiene un valor de 8,95 a 35 ºC).

3.2.5 DQO

La determinación de la DQO de la muestra se realizó mediante su digestión en presencia de dicromato potásico ($K_2Cr_2O_7$) a 150 ºC durante 2 h en un reactor Hanna C9800. Los compuestos orgánicos oxidables se reducen de ion dicromato (naranja) al ion crómico (verde). Al igual que en el caso de la alcalinidad, se valora la muestra mediante el empleo de un valorador automático (862 compact titrosampler Metrohm ion analysis).

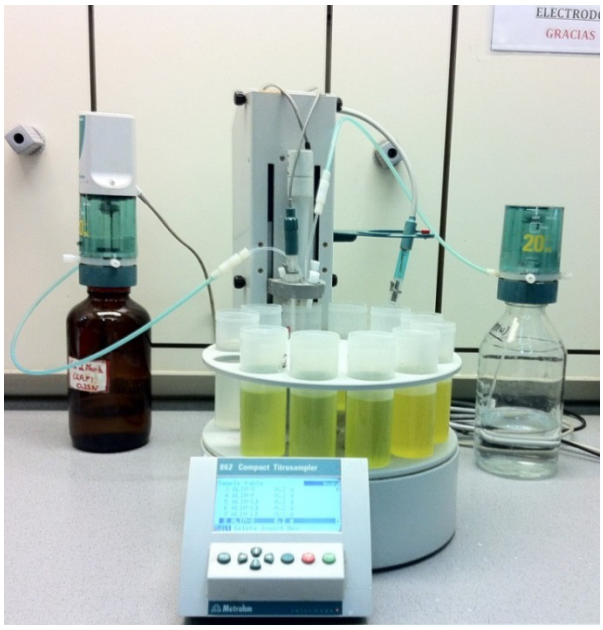

Figura 3.8. Equipo de titulación empleado en la determinación de alcalinidad y DQO.

3.2.6 Composición del biogás

La composición del gas obtenido de los digestores anaerobios se midió mediante cromatografía de gases (GC) empleando dos cromatógrafos: por un lado un modelo Varian CP-3800 GC, equipado con un detector de conductividad térmica (TCD) se utilizó para determinar el contenido en H_2, CH_4, CO_2, N_2 y O_2. El cromatógrafo cuenta con una columna HayeSep Q 80/100 de 4 m de longitud, seguida de una columna de tamiz molecular Molecular Sieve (1,0 m x 1/8’’x 2,0 m). El gas portador fue helio y se operó a 331 kPa y a una temperatura de 50ºC.

Para la determinar el contenido en H_2S en el biogás se utilizó un cromatógrafo Varian CP-3800 GC equipado con un detector fotométrico de llama pulsada (PFPD). La columna utilizada fue una columna capilar de 60 m de longitud FA-II Fused silica de Varian. El gas portador fue helio y las temperaturas del inyector y del detector fueron de 220 y 300 ºC, respectivamente.

3.2.7 Contenido en ácidos grasos volátiles (AGV)

Los ácidos grasos volátiles (AGV) fueron determinados en el mismo cromatógrafo de gases, empleando un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar Nukol (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) de Supelco. El gas portador empleado fue helio. Las temperaturas del inyector y del detector fueron de 220 y 250ºC respectivamente. La temperatura del horno se mantuvo a 150ºC durante 3 min y después fue incrementada a 180ºC. El límite de detección para el análisis de los AGV fue de 5,0 mg/L. El sistema se calibró con una mezcla de ácidos volátiles estándar de Supelco (para análisis de los ácidos grasos C2 - C7), empleando fenol 10 mM como patrón interno. Las muestras previamente fueron centrifugadas (10 min, 3 500 x g) y el sobrenadante filtrado con filtros de celulosa de 0,45 µm.

3.2.8 Contenido en ácidos grasos de cadena larga (AGCL)

Para la determinación de los AGCL las muestras fueron preparadas siguiendo la metodología descrita por Fernández *et al*. (2005). Se tomaron 5 mL de n-heptano a los cuales se añadió la misma cantidad de muestra homogénea. La mezcla fue primero mezclada en un vortex durante 30 min para favorecer la extracción de los AGCL. Posteriormente se centrifugó la muestra, tomando a continuación la fase correspondiente a la extracción de los ácidos grasos, la cual fue filtrada mediante filtrada empleando filtros de celulosa de 0,2 µm. A continuación 0,8 mL de la muestra filtrada se añadieron a un vial junto con 0,2 mL de ácido pentadecanoico, empleado como patrón interno.

La determinación de AGCL se realizó en un cromatógrafo Perkin-Elmer AutoSystem XL equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna de Polyethylene Glycol (15 m × 0,53 mm × 0,5 µm). El gas portador empleado fue helio. Las temperaturas del inyector y detector fueron fijadas en 250 ºC y 275 ºC respectivamente. La temperatura inicial del horno, de 100 ºC, fue mantenida durante 1 min, y posteriormente fue aumentada hasta los 250 ºC a razón de 5 ºC/min.

La calibración del cromatógrafo se realizó utilizando un mix de AGCL realizado a partir de ácidos individuales con numero par de carbonos (C6:C24) de la casa Sigma.

A fin de determinar la eficacia de la extracción se realizaron blancos empleando inóculo y purín, y cantidades conocidas de AGCL. El límite de detección para el análisis de AGCL fue de 5 mg/L

3.2.9 Análisis realizados sobre la glicerina residual

3.2.9.1 Contenido en glicerol

El contenido en glicerol se determinó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, high-performance liquid chromatography), empleando un cromatógrafo Alliance 2690 de Waters equipado con un sistema de inyección de muestra y de impulsión de la fase móvil y con un detector de índice de refracción 2414 de Waters. La columna utilizada fue PL Hi-Plex H 8μm, suministrada por Varian, de 300 mm de longitud y 7,7 mm de diámetro. También fue utilizada una pre-columna PL Hi-Plex H Guard, suministrado por Varian, de 50 mm de longitud y 7,7 mm de diámetro. Ambas formadas a base de resina monodispersa para análisis de carbohidratos (relleno monodisperso de estireno sulfonado y copolímero divinilbenzeno de tamaño de partícula 8 μm).

La fase móvil consistió en una mezcla formada por 50% de fase A y 50% de fase B, siendo la fase A H_2SO_4 en agua en concentración 0,01M, y la fase B agua. El flujo de la fase móvil fue 0,4 mL/min. La columna fue termostatizada a 60 ºC y el carro con las muestras a 4 ºC. El detector fue utilizado en el modo 410 con un valor de sensibilidad de 4 a una temperatura de 40 ºC. El volumen de inyección fue 10 μL. Las muestras previamente fueron centrifugadas (20 min, 7 800 rpm) y el sobrenadante filtrado con filtros de celulosa de 0,2 μm. El sistema fue calibrado mediante el método del patrón externo construyendo una curva de calibrado inyectando distintas disoluciones de concentración conocida. El disolvente empleado para la preparación de los estándares fue agua.

3.2.9.2 Contenido en metanol

El metanol fue determinado mediante un cromatógrafo Varian 3600 GC equipado con un detector de ionización de llama (FID) y una columna capilar de sílica fundida de pared recubierta (WCOT, Wall Coated Open Tubular) suministrada por Varian, de 50 m de longitud x 0,25 mm de diámetro interno con recubrimiento CP-WAX 57CB DF=0,2.

La calibración del sistema se realizó mediante patrones de metanol de diferentes concentraciones, utilizando butanol 10 000 ppm como patrón interno para el análisis. El disolvente empleado para la preparación de los estándares fue agua. Las muestras previamente fueron centrifugadas (10 min, 3 500 rpm) y el sobrenadante filtrado con filtros de celulosa de 0,45 µm.

3.2.9.3 Contenido en catalizador y jabones

De acuerdo con el método propuesto por Van Gerpen *et al*. (2004), la determinación de jabones y catalizador se realizó mediante titración utilizando una solución 0,1 N de HCl.

La titración se realizó en dos fases, en primer lugar se añadió a la muestra fenolftaleína, realizando la determinación hasta el punto de viraje de color de éste indicador. El volumen consumido de HCl corresponde a la neutralización del catalizador remanente en la muestra. Posteriormente se añaden unas gotas del segundo indicador, bromofenol, y se continua la titración hasta el cambio de color correspondiente para determinar el contenido en jabones. Para la determinación en la glicerina, esta se diluye previamente en acetona, empleando 0,5 g de glicerina residual y 100 mL de acetona con un 2% de agua destilada.

Utilizando el volumen de HCl consumido en la primera titración (A) se obtiene la cantidad de catalizador (KOH) por cada g de muestra

$$Catalizador\ ({}^{g}/_{g_{muestra}}) = \frac{A\ x\ 0{,}1\ x\ 56{,}1}{1000\ x\ W}$$

Con el volumen de HCl consumido en la segunda titración (B) se obtiene el contenido en jabón por cada g de muestra, en este caso en forma de oleato potásico.

$$g\ Jabon\ (^{g}/_{g_{muestra}}) = \frac{B\ x\ 0{,}1\ x\ 320{,}56}{1\ 000\ x\ W}$$

Donde w es el peso de muestra utilizado en el ensayo.

3.2.10 Otras técnicas analíticas

A continuación se describen las técnicas analíticas empleadas en la caracterización de los sustratos empleados.

3.2.10.1 Análisis de la materia orgánica, carbono orgánico y relación C/N.

La materia orgánica se determinó mediante el método Walkey-Black (MAPA, 1994), consistente en la oxidación de la materia orgánica presente en la muestra mediante la digestión en presencia de ácido sulfúrico y dicromato potásico 1 N. Posteriormente la muestra se valora empleando una disolución de sulfato ferroso amónico 0,5 N (Sal de Mohr), y difenilamina como indicador, para estimar la cantidad de dicromato en exceso que no interviene en la reacción. El carbono orgánico se determinó por diferencia entre el dicromato original y el valorado con la sal de Mohr. La materia orgánica oxidable se obtiene indirectamente mediante la consideración de que el 58% de la materia orgánica es carbono orgánico.

La relación C/N se obtiene mediante la división del carbono orgánico por el nitrógeno total.

3.2.10.2 Nitrógeno total

El nitrógeno total se determinó por el método Kjeldahl (MAPA, 1994). El nitrógeno así cuantificado es la suma del nitrógeno orgánico y el nitrógeno amoniacal. En este método la muestra es digerida con ácido sulfúrico concentrado en un digestor modelo DS-20 de TECATOR a 400 ºC durante 35 min, lo que produce la

transformación del nitrógeno en sulfato amónico. Posteriormente, se alcaliniza el medio y se destila el amoniaco en una unidad de destilación modelo UDK 140 de VELP SCIENTIFICA, recogiéndose en un vaso con ácido bórico (4%). El amonio se determina mediante valoración volumétrica con ácido clorhídrico 0,5 N hasta que el pH llegue a 4,8 en un valorador automático modelo 702 SM TITRINO de METROHM.

3.2.10.3 Contenido en fósforo, potasio y metales pesados.

La determinación de estos elementos se realizó mediante Espectroscopía de Emisión Atómica por Plasma Acoplado por Inducción (ICP-AES) y Espectrometría de emisión atómica acoplado a plasma con detector de masas de triple cuadrupolo (ICP-MS). En función de la naturaleza del elemento a determinar. Ambas técnicas se basan en la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma. Previo a su determinación en el equipo las muestras fueron digeridas en ácido nítrico 65% en un digestor a presión atmosférica con reflujo programado con la siguiente rampa de calentamiento:

- De 20 a 45 ºC en 30 min
- 1 minuto a 45 ºC.
- De 45 a 65 ºC en 25 min
- 5 minutos a 65 ºC.
- De 65 a 95 ºC en 15 min
- 120 min a 95 ºC.

Se dejó enfriar y se aforaron los tubos digestores a 50 mL con agua milliQ. Posteriormente se realizaron las diluciones oportunas y se adicionaron como patrones internos 10 ppb de Sc, Y, Pd, Pt y Rh para los elementos que se midieron en un ICP-MS (Fe, B, Zn, Cu, Mn, Mo, Al, Co y Ni) y 1 ppm de Sc para los que se midieron en un ICP-AES (S, P, Na, Ca, K y Mg).

3.2.10.4 Sulfatos y Sulfuros

Ambos elementos fueron determinados mediante electroforesis capilar. En el caso de los sulfatos, se utilizó un capilar de sílice fundida de 75 micras de diámetro y de

60 cm de longitud. El voltaje aplicado fue de 14 kV a 27 ºC. La composición buffer: Óxido de Cromo 5 mM y Bromuro de Tetradecil Trimetil Amonio 0,5 mM; pH 9,2.

En el caso de los sulfuros, el voltaje aplicado fue de 20 kV a 25ºC y la composición del buffer fue: Sulfato de Sodio 10 mM y Bromuro de Tetradecil Trimetil Amonio 0,5 mM; pH 10,5.

3.3 ANÁLISIS DE ESTABILIDAD

3.3.1 Análisis termogravimétrico

Los análisis térmicos abarcan una serie de técnicas en las cuales se mide una propiedad física de una sustancia en función de la temperatura. Para ello se somete una muestra a un programa de temperatura determinado y en una atmósfera controlada. Se distinguen varios métodos térmicos, destacando la termogravimetría (TG) y el análisis térmico diferencial (DTA). El análisis termogravimétrico ha sido utilizado para investigar la valoración energética de residuos (Díez, 2003), para estudiar la evolución de la materia orgánica durante el compostaje (Carballo *et al*., 2008; Dell'Abate *et al*., 1998; Smidt and Lechner, 2005) y en este trabajo va a servir como herramienta para evaluar los cambios y el grado de estabilización de los digestatos tras el proceso de DA (Cuetos *et al*., 2009; Gómez *et al*., 2007a, 2007b, 2005)

La termogravimetría informa de la ganancia o pérdida de masa de la muestra, cuantificando esta variación, mientras que el DTA informa si un proceso es endotérmico o exotérmico, y a menudo es capaz de medir la variación de energía térmica, que se cuantifica utilizando la calorimetría diferencial de barrido (DSC).

La termogravimetría es una técnica en la cual la masa de una muestra se mide continuamente en función de la temperatura mientras es sometida a un programa controlado de calentamiento. El registro continuo de estos datos permite obtener la curva TG. La termogravimetría derivada (DTG) es una forma de representar los

resultados de TG, por medio de la primera derivada de la curva, en función de la temperatura o el tiempo. La curva DTG representa, por tanto, la velocidad de variación de la masa frente a la temperatura o el tiempo (Gómez *et al*., 2011).

El análisis térmico bajo atmósfera oxidante se realizó utilizando una termobalanza de TA Instruments, modelo SDT2960, que registra simultáneamente medidas de TG-DTA. En la Figura 3.9 se presenta un esquema del instrumento, que consta de una balanza de precisión, un horno en el que se controla la temperatura y un sistema de registro de la señal.

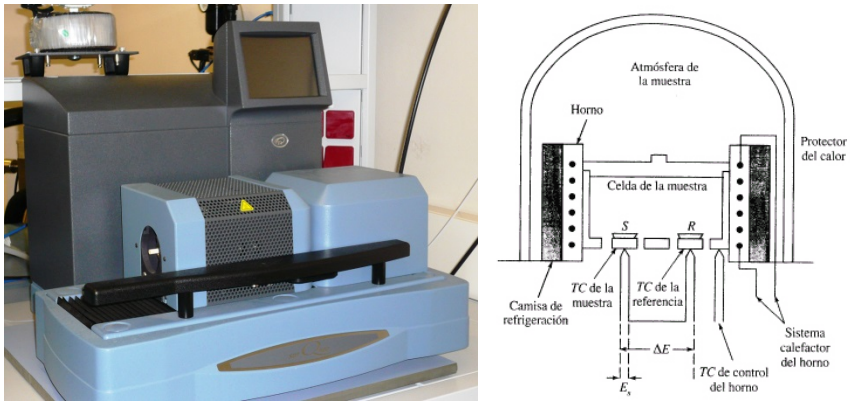

Figura 3.9. Fotografía y esquema de la termobalanza utilizada

3.3.2 Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR)

La Espectroscopía infrarroja (IR) es una técnica analítica de gran aplicación para la identificación de compuestos orgánicos. El espectro IR de un compuesto es una representación gráfica de los valores de número de onda frente a los valores de absorbancia o transmitancia. La absorción de radiación IR de un compuesto a una determinada longitud de onda (o número de onda) origina un descenso en el porcentaje de transmitancia, lo que se pone de manifiesto en el espectro como un pico o una banda de absorción.

Al absorber radiación IR, la molécula experimenta un cambio en el momento dipolar como consecuencia de su movimiento de vibración o rotación, solo en estas circunstancias el campo eléctrico alternante de una radiación puede interaccionar con la molécula y causar cambios en la amplitud de algunos de sus movimientos. Existen dos

tipos básicos de vibraciones, de tensión o estiramiento (streching) que consisten en un cambio en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos, y de flexión (bending), en las que cambia el ángulo entre dos enlaces.

Como una molécula está compuesta por distintos átomos y enlaces, en el espectro de absorción aparecerán bandas a distintos valores e frecuencia y longitud de onda. La región situada entre 4 000 y 1 400 cm^{-1} es de especial utilidad para identificare grupos funcionales, mientras que la zona del espectro comprendida entre los 1 400 a 600 cm^{-1} es única para cada compuesto, pudiendo compararse con el espectro de compuestos puros para su identificación (Cuetos, M.J., 2007).

La espectroscopía por transformada de Fourier surge para poder analizar espectros IR con señales muy débiles, mejorando la resolución y la relación señal-ruido obtenida. La espectroscopía FT-IR se basa en el interferómetro de Michelson, y a grandes rasgos consiste en dividir en dos el haz de luz infrarroja y mediante un espejo fijo y otro móvil, conseguir que incidan ambos en la muestra tras recorrer diferentes distancias. La representación de la intensidad de la luz que llega al detector y el retardo (desfase entre las dos ondas) se trata mediante análisis de Fourier para obtener las intensidades y longitudes de onda (Cuetos, M.J., 2007).

La espectroscopía FT-IR es una técnica que permite analizar de manera rápida muestras complejas de naturaleza orgánica. Debido a su sensibilidad para analizar grupos funcionales orgánicos ha sido ampliamente usada para evaluar procesos de degradación de la materia orgánica tales como compostaje (Meissl *et al*., 2007), DA (Gómez *et al*., 2011; Martínez *et al*., 2012), o estabilización en vertederos (Wu *et al*., 2011).

3.3.3 Resonancia magnética nuclear

La espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) es una técnica analítica que, basada en propiedades mecánico cuánticas de los núcleos atómicos, permite la determinación de determinadas estructuras moleculares. El uso de la espectroscopía ^{13}C y ^{1}H RMN en conjunto con el análisis térmico ha demostrado ser una herramienta analítica adecuada y de gran utilidad en la evaluación de los procesos

biológicos y en especial en el seguimiento de las transformaciones sufridas por la materia orgánica durante la digestión y compostaje (Buddrus *et al*., 1989; Fernández *et al*., 2008; Gómez *et al*., 2010).

Los núcleos de los isótopos que poseen un número impar de protones, un número impar de neutrones, o ambos, exhiben un efecto mecánico de espin asociado al momento angular. Según se refleja en la Figura 3.10, si los núcleos son irradiados con radiación electromagnética de la frecuencia adecuada, aquellos que se encuentren en el estado de baja energía absorberán un quantum y pasarán al estado de alta energía. Cuando esta transición ocurre, se dice que el núcleo está en resonancia con la radiación aplicada, de aquí el nombre de resonancia magnética nuclear (Lobato, A., 2012).

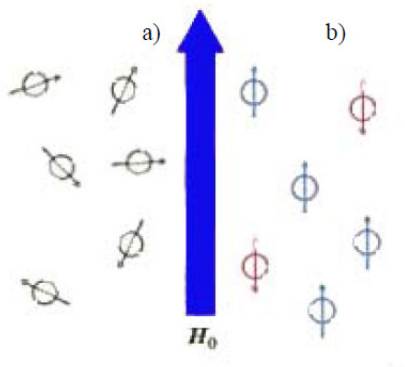

Figura 3.10. Estado inicial de los núcleos (a) y alineamiento según la orientación del campo magnético (H0), pasando al estado de alta energía (b). Fuente: www.hartford.edu

Las diferentes señales de los espectros de RMN se distribuyen en función del desplazamiento químico (δ), propiedad que describe la dependencia de los niveles de energía magnética del núcleo con el ambiente electrónico de la molécula (Sanders & Hunter, 1994).

Los principales núcleos de interés para detección de estructuras moleculares orgánicas mediante esta técnica son el protón ^{1}H y el carbono ^{13}C. Adani *et al*., (2006) seleccionaron la RMN como herramienta analítica capaz de identificar estructuras orgánicas y comparar las distintas concentraciones de los principales grupos funcionales.

La parte fundamental del espectrómetro RMN es el "imán". En su eje interior se sitúa el vial de introducción de muestras. Consta de un generador de radiofrecuencia y un electroimán capaz de producir un campo magnético de alta intensidad y extremadamente homogéneo. Ambos producirán las condiciones necesarias para la resonancia magnética nuclear. Un Amplificador unido al detector de radiofrecuencia transforma las pequeñas variaciones de energía en corriente eléctrica. A continuación, el inscriptor transcribe la señal eléctrica a espectrografías.

En la Figura 3.11 se representa un modelo de espectrómetro de resonancia magnética nuclear.

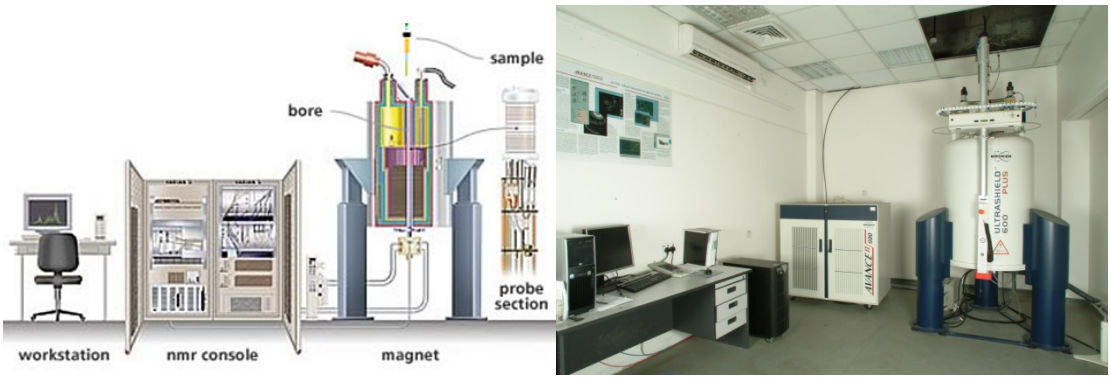

Figura 3.11. E*spectrómetro de resonancia magnética nuclear.* Fuente:www.agilent.com

Para la realización de las espectrometrías de RMN se utilizó un equipo Bruker Avance 600 spectrometer (5 mm TCi cryoprobe, de detección inversa). Las frecuencias nominales fueron 600,13 MHz para $_1$H y 150,90 MHz para ^{13}C. Se utilizó DMSO*d*6 como patrón interno en todos los espectros. El desplazamiento químico (δ) a 298 K de DMSO*d*6 está situado en los ensayos ^{1}H NMR en torno a 2,49 ppm en el caso de ensayos ^{13}C NMR en torno a 39,5 ppm).

3.4 BIBLIOGRAFÍA

Adani, F., Genevini, P., Tambone, F., Montoneri, E., 2006. Compost effect on soil humic acid: A NMR study. Chemosphere 65, 1414 - 1418.

APHA, 2005. Standard methods for the examination of water & wastewater, American Public Health Association. ed. American Public Health Association, Washington DC.

Buddrus, J., Burba, P., Herzog, H., Lambert, J., 1989. Quantification of partial structures of aquatic humic substances by one- and two-dimensional solution 13C nuclear magnetic resonance spectroscopy. Analytical Chemistry 61, 628 - 631.

Calli, B., Mertoglu, B., Inanc, B., Yenigun, O., 2005. Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors. Process Biochem. 40, 1285–1292. doi:doi: DOI: 10.1016/j.procbio.2004.05.008

Carballo, T., Gil, M.V., Gómez, X., González-Andrés, F., Morán, A., 2008. Characterization of different compost extracts using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and thermal analysis. Biodegradation 19, 815–830. doi:10.1007/s10532-008-9184-4

Cuetos, M.J., Morán, A., Otero, M., Gómez, X., 2009. Anaerobic co-digestion of poultry blood with OFMSW: FTIR and TG–DTG study of process stabilization. Environ. Technol. 30, 571–582. doi:10.1080/09593330902835730

Cuetos, M.J., 2007. Digestión y co-digestión anaerobia de residuos de matadero avícola: Control del proceso y evaluación del grado de estabilización. Universidad de León, León.

Dell'Abate, M.T., Canali, S., Trinchera, A., Benedetti, A., Sequi, P., 1998. Thermal analysis in the evaluation of compost stability: A comparison with humification parameters. Nutr. Cycl. Agroecosystems 51, 217–224.

Díez, C., 2003. Valorización energética de neumáticos fuera de uso. Seguimiento cinético del proceso de pirólisis. Directores: Antonio Morán Palao y Olegario Martínez Morán [Tesis doctoral]. Universidad de León.

Fernández, J.M., Hockaday, W.C., Plaza, C., Polo, A., Hatcher, P.G., 2008. Effects of long-term soil amendment with sewage sludges on soil humic acid thermal and molecular properties. Chemosphere 73, 1838 - 1844.

Fernández, A., Sánchez, A., Font, X., 2005. Anaerobic co-digestion of a simulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. Biochemical Engineering Journal 26, 22–28. doi:10.1016/j.bej.2005.02.018

Ferrer, I., Vázquez, F., Font, X., 2010. Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. Bioresour. Technol. 101, 2972–2980. doi:10.1016/j.biortech.2009.12.006

Gómez, X., Blanco, D., Lobato, A., Calleja, A., Martínez-Núñez, F., Martin-Villacorta, J., 2011. Digestion of cattle manure under mesophilic and thermophilic conditions: characterization of organic matter applying thermal analysis and 1H NMR. Biodegradation 22, 623–635. doi:10.1007/s10532-010-9436-y

Gómez, X., Cuetos, M.J., Tartakovsky, B., Martínez-Núñez, M.F., Morán, A., 2010. A comparison of analytical techniques for evaluating food waste degradation by anaerobic digestion. Bioprocess and Biosystems Engineering 33, 427 - 438.

Gómez, X., Cuetos, M.J., García, A.I., Morán, A., 2007a. An evaluation of stability by thermogravimetric analysis of digestate obtained from different biowastes. J. Hazard. Mater. 149, 97–105.

Gómez, X., Diaz, M.C., Cooper, M., Blanco, D., Morán, A., Snape, C.E., 2007b. Study of biological stabilization processes of cattle and poultry manure by thermogravimetric analysis and 13C NMR. Chemosphere 68, 1889–1897. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.02.065

Gómez, X., Cuetos, M.J., García, A.I., Morán, A., 2005. Evaluation of digestate stability from anaerobic process by thermogravimetric analysis. Thermochim. Acta 426, 179–184.

Hansen, K.H., Angelidaki, I., B. K. Ahring, 1998. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia. Water Res. 32, 5–12. doi:10.1016/S0043-1354(97)00201-7

Lobato, A., 2012. Estudio de la co-digestión anaerobia de residuos ganaderos con otros substratos agro-industriales. Universidad de León, León.

MAPA, 1994. Métodos Oficiales de Análisis. Dirección General de Politica Alimentaria, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación., Madrid.

Martínez, E.J., Fierro, J., Sánchez, M.E., Gómez, X., 2012. Anaerobic co-digestion of FOG and sewage sludge: Study of the process by Fourier transform infrared spectroscopy. Int. Biodeterior. Biodegrad. 75, 1–6. doi:10.1016/j.ibiod.2012.07.015

Meissl, K., Smidt, E., Schwanninger, M., 2007. Prediction of humic acid content and respiration activity of biogenic waste by means of Fourier transform infrared (FTIR) spectra and partial least squares regression (PLS-R) models. Talanta 72, 791–799. doi:10.1016/j.talanta.2006.12.005

SALEAL, 2014. Saneamiento Integral de León y su Alfoz (SALEAL). URL http://www.saleal.es/EDAR/Antecedentes/ (accessed 4.22.14).

Sanders, J.K.M., Hunter, B.K., 1994. Modern NMR spectroscopy (A guide for chemists), 2nd ed. Oxford University Press, Oxford, UK.

Smidt, E., Lechner, P., 2005. Study on the degradation and stabilization of organic matter in waste by means of thermal analyses. Thermochim. Acta 438, 22–28. doi:10.1016/j.tca.2005.08.013

Van Gerpen, J., Shanks, B., Pruszko, R., Clements, D., Knothe, G., 2004. Biodiesel Analytical Methods. National Renewable Energy Laboratory. US Department of Energy.

Wu, H., Zhao, Y., Long, Y., Zhu, Y., Wang, H., Lu, W., 2011. Evaluation of the biological stability of waste during landfill stabilization by thermogravimetric analysis and Fourier transform infrared spectroscopy. Bioresour. Technol. 102, 9403–9408.doi:10.1016/j.biortech.2011.07.029

Capítulo 4

CO-DIGESTIÓN DE PURÍN Y GLICERINAS

4.1 INTRODUCCIÓN

La digestión anaerobia (DA) es un proceso ampliamente empleado en el tratamiento de residuos orgánicos. Al mismo tiempo que permite la estabilización y reducción del volumen de residuos (Álvarez *et al*., 2010), permite la obtención de energía mediante el aprovechamiento del biogás generado en el proceso.

Con más de 1 500 millones de toneladas anuales, las deyecciones ganaderas (estiércoles y purines) son la mayor fuente de residuos orgánicos producidos en la UE. El tratamiento de estos residuos mediante DA podría convertirse en una gran fuente de energía renovable y nutrientes para la agricultura (Holm-Nielsen *et al*., 2009). Además permitiría reducir las emisiones de gases de efecto invernadero procedentes de la ganadería que suponen el 10,7% de las emisiones totales producidas en España (Ministry of Agriculture Food and Environment, 2007)

En el caso de los purines, su tratamiento mediante DA presenta varios problemas, uno de ellos es el bajo contenido en sólidos (típicamente menos de un 8%) lo cual se traduce en un bajo potencial de producción de biogás (aproximadamente entre 10 - 20 m^3 CH_4 por tonelada de residuo) (Angelidaki y Ellegaard, 2003; Asam *et al.*, 2011; Mata-Alvarez *et al.*, 2011). Otro problema de la digestión de purines es su baja relación C:N, lo cual provoca problemas de toxicidad asociados a las elevadas concentraciones de nitrógeno amoniacal presentes.

Algunos autores han demostrado la eficacia de la co-digestión como medio para evitar la toxicidad por elevados niveles de amonio en el reactor (Cuetos *et al*., 2011; Murto *et al*., 2004; Panichnumsin *et al*., 2010). Adicionalmente, la co-digestión ofrece numerosas ventajas desde el punto de vista económico, tecnológico y ambiental (Martín-González *et al*., 2010), ya que incrementa la producción de metano del proceso, reduce el efecto tóxico de algunos sustratos y en ocasiones provoca efectos sinérgicos entre los microorganismos presentes (Sosnowski *et al*., 2003)

La glicerina residual producida en las plantas de biodiesel reúne las características adecuadas para su empleo como co-sustrato. Se trata de un sustrato con un contenido en carbono muy elevado (ya que está compuesto esencialmente por glicerol) y que podría utilizarse en digestión sin requerir de ningún pre-tratamiento.

También se trata de un residuo con un elevado contenido en sólidos, lo cual reduce el coste de su transporte a la planta de digestión. Diversos autores han observado un efecto positivo de la adición de glicerina sobre la producción de metano (Astals *et al*., 2011; Castrillón *et al*., 2013; Lobato *et al*., 2010). Sin embargo, por encima de una cierta cantidad de glicerina, se observan problemas de estabilidad en el reactor y acumulación de ácidos grasos volátiles (AGVs).

Existe una amplia variabilidad en las cantidades de glicerina determinadas como máximas para el proceso de co-digestión con purines y estiércoles, oscilando desde el 1% v/v (Fountoulakis *et al*., 2010), 5% (Lobato *et al*., 2010), 6% (Amon *et al*., 2006). Este amplio rango de concentraciones se explica por las distintas características tanto de la glicerina empleada como del sustrato principal.

4.2 OBJETIVOS

El objetivo de este capítulo es evaluar el comportamiento de dos glicerinas de diferente origen como co-sustrato en la co-digestión de purín.

En una primera fase se determinó el potencial de producción de biogás de cada residuo, y seguidamente se evaluó el proceso de co-digestión a diferentes proporciones de glicerina en régimen discontinuo.

Posteriormente, se realizaron los ensayos de co-digestión en régimen semi-continuo, empleando reactores de mezcla completa, para determinar las condiciones necesarias para que el funcionamiento de los reactores sea estable, observando las diferencias que puedan surgir como consecuencia de las características de las glicerinas empleadas. También se pretende determinar problemas que pueden aparecer con el cambio en régimen de alimentación, tales como inhibiciones, acumulación de (AGVs), etc.

4.3 MATERIAL Y MÉTODOS

4.3.1 Descripción de los sustratos empleados

En los ensayos de co-digestión se utilizaron dos glicerinas de orígenes y grados de refinado diferentes. La glicerina A (GA), se obtuvo de la planta de Abengoa Bioenergía situada en Cádiz, y proviene del proceso de fabricación de biodiesel a partir de aceites vegetales (soja, colza y palma). La segunda glicerina, denominada glicerina B (GB), se obtuvo en la planta Biocyl. Situada en Zamora, esta planta produce biodiesel empleando aceites de cocina usados.

El purín empleado en los ensayos se obtuvo de una granja situada en Fresno de la Polvorosa (Zamora), dedicada a la cría de hembras de la raza Large-White. La Tabla 4.1 muestra las características de cada uno de los sustratos empleados.

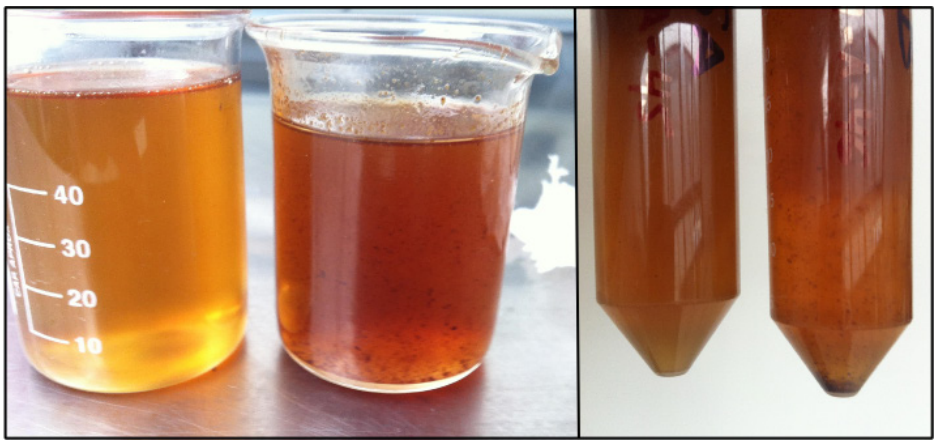

Figura 4.1. Diferencia visual entre las dos glicerinas empleadas en el ensayo. glicerina A (izquierda) y glicerina B (derecha)

Tabla 4.1. Caracterización de los sustratos empleados

	Glicerina A	*Glicerina B*	*Purín*
Origen	**Abengoa Bioenergía** (Cádiz)	**Biocyl** (Zamora)	---
ST (g/L)	775,8 ± 65,7	656,9 ± 56,6	56,6 ± 4,7
VS (g/L)	727,8 ± 63,58	623,0 ± 52,4	44,6 ± 3,71
pH	6,3	4,8	7,4
Materia Orgánica (%)	93,4 ± 6,5	73,4 ± 5,1	6,1 ± 0,6
Carbono Orgánico (%)	54,3 ± 3,8	42,7 ± 2,7	3,6 ± 0,3
N Kjeldahl (%)	<0,03	<0,03	0,67 ± 0,11
C/N	-- -	-- -	5,3
N-NH_4 (%)	---	---	0,46 ± 0,10
S (%)	0,10 ± 0,03	0,79 ± 0,11	0,60 ± 0,10
Glicerol (%)	84	68,5	---
Agua (%)	11,5	4,3	---
Metanol (%)	0,02	21,3	---

4.3.2 Metodología experimental

4.3.2.1 Ensayos de biodegradabilidad

En una primera fase, se realizaron los ensayos de biodegradabilidad de las tres muestras de manera individual, a fin de determinar la producción de biogás de cada sustrato por separado. Para la realización de estos ensayos, se emplearon erlenmeyers de 250 mL equipados con agitadores magnéticos y botellas para medición del biogás mediante desplazamiento de solución salina ácida. Los matraces se sumergieron en un baño termostatizado a 34 ± 1 ºC equipado con una placa de agitación. Los ensayos de digestión fueron realizados por duplicado y se mantuvieron operativos hasta que la producción de biogás fue nula. Se utilizó como blanco un erlenmeyer que contenía el

inóculo sin sustrato, con el objeto de evaluar la producción de metano y restar su contribución del valor total de producción de las muestras. El ensayo se realizó sin suplemento alguno de nutrientes. El pH fue corregido a 7 empleando una solución alcalina cuando resultó necesario.

Las cantidades de sustrato e inóculo que se añadieron en cada matraz erlenmeyer fueron seleccionadas de modo que la relación inóculo/alimentación (I/A) (con base en los sólidos volátiles) fue de 2. Este parámetro muestra los efectos de la concentración de sustrato e inóculo en la degradación anaerobia y producción de metano.

Posteriormente, y empleando la misma metodología que en los ensayos individuales, se realizaron ensayos de co-digestión de purín y glicerina a diferentes proporciones, utilizando para ello la glicerina con mayor producción de biogás. El objetivo de este segundo ensayo es evaluar un amplio rango de proporciones glicerina-purín como paso previo a los ensayos en régimen semi-continuo. Las concentraciones evaluadas fueron 4, 8, 12 y 16% (v/v). En este caso se emplearon 4 matraces para cada muestra, dos utilizados para obtener la producción de biogás, y otros dos para la extracción de muestra líquida para las analíticas realizadas.

4.3.2.2 Ensayos en régimen semi-continuo

En una segunda fase experimental se realizaron los ensayos de co-digestión en régimen semi-continuo. Para dichos ensayos se emplearon las dos glicerinas, evaluadas en los ensayos discontinuos, en dos reactores de mezcla completa con un volumen útil de 3 L. El contenido en glicerina en la co-digestión fue de 5% (v/v) para ambos reactores.

El arranque del reactor se realizó del mismo modo en los dos casos, llenando en primer lugar el reactor con inóculo, y posteriormente comenzando la alimentación de forma gradual hasta lograr que el reactor se mantenga estable. Tras el periodo de aclimatación de las poblaciones de microrganismos existentes en el reactor, se comienza a aumentar la carga orgánica hasta llegar a los niveles deseados en el ensayo. Los ensayos se realizaron en régimen mesofílico (34 ± 1 ºC), y con una frecuencia de agitación de 15 min cada hora para favorecer el contacto dentro del reactor.

Debido a las características de los sustratos la alimentación de los reactores se realizó manualmente una vez al día, extrayendo una cantidad igual de digerido antes de la alimentación para mantener constante el volumen en el reactor. Las alimentaciones se realizaron en lotes de 2 L donde se mezclaron purín y glicerina en las cantidades fijadas.

Debido a los problemas que se observaron en los ensayos de biodegradabilidad de la glicerina A, el arranque del reactor alimentado con esta glicerina (P-GA) se realizó a un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 50 días, lo cual supuso una carga de alimentación por unidad de volumen de reactor de 1,52 g SV/Lr d. El reactor se mantuvo bajo estas condiciones de funcionamiento durante tres TRH completos (150 días). Posteriormente se incrementó la carga de alimentación hasta los 2,53 g SV/Lr d, mediante la reducción del TRH a 30 días. Este cambio se realizó de forma progresiva manteniendo el reactor con una carga intermedia (2 g SV/Lr d) durante dos semanas.

El reactor con glicerina B (P-GB) se evaluó exclusivamente a TRH de 30 días, debido a la ausencia de problemas durante los ensayos en discontinuo. Inicialmente el reactor se mantuvo en adaptación durante un periodo de 16 días, en el cual se fue incrementando progresivamente la carga orgánica desde 1,47 g SV/Lr d (TRH de 50 días) hasta alcanzar el régimen normal de funcionamiento de 2,45 g SV/Lr d.

4.3.3 Metodología analítica

El seguimiento realizado a los ensayos de biodegradabilidad consistió en la medición diaria de la producción de biogás y el análisis de su composición (CH_4, CO_2, H_2, N_2) dos veces por semana. En el caso de las co-digestiones, se analizó el contenido en ácidos grasos volátiles, sólidos totales (ST) y volátiles (SV) y pH, aproximadamente dos veces a la semana.

El seguimiento sobre los ensayos en semi-continuo fue similar, midiendo diariamente el volumen de biogás producido y su composición aproximadamente cada tres días. Dos veces por semana se realizaron analíticas del digerido, evaluando los siguientes parámetros: pH, ST y ST, AGV, demanda química de oxígeno (DQO), alcalinidad y amonio. Estos mismos parámetros fueron evaluados en cada lote de alimentación preparada.

La metodología empleada en cada una de las técnicas analíticas realizadas se recoge en el capítulo de Material y Métodos.

4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1 Resultados de los ensayos de biodegradabilidad

4.4.1.1 Biodegradabilidades individuales

Como resultado de las pruebas de biodegradabilidad iniciales se obtuvieron las curvas de producción de biogás para los tres sustratos (Figura 4.2). La duración de los ensayos fue de 30 días para la glicerina B, mientras que la producción de biogás de las dos muestras restantes se detuvo a los 15 días.

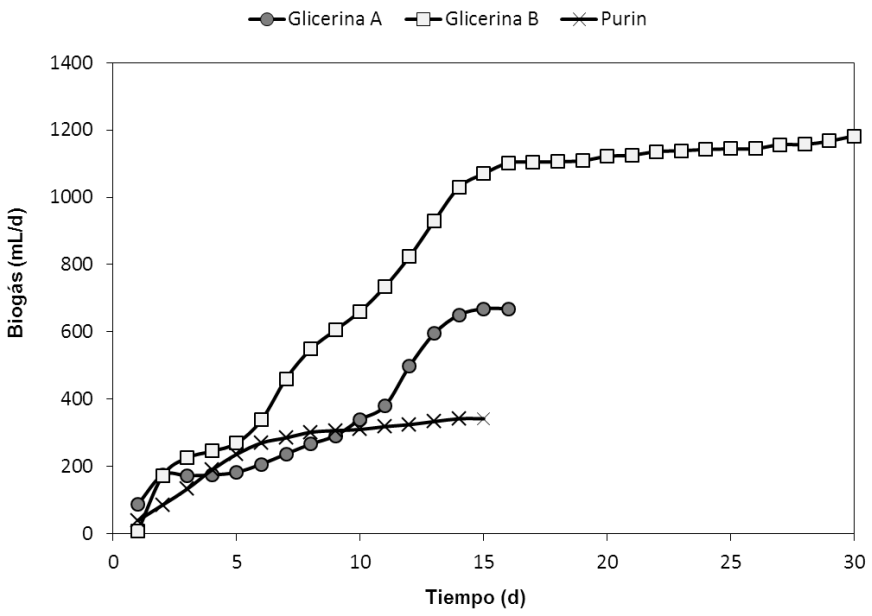

Figura 4.2. Producción acumulada de biogás para las 3 muestras evaluadas.

Se observa un comportamiento muy diferente en las dos glicerinas evaluadas, siendo la glicerina B la que presenta una mayor producción de biogás (1 185 mL) y una elevada tasa de degradación durante los primeros días. La producción de la glicerina A

fue considerablemente más baja (669 mL), pudiendo apreciarse una fase de adaptación entre los días 2 y 5 en los que la producción fue prácticamente nula.

Con respecto al purín, podemos observar una baja producción de gas (342 mL), y la ausencia de una fase de adaptación durante los primeros días de ensayo. La presencia de esta fase de letargo es frecuente en la digestión de purines en régimen discontinuo (Lobato *et al*., 2010; Cuetos *et al*., 2011). A pesar de no presentarse dicha fase en este ensayo, la producción de biogás obtenida es notablemente inferior a las producciones observadas en la literatura para condiciones similares. Lobato *et al*. (2010), obtuvo una producción específica de 276 y 512 mL CH_4/g SV_{alim} para dos purines distintos, siendo ambas mayores a las obtenidas en el presente ensayo (180 mL CH_4/g VS_{alim}). Producciones específicas considerablemente más altas también fueron indicadas por Chae *et al*. (2008) (403 mL CH_4/g VS_{alim}) y Møller *et al*. (2004) (356 mL CH_4/g VS_{alim}). Además de las diferencias en el origen del purín, las características del inóculo y la relación inóculo/sustrato pueden haber influido en la producción específica obtenida (Álvarez *et al.*, 2010).

Tabla 4.2. Características de la producción de biogás

Parámetro	***Glicerina A***	***Glicerina B***	***Purín***
Biogás acumulado (mL)	669	1 185	342
% CH_4	60	66	65
PEG (L CH_4/kg SV)	329	587	180

4.4.1.2 Co-digestión en discontinuo de purín y glicerina

La Figura 4.3 muestra las curvas de producción de biogás para los cuatro ensayos de co-digestión realizados. El porcentaje indicado en cada muestra se refiere al contenido másico de glicerina en el sustrato (4 a 16%).

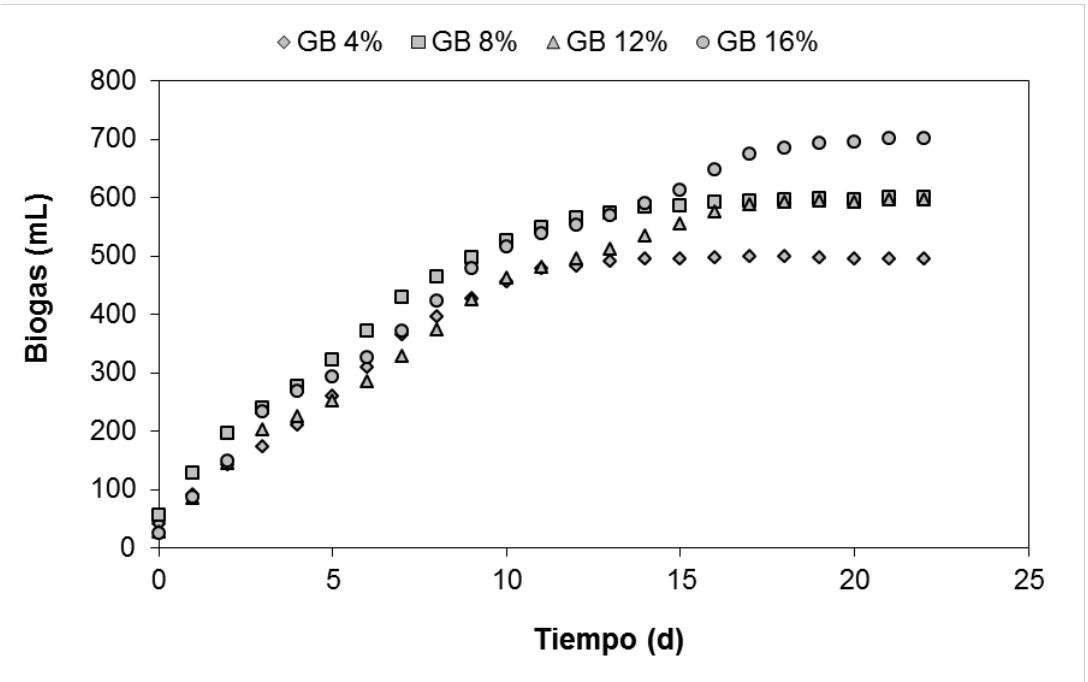

Figura 4.3. Evolución de la producción de biogás para las muestras de co-digestión con glicerina B

Se observa como el comportamiento de los cuatro ensayos realizados es similar, comenzando la producción de biogás inmediatamente tras el inicio del ensayo, lo cual sugiere que no ha habido ningún tipo de inhibición del proceso de digestión. Se observa un aumento en la producción final de gas con el incremento en el contenido de glicerina. De este modo las producciones específicas de gas aumentaron desde 493 hasta 701 mL/g SV alimentado con el incremento del contenido en glicerina del 4 al 16%. El contenido en metano del biogás osciló entre el 66 y 69% para todos los ensayos.

La Tabla 4.3 representa los valores de producción específica de biogás obtenidos experimentalmente frente a los valores teóricos esperados, tomando como base los resultados obtenidos en los ensayos de biodegradabilidad de las muestras individuales del apartado anterior. De este modo se observa que los valores de biogás experimentales son similares a los obtenidos de forma teórica, sugiriendo que no existe un efecto sinérgico positivo en la co-digestión. El aumento de la producción estaría únicamente ligado a la adición de un sustrato con un mayor potencial de producción de biogás.

Tabla 4.3. Producciones específicas de gas teóricas y experimentales para las diferentes mezclas con glicerina

Mezcla	***Prod. Esp Experimental*** (mL biogás/g SV_{alim})	***Prod. Esp Teórica*** (mL biogás/g SV_{alim})
GB_4%	370	375
GB_8%	451	409
GB_12%	446	442
GB_16%	527	476

Astals *et al.* (2011) realizaron ensayos de co-digestión de purín y glicerina a diferentes proporciones obteniendo una producción máxima de 249 mL CH_4/g SV_{alim} para el ensayo con un 80% de purín y 20% de glicerina, un incremento de un 125% respecto de la mono-digestión de purín. Este resultado es similar a la producción obtenida para el ensayo con un contenido en glicerina de 4% (255 mL CH_4 /g SV_{alim}), si bien el incremento observado con respecto al purín fue de un 141%.

Amon *et al.* (2006) realizaron ensayos de co-digestión de purín, residuos vegetales y glicerina a diferentes concentraciones, obteniendo una producción específica de 617 mL CH_4/g SV_{alim} para una mezcla de purín-glicerina de 94:6 (expresado en %). Este valor duplica la producción específica observada en el presente ensayo para un contenido en glicerina del 8% (307 mL CH_4/g SV_{alim}). El valor de producción específica que los autores obtuvieron para la digestión individual del purín fue de 216 mL CH_4/g SV_{alim}, lo cual supone un incremento con la co-digestión de un 286%. Como conclusión a los ensayos realizados, Amon *et al*. (2006) establecen el límite máximo de glicerina en un 6%, si bien no especifica el contenido en glicerol ni el origen de la glicerina empleada, lo cual dificulta la comparación con otros ensayos.

La evolución del contenido en AGV de los sistemas de co-digestión puede observarse en la Figura 4.4. En todos los casos se aprecia una elevada concentración de ácidos grasos al comienzo del ensayo (especialmente acético y propiónico), y como éstos son degradados durante el ensayo, desapareciendo a partir del día 5. El comportamiento de los cuatro sistemas estudiados no muestra ninguna señal de inhibición por acumulación de AGV. Esto se explica porque, a pesar del aumento en el

contenido de glicerina, la relación de SV entre inóculo y sustrato se mantuvo constante para todos los montajes.

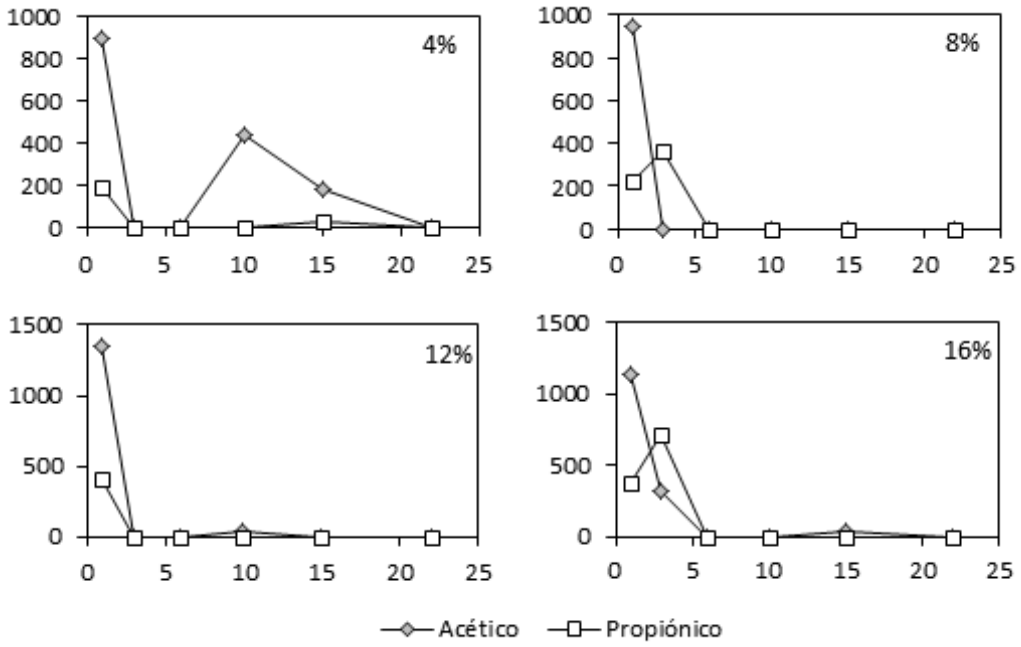

Figura 4.4. Evolución del contenido en AGV para los sistemas de co-digestión con glicerina evaluados en los reactores discontinuos

4.4.2 Resultados de la co-digestión en régimen semi-continuo

4.4.2.1 Co-digestión de Purín y Glicerina A (P-GA)

La Figura 4.5 muestra los resultados relativos a la producción diaria de biogás y de AGVs del reactor. El funcionamiento del sistema durante la primera parte del ensayo se caracterizó por una marcada inestabilidad, observándose una gran variabilidad en la producción diaria de biogás acompañada de la acumulación de AGV.

La acumulación de AGV, principalmente en forma de acético y propiónico, tuvo lugar desde el inicio de la alimentación, llegando a alcanzar valores de 8 y 6 g/L de acético y propiónico durante los primeros 50 días de ensayo. Esta acumulación se debe a que la glicerina es un sustrato fácilmente degradable, siendo la conversión a ácido propiónico (y posteriormente a acético) una de las etapas más rápidas del proceso,

convirtiendo la metanogénesis en etapa limitante de la digestión (Fountoulakis *et al.*, 2010; Lobato *et al.*, 2010).

Como consecuencia del aumento de la población de microorganismos degradadores de propiónico podemos observar una reducción de su concentración en el reactor a partir del día 25, resultando en un incremento en las concentraciones de acético. La concentración de éste ácido graso aumenta hasta el día 50, llegando a alcanzar una concentración máxima de 8 g/L.

Tras este periodo de marcada inestabilidad, se observa como a partir del día 68 la concentración de AGV disminuye, al mismo tiempo que se observa un gran aumento de la producción de biogás hasta valores próximos a los 5 L/d. El contenido en metano del biogás, el cual experimentó una caída durante los primeros días de ensayo también aumenta, estabilizándose en valores superiores al 65%. Tras alcanzar una producción máxima para el periodo evaluado a TRH 50 d (en el día 71), el reactor pudo operar durante dos tiempos de retención completos, con una producción media de 3,5 L/d. Sin embargo, la producción de biogás presentó una reducción progresiva de biogás desde valores próximos a 4 L/d durante el primer TRH, a valores cercanos a los 3 L/d durante el segundo TRH. Simultáneamente se observa un aumento progresivo de la concentración de acético y propiónico, que se ve agravado con el incremento en la carga orgánica del reactor asociado a la disminución del TRH.

El incremento en la carga orgánica se realizó de modo de alcanzar un valor intermedio de 2 g SV/Lr d durante 2 semanas, para posteriormente fijar las condiciones del ensayo a un TRH de 30 días. El incremento de la carga orgánica provocó un efecto similar al observado en el inicio del reactor, con un aumento del ácido propiónico, butírico e iso-butírico, seguido de un aumento del ácido acético a medida que ácidos volátiles de mayor número de carbonos son consumidos.

En lo que respecta a la producción de biogás, se observó un aumento general de la producción si bien dicho aumento se vio acompañado de una mayor inestabilidad, alternando periodos de elevada producción de biogás con caídas notables de la producción. Esta inestabilidad no afectó a la composición del biogás, cuyo contenido en metano no experimentó variaciones significativas durante este periodo.

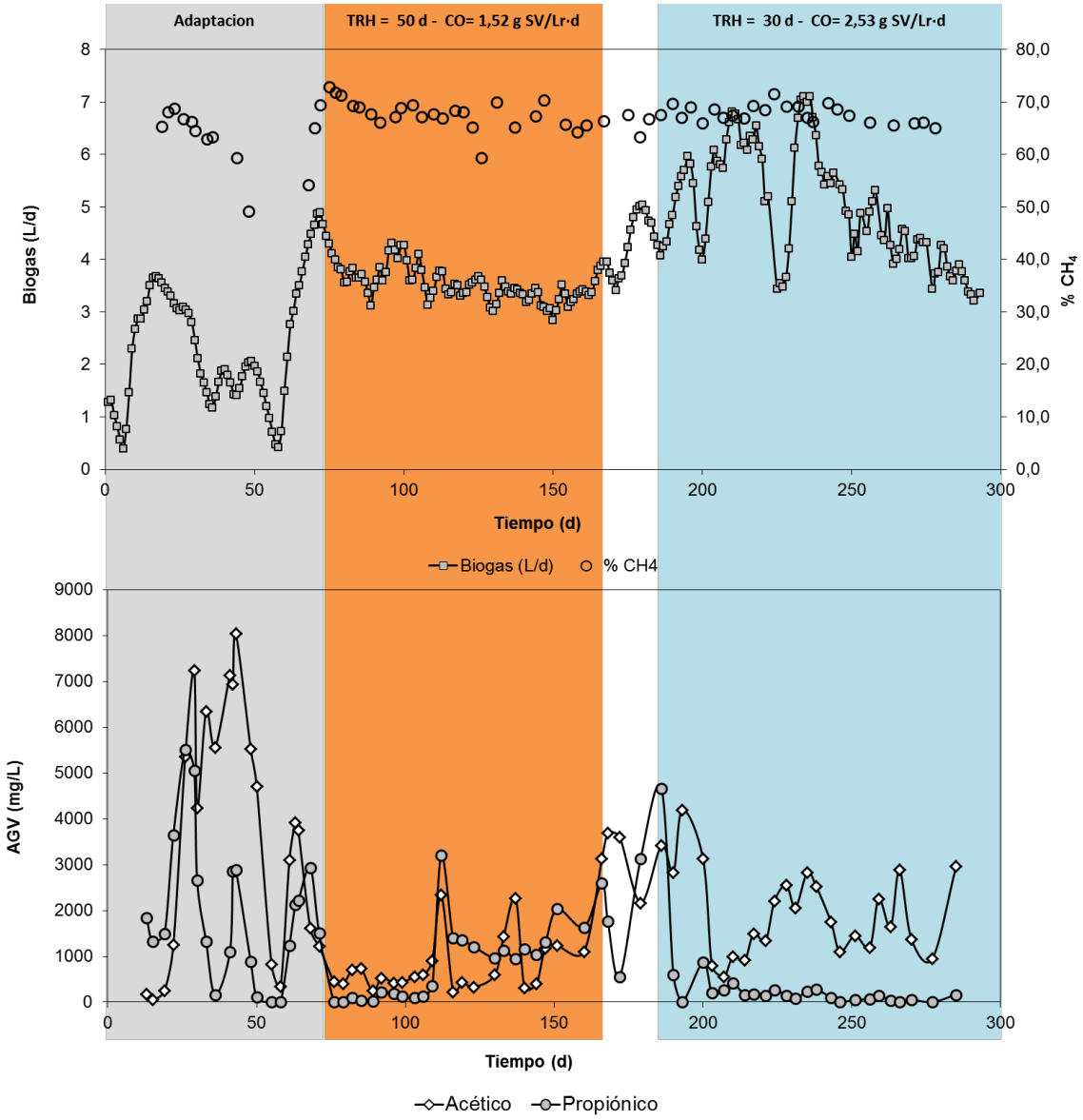

Figura 4.5. Evolución de la producción de biogás, y concentración de AGV para el reactor P-GA evaluado bajo condiciones semi-continuas de operación

La producción máxima del reactor se obtuvo para los días 233 - 236, superando los 7 L/d durante ese periodo. Posteriormente la producción comenzó a caer de forma continua hasta el final del ensayo, observándose una clara reducción en el último TRH evaluado, con una producción media de 4,2 L/d. Este valor fue aproximadamente un 25% inferior a los dos TRH de 30 d evaluados anteriormente. Los principales parámetros de la producción de biogás del reactor a partir del día 72 de ensayo se recogen en la Tabla 4.4.

Tabla 4.4. Principales parámetros de la producción de biogás para el reactor P-GA

Parámetro	***TRH 50d*** *(d 72-172)*	***TRH 30 d*** *(d 190-280)*
Biogás (L/d)	3,5 ± 0,4	5,1 ± 1,3
% CH_4	66,9 ± 2,4	67,5 ± 1,7
Rendimiento(L CH_4/Lr d)	0,79 ± 0,10	1,16 ± 0,27
PEG (L CH_4/kg SV)	532 ± 77	468 ± 127
P. Específica (L CH_4/kg MF*)	39,5 ± 5,8	34,8 ± 9,6

*kg MF: kg de materia fresca

La evolución de los distintos parámetros utilizados para evaluar el funcionamiento del reactor se recogen en la Figura 4.6 y Tabla 4.5. Con respecto al contenido en sólidos del reactor (Figura 4.6a), se puede observar un progresivo aumento tanto de los sólidos totales como de los volátiles, debido al elevado contenido en solidos de la alimentación (92,4 g ST/L y 75,9 SV g/L). El contenido medio del digerido para el periodo evaluado a TRH de 50 d fue de 48,2 g ST/L y 33,7 g SV/L, lo que supone una eliminación media del 54,7% de los SV proporcionados por la alimentación. Este porcentaje disminuye significativamente al aumentar la carga orgánica, de modo que para este periodo es del 33,6%.

El pH del reactor se redujo durante la fase de adaptación como consecuencia de la acumulación de AGV que tuvo lugar al inicio del ensayo. Posteriormente se aprecia un aumento y estabilización del mismo en valores próximos a 8 unidades durante el resto del ensayo. La estabilidad del pH del reactor se debe al incremento progresivo de la alcalinidad desde el comienzo del ensayo (Figura 4.6c), llegando a alcanzar valores próximos a 20 g $CaCO_3$/L.

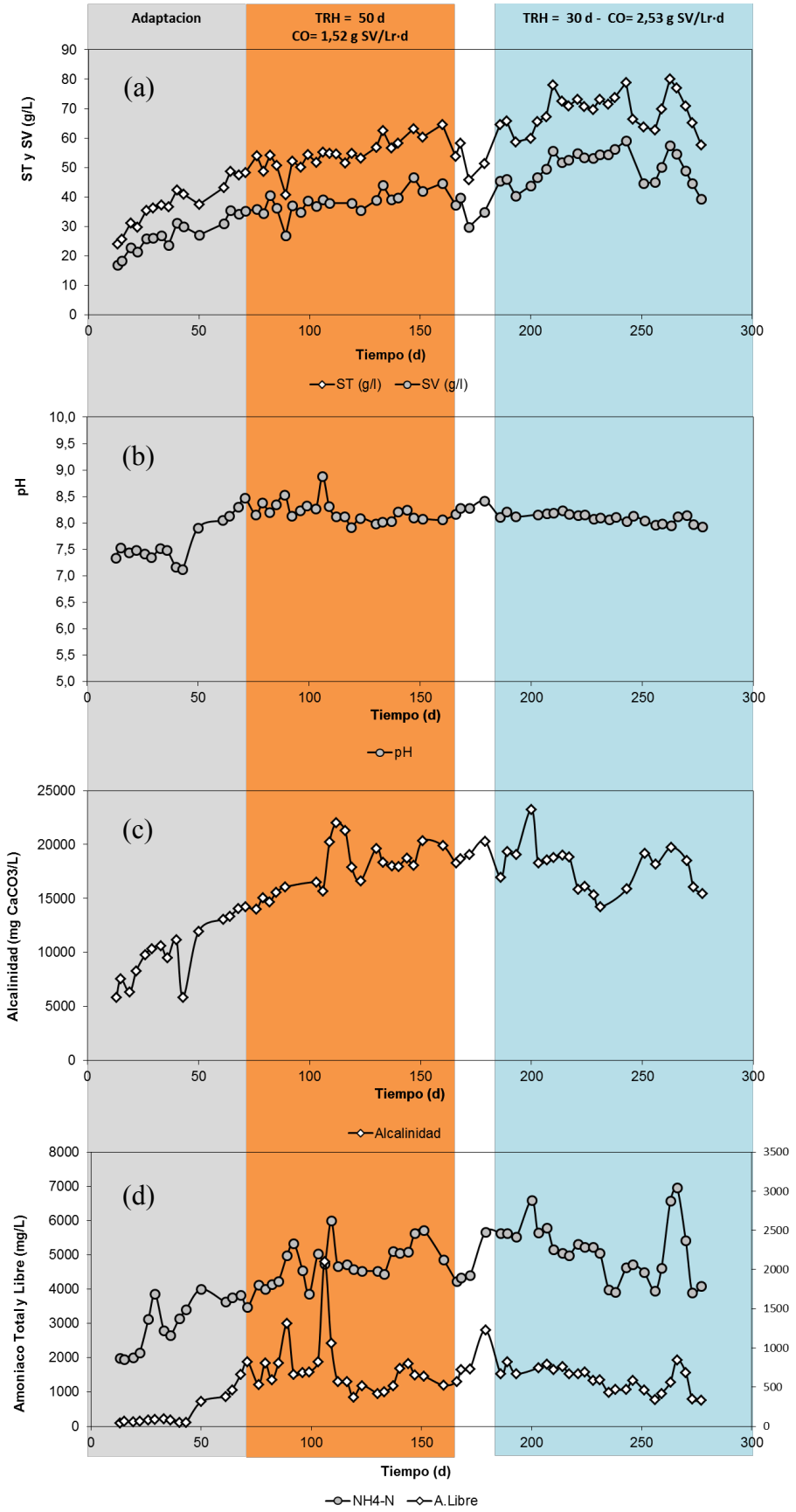

Figura 4.6. Evolución de los principales parámetros del reactor P-GA; (a) ST y SV (b), pH (c), Alcalinidad (d) y Amonio total y libre.

Estos elevados valores de alcalinidad total son frecuentes en reactores tratando purín como sustrato principal. Astals *et al*. (2011), indica valores de alcalinidad superiores a los 16 g $CaCO_3$/L en un reactor alimentado con purín en régimen mesofílico. De igual manera, Lobato *et al*. (2010) también observaron valores de alcalinidad entre 17 - 19 g $CaCO_3$/L en ensayos de co-digestión de purín y glicerina. Cuando las proteínas presentes en el sustrato son degradadas, el amonio es producido en forma de bicarbonato amónico (NH_4HCO_3), que incrementa la capacidad tampón del reactor (Gallert *et al*., 1998). La importancia del sistema tampón $HCO_3^-/CO_3^=$ en este tipo de reactores es menor, siendo el sistema NH_4^+/NH_3 y la concentración de AGV lo que determina el pH del reactor (Georgacakis *et al*., 1982; Paul y Beauchamp, 1989).

Tabla 4.5. Principales parámetros analizados en el reactor P-GA

Parámetro	***TRH 50d*** *(d 72-172)*	***TRH 30 d*** *(d 190-280)*
ST (g/L)	48,2 ± 10,3	69,5 ± 6,3
SV (g/L)	33,7 ± 7,3	50,5 ± 5,6
DQO (g/L)	43,4 ± 17,1	57,3 ± 22,0
Alcalinidad Total (g $CaCO_3$/L)	14,9 ± 4,6	17,9 ± 2, 2
pH	8,0 ± 0,4	8,1 ± 0,1
NH_4-N (g/L)	4,1 ± 1,0	5,1 ± 0,8
FA (mg/L)	558 ± 405	581 ± 157
% Destrucción SV	54,7	32,0
AGV (mg/L)		
Acético	1 085 ± 1 041	1 877 ± 924
Propiónico	907 ± 863	168 ± 187
Isobutírico	202 ± 608	55 ± 234
Butírico	134 ± 376	29 ± 68

En lo que respecta al amonio (Figura 4.6d), podemos observar como también aumenta durante la primera parte del ensayo, hasta alcanzar valores entre 4 y 5 g/L. En la segunda parte del ensayo, tras la reducción del TRH, se observa un aumento de la concentración de amonio acompañado de mayor inestabilidad, llegando hasta los 7 g/L en la parte final del ensayo.

Una inhibición causada por los elevados valores de amonio alcanzados en la parte final del experimento podrían explicar la inestabilidad y la caída de la producción observadas en la parte final del ensayo. La producción específica durante el TRH a 30 días fue de 468 L CH_4/kg SV, considerablemente inferior a la observada para el TRH a 50 d (532 L CH_4/kg SV), lo cual indica una reducción en la conversión de los SV alimentados a metano.

Existe una amplia variabilidad de concentraciones de amonio indicadas como inhibitorias. Según McCarty (1964), cualquier proceso de DA, independientemente del pH es inhibido a concentraciones superiores a los 3 g/L. Hobson y Shaw (1976) también indican concentraciones inhibitorias de amonio para valores entre 2,5 y 3,3 g/L. A pesar de estos valores, la adaptación de los microorganismos desempeña un papel determinante en la tolerancia a concentraciones elevadas de amonio (Chen *et al*., 2008; Hansen *et al*., 1999), existiendo numerosos autores que no observaron signos de inhibición en la digestión de purines, con niveles de amonio entre 3 y 4 (Angelidaki y Ahring, 1993; Sung y Liu, 2003) e incluso entre los 4 y 6 g/L (Cuetos *et al*., 2011; Fierro *et al*., 2014; Lobato *et al*., 2010).

Además de la concentración total de amonio en el reactor es necesario considerar la concentración del NH_3, o amoniaco libre. Debido a su facilidad para atravesar las paredes celulares de las bacterias, el amoniaco libre es el responsable principal de la inhibición por amonio (Chen *et al*., 2008; Rajagopal *et al*., 2013). Su concentración depende de la temperatura, el pH y la concentración de amonio total del reactor.

Al igual que ocurre con el amonio total, existe un amplio rango de valores inhibidores del proceso de DA, que oscilan entre los 150 - 200 mg/L (Braun *et al*., 1981; Bujoczek *et al*., 2000), y valores que superan los 1 000 mg/L (Hansen *et al*.,

1998; Lobato *et al*., 2010). La adaptación de las poblaciones microbianas es determinante para la fijación del umbral de inhibición.

Si bien no se observan cambios significativos en los niveles de amonio libre en el reactor a lo largo del ensayo tras superar los periodos de adaptación, los valores alcanzados de amoniaco podrían explicar la acumulación inicial de acético en el reactor tras superar el paso de degradación de propiónico. Esta inhibición es especialmente importante sobre los metanógenos acetoclásticos (Hansen *et al*., 1998), lo cual explicaría la recurrente presencia de acético a lo largo de todo el ensayo, en particular durante la evaluación a un TRH de 50 d. La disminución del TRH a 30 días simplemente agrava el problema.

4.4.2.2 Co-digestión de Purín y Glicerina B (P-GB)

En este caso fue necesario un periodo de adaptación de tan solo 16 días para lograr la aclimatación de los microrganismos. Durante este periodo se incrementó progresivamente la carga orgánica desde 1,47 a 2,45 g SV/Lr d. Una vez se alcanzó una producción de biogás estable, comenzó el periodo de evaluación correspondiente a un tiempo de retención hidráulica de 30 días.

La Figura 4.7a muestra la evolución de la producción diaria de biogás y el contenido en metano durante el ensayo. Durante el periodo de adaptación se observó un incremento en la producción de biogás hasta alcanzar un máximo local de producción de 3,3 L/d de biogás en el día 10. Cuando la producción de biogás fue relativamente estable se dio comienzo al régimen normal de funcionamiento del reactor a un TRH de 30 días, el cual se mantuvo hasta el final del experimento.

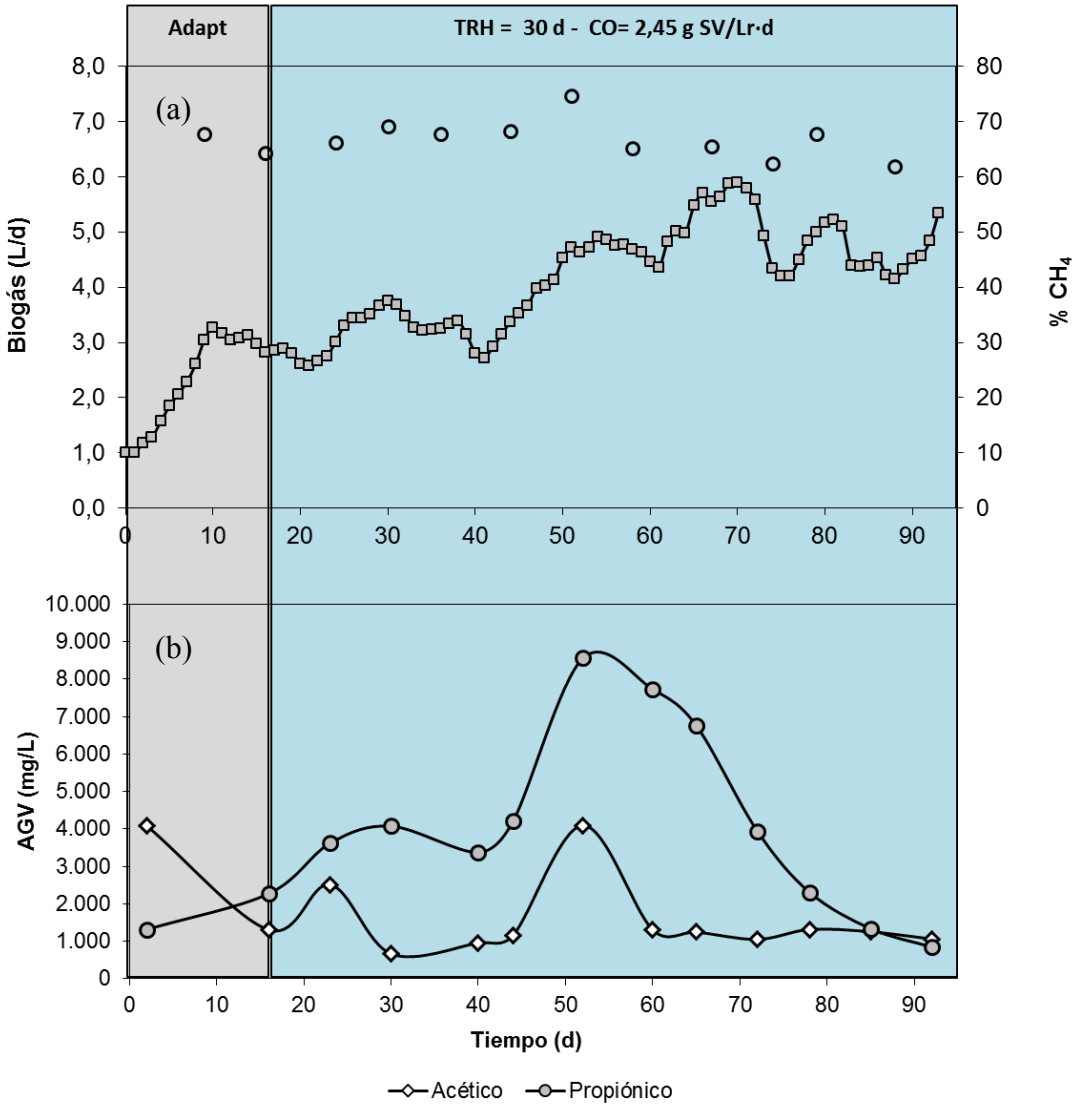

Figura 4.7. (a) Producción diaria de biogás y (b) contenido en metano.

Durante el periodo de evaluación se puede observar como la producción de biogás aumentó progresivamente durante los primeros 50 días de funcionamiento, pasando de valores de producción de 3 a 5 L/d. A partir del día 50 se observa un periodo relativamente estable hasta el final del ensayo. El contenido en metano durante todo el ensayo se mantuvo entre 63 y 70%. La Tabla 4.6 muestra los valores medios relativos a la producción de biogás para el periodo comprendido entre los días 50 y 93 de ensayo.

Tabla 4.6. Principales parámetros de la producción de biogás para el reactor P-GB

Parámetro	***TRH 30 d*** *(d 50-92)*
Biogás (L/d)	4,9 ± 0,7
% CH_4	66,3 ± 4,7
H_2S (ppm)	1 200 ± 187
Rendimiento (L CH_4/Lr d)	1,1 ± 0,1
PEG (L CH_4/kg SV)	441 ± 94
P. Específica (L CH_4/kg MF)	32,5 ± 6,5

Al igual que en el reactor anterior alimentado con purín y glicerina (P-GA) se observa como los principales AGV presentes en el reactor fueron acético y propiónico (Figura 4.7b). Sin embargo, en este caso, el propiónico es el componente mayoritario durante todo el ensayo.

La concentración de propiónico aumenta de manera significativa a partir del día 40, pasando de concentraciones inferiores a 4 g/L hasta alcanzar 9 g/L el día 52. Este periodo coincide con un aumento significativo de la producción de biogás y la posterior estabilización de la producción a medida que el contenido en AGV disminuye hasta valores inferiores a 1 g/L de propiónico y acético. A excepción del periodo de máxima producción de ácido propiónico, que da lugar a un aumento de la concentración de acético, la presencia de este ácido graso se mantuvo constante en 1 g/L durante la mayor parte del ensayo.

La evolución de los AGVs sugiere que durante la primera parte del ensayo, los microorganismos degradadores del propiónico no se encuentran en cantidades suficientes para degradar todo el propiónico generado en el reactor como consecuencia de la acidificación de la glicerina. A medida que estas poblaciones aumentan se observa una reducción de los niveles de propiónico en el reactor, acompañado de un aumento de la producción de biogás, y en menor medida de la concentración de acético. La

reducción del contenido en AGV a partir del día 60 coincide con el periodo de mayor producción de gas del reactor.

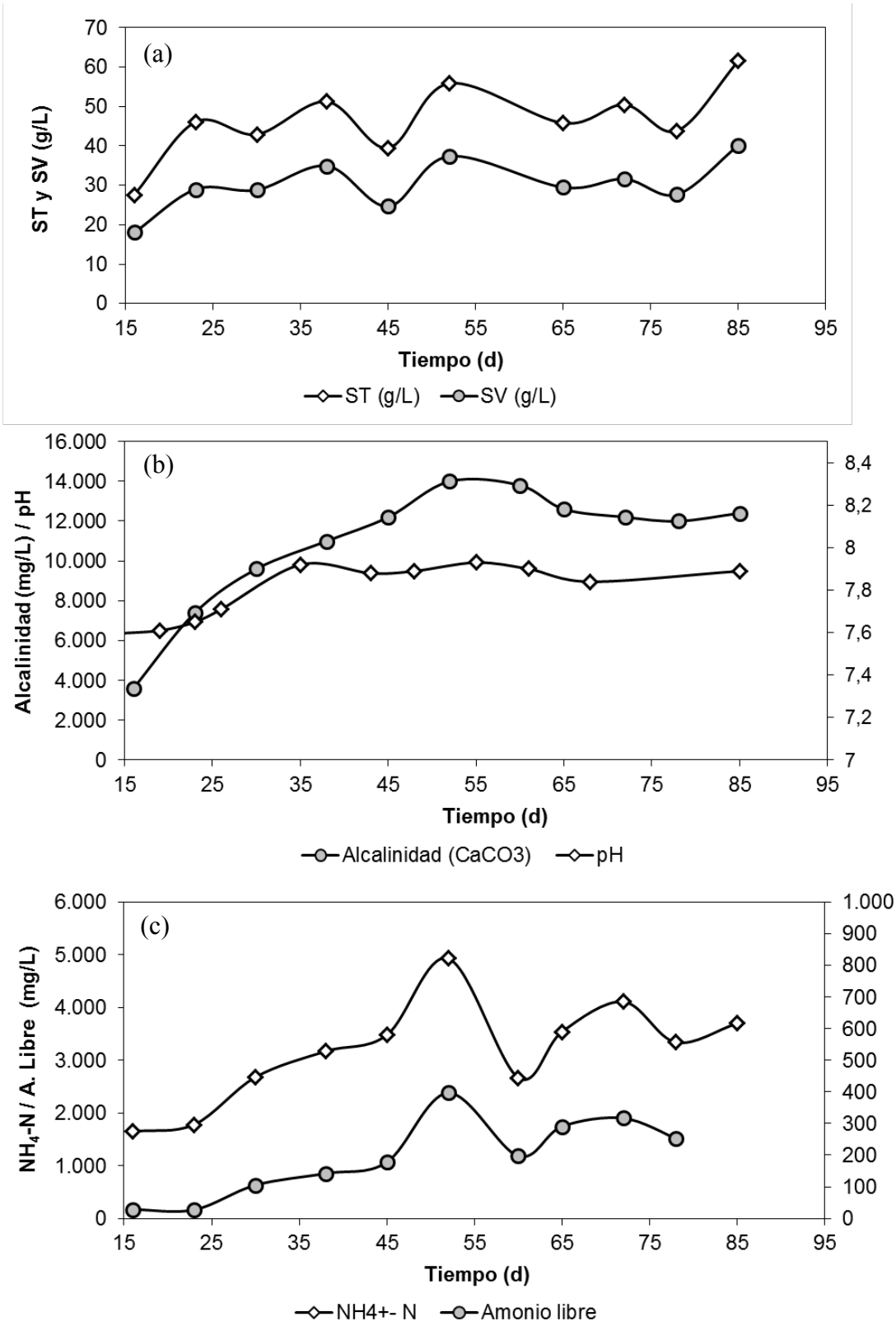

Figura 4.8. Evolución del contenido en (a) ST y SV (b), alcalinidad, pH (c), y amonio en el reactor operando con GB como co-sustrato.

La Figura 4.8a muestra la evolución de los sólidos durante el ensayo. En contenido medio del digerido del reactor fue de 50,4 g ST/L y 32,2 g SV/L, lo cual supone un valor de destrucción de sólidos del 56%. Al igual que en el reactor anterior, se observa un incremento progresivo en el contenido en sólidos como consecuencia del elevado contenido en la alimentación (94,2 g ST/L y 73,5 g SV/L)

Respecto de la evolución del pH y alcalinidad del sistema (Figura 4.8b), se observa un comportamiento similar al reactor anterior. El pH aumenta progresivamente durante los primeros 35 días de ensayo, hasta estabilizarse en un valor de 7,9 unidades. La alcalinidad del sistema sigue una tendencia similar, aumentando durante la primera mitad del ensayo hasta alcanzar valores superiores a los 14 g $CaCO_3$ equivalentes. Tal y como se explicó en el apartado anterior, la elevada capacidad tampón de los reactores tratando estiércoles y purines, permite reducir el efecto de la acumulación de AGV, permitiendo que el reactor mantenga un pH estable durante el proceso a pesar de alcanzar valores de hasta 8 500 mg/L de ácido propiónico.

Con respecto al amonio, se observa también un incremento hasta el día 55, alcanzando un valor máximo de 5 g/L. Tras este periodo la concentración se redujo, manteniéndose relativamente estable durante el resto del ensayo, con valores entre los 3 y 4 g/L. La concentración de amonio libre en el sistema se mantuvo en valores próximos a los 300 mg/L. Los valores promedio de las analíticas realizadas para el reactor P-GB calculados desde el día 50 se muestran en la Tabla 4.7. Los valores entregados en la tabla son indicativos de que el proceso de digestión se mantiene en condiciones estables, si bien los contenidos medios en AGV son relativamente altos, indicando que no todo el sustrato puede ser degradado en el tiempo de operación del sistema. Aunque se logra una destrucción significativa de sólidos en el reactor, una fracción importante de la materia orgánica permanece el sistema como ácidos orgánicos. Si bien es cierto, que la tendencia de la concentración de ácido propiónico en el reactor es decreciente, al final del proceso de evaluación, el contenido de este ácido sigue siendo alto.

Tabla 4.7. Parámetros de funcionamiento de los reactores evaluados (promedios calculados desde el día 50

Parámetros	***TRH 30 d*** *(d 50-92)*
ST (g/L)	51,51 ± 7,30
SV (g/L)	33,27 ± 5,32
DQO (g O_2/L)	35,2 ± 2,5
Alcalinidad Total (g $CaCO_3$/L)	12,83 ± 0,85
pH	7,90 ± 0,02
NH_4-N (mg/L)	3 715 ± 761
FA (mg/L)	291 ± 74
% Destrucción de SV	54,7
AGV (mg/L)	
Acético	1 621 ± 1 097
Propiónico	4 500 ± 3 175

4.4.2.3 Comparación de los resultados obtenidos en la co-digestión de purín y glicerinas

Los resultados obtenidos en lo que a producción de biogás se refiere fueron muy similares para ambos reactores, registrando una producción de 1,70 L/Lr d para P-GA y 1,63 L/Lr d para el reactor P-GB. Estos resultados son ligeramente superiores a los obtenidos por Astals *et al*. (2012) en la co-digestión de purín y glicerina al 5% (1,2 - 1,5 L biogás/Lr d), y Lobato *et al*. (2010), también para una co-digestión de purín y glicerina al 5% con un TRH de 30 días (1,3 L biogás/Lrd).

A pesar de esta semejanza en los valores promedio de producción de biogás, el comportamiento de ambos reactores fue considerablemente distinto. Mientras que para una carga orgánica similar, el reactor P-GA muestra una marcada inestabilidad en la evaluación a un TRH de 30 días, con una producción de biogás marcadamente descendente y la acumulación de ácido acético como consecuencia de una posible

inhibición por amonio. Por el contrario, el reactor P-GB, se mantuvo estable a una carga similar, mostrando una mayor estabilidad

La acumulación de ácido acético, y la ausencia de propiónico en la parte final del ensayo en el reactor P-GA es la principal diferencia entre el comportamiento de ambos reactores. Esto unido a la mayor concentración de amonio sugiere una posible inhibición de las poblaciones metanógenas acetoclásticas como una posible explicación para la inestabilidad y caída de la producción del reactor P-GA.

En los ensayos de co-digestión realizados con diferentes cantidades de glicerina, Astals *et al*. (2012), observaron considerables problemas de adaptación para el reactor con un 5% de glicerina, sugiriendo un límite un 4% para que el proceso de digestión se realice adecuadamente. En este caso los autores indican que la glicerina aportaba el 80% de los SV alimentados al reactor, mientras que en este caso el aporte de la glicerina es un 48,5 y 42,4% para P-GA y P-GB respectivamente, debido a la diferencia en el contenido en sólidos del purín empleado en este ensayo. El mayor aporte de SV del purín dota al reactor también de una mayor alcalinidad, lo cual permitió al reactor P-GB operar de manera estable a un contenido en glicerina mayor. Sin embargo, para condiciones similares, la alcalinidad alcanzada en el reactor P-GA fue significativamente mayor, coincidiendo también con los valores de pH y por tanto de amoniaco libre. De este modo, este comportamiento está asociado al tipo de glicerina aportada.

4.5 CONCLUSIONES

4.5.1 Respecto a los ensayos en discontinuo

Los ensayos de biodegradabilidad demostraron que la glicerina más refinada (GA) necesitó un periodo de adaptación en el cual la producción de biogás fue nula. Por el contrario la glicerina con menor grado de refinado (GB) presentó mayor producción de biogás.

Los ensayos realizados a diferentes concentraciones de glicerina (4 - 16%), no presentaron señal alguna de inhibición. El incremento de la producción de biogás observada entre los distintos ensayos de co-digestión se debe al reemplazo de parte del purín por glicerina en la muestra ensayada. El aumento de la producción de biogás fue de 1,5 - 2 veces con respecto a la digestión individual del purín, gracias a la adición de un co-sustrato con una elevada producción específica de gas. Estos ensayos también demostraron que no hubo un efecto sinérgico en la co-digestión.

4.5.2 Respecto a los ensayos en semi-continuo

La co-digestión de purín y glicerina puede realizarse con un aporte de glicerina de un 5%, si bien el origen y las características de la glicerina pueden influir en la cantidad admisible en el digestor.

La glicerina con mayor grado de refinado presentó problemas para su digestión en las pruebas de biodegradabilidad y en su posterior ensayo en semi-continuo, siendo necesario emplear un TRH de 50 días, en el cual el funcionamiento del reactor fue más estable.

El incremento en la producción de biogás, como resultado de la adición de glicerina, ha permitido alcanzar valores de producción de biogás de 39,5 L CH_4/L_{alim} para P-GA a TRH de 50 días, y 32,5 L CH_4/L_{alim} para P-GB a TRH 30 días. Estos valores de producción se encuentran por encima del umbral mínimo que permitiría la viabilidad económica de una planta de biogás.

4.6 BIBLIOGRAFÍA

Álvarez, J.A., Otero, L., Lema, J.M., 2010. A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. Bioresour. Technol. 101, 1153–1158. doi:10.1016/j.biortech.2009.09.061

Amon, T., Amon, B., Kryvoruchko, V., Bodiroza, V., Pötsch, E., Zollitsch, W., 2006. Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation. Int. Congr. Ser. 1293, 217–220. doi:10.1016/j.ics.2006.03.007

Angelidaki, I., Ahring, B.K., 1993. Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. Appl. Microbiol. Biotechnol. 38, 560–564.

Angelidaki, I., Ellegaard, L., 2003. Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants. Appl. Biochem. Biotechnol. 109, 95–105.

Asam, Z.-Z., Poulsen, T.G., Nizami, A.-S., Rafique, R., Kiely, G., Murphy, J.D., 2011. How can we improve biomethane production per unit of feedstock in biogas plants? Appl. Energy 88, 2013–2018. doi:10.1016/j.apenergy.2010.12.036

Astals, S., Ariso, M., Galí, A., Mata-Alvarez, J., 2011. Co-digestion of pig manure and glycerine: Experimental and modelling study. J. Environ. Manage. 92, 1091–1096.

Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., Mata-Alvarez, J., 2012. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. Bioresour. Technol. 110.

Braun, R., Huber, P., Meyrath, J., 1981. Ammonia toxicity in liquid piggery manure digestion. Biotechnol. Lett. 3, 159–164. doi:10.1007/BF00239655

Bujoczek, G., Oleszkiewicz, J., Sparling, R., Cenkowski, S., 2000. High Solid Anaerobic Digestion of Chicken Manure. J. Agric. Eng. Res. 76, 51–60. doi:10.1006/jaer.2000.0529

Castrillón, L., Fernández-Nava, Y., Ormaechea, P., Marañón, E., 2013. Methane production from cattle manure supplemented with crude glycerin from the biodiesel industry in CSTR and IBR. Bioresour. Technol. 127, 312–317. doi:10.1016/j.biortech.2012.09.080

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Bioresour. Technol. 99, 4044–4064. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057

Cuetos, M.J., Fernández, C., Gómez, X., Morán, A., 2011. Anaerobic co-digestion of swine manure with energy crop residues. Biotechnol. Bioprocess Eng. 16, 1044–1052.

Fierro, J., Martínez, E.J., Morán, A., Gómez, X., n.d. Valorisation of used cooking oil sludge by co-digestion with swine manure. Waste Manag. doi:10.1016/j.wasman.2014.02.006

Fountoulakis, M.S., Petousi, I., Manios, T., 2010. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. Waste Manag. 30, 1849–1853. doi:10.1016/j.wasman.2010.04.011

Gallert, C., Bauer, S., Winter, J., 1998. Effect of ammonia on the anaerobic degradation of protein by a mesophilic and thermophilic biowaste population. Appl. Microbiol. Biotechnol. 50, 495–501. doi:10.1007/s002530051326

Georgacakis, D., Sievers, D.M., Iannotti, E.L., 1982. Buffer stability in manure digesters. Agric. Wastes 4, 427–441. doi:10.1016/0141-4607(82)90038-5

Hansen, K.H., Angelidaki, I., Ahring, B.K., 1999. Improving thermophilic anaerobic digestion of swine manure. Water Res. 33, 1805–1810. doi:10.1016/S0043-1354(98)00410-2

Hansen, K.H., Angelidaki, I., B. K. Ahring, 1998. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia. Water Res. 32, 5–12. doi:10.1016/S0043-1354(97)00201-7

Hobson, P.N., Shaw, B.G., 1976. Inhibition of methane production by Methanobacterium formicicum. Water Res. 10, 849–852. doi:10.1016/0043-1354(76)90018-X

Holm-Nielsen, J.B., Al Seadi, T., Oleskowicz-Popiel, P., 2009. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. Bioresour. Technol., OECD Workshop: Livestock Waste Treatment Systems of the Future: A Challenge to Environmental Quality, Food Safety, and Sustainability 100, 5478–5484. doi:10.1016/j.biortech.2008.12.046

Lobato, A., Cuetos, M.J., Gómez, X., Morán, A., 2010. Improvement of biogas production by co-digestion of swine manure and residual glycerine. Biofuels 1, 59–68.

Martín-González, L., Colturato, L.F., Font, X., Vicent, T., 2010. Anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste with FOG waste from a sewage treatment plant: recovering a wasted methane potential and enhancing the biogas yield. Waste Manag. 30, 1854–1859. doi:10.1016/j.wasman.2010.03.029

Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Macé, S., Astals, S., 2011. Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling. Crit. Rev. Biotechnol. 31, 99–111. doi:10.3109/07388551.2010.525496

McCarty, P.L., 1964. Anaerobic waste treatment fundamentals. Public Works 95, 107–112.

Ministry of Agriculture Food and Environment, 2007. Inventario Nacional de Emisiones a la Atmósfera 1990-2009 en el territorio español.

Murto, M., Bjornsson, L., Mattiasson, B., 2004. Impact of food industrial waste on anaerobic co-digestion of sewage sludge and pig manure. J. Environ. Manage. 70, 101–107.

Panichnumsin, P., Nopharatana, A., Ahring, B., Chaiprasert, P., 2010. Production of methane by co-digestion of cassava pulp with various concentrations of pig manure. Biomass Bioenergy 34, 1117–1124. doi:10.1016/j.biombioe.2010.02.018

Paul, J.W., Beauchamp, E.G., 1989. Relationship between volatile fatty acids, total ammonia, and pH in manure slurries. Biol. Wastes 29, 313–318. doi:10.1016/0269-7483(89)90022-0

Rajagopal, R., Massé, D.I., Singh, G., 2013. A critical review on inhibition of anaerobic digestion process by excess ammonia. Bioresour. Technol. 143, 632–641. doi:10.1016/j.biortech.2013.06.030

Sosnowski, P., Wieczorek, A., Ledakowicz, S., 2003. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. Adv. Environ. Res. 7, 609–616. doi:10.1016/S1093-0191(02)00049-7

Sung, S., Liu, T., 2003. Ammonia inhibition on thermophilic anaerobic digestion. Chemosphere 53, 43–52. doi:10.1016/S0045-6535(03)00434-X

Capítulo 5

CO-DIGESTIÓN DE LA FRACCIÓN ORGÁNICA DE RESIDUOS SÓLIDOS URBANOS (FORSU) Y GLICERINA

5.1 INTRODUCCIÓN

El proceso de digestión anaerobia (DA) constituye una de las principales alternativas para el tratamiento y valorización de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos (FORSU). La vía tradicional de gestión del FORSU era su vertido controlado en vertederos. Esta práctica ha sido identificada como la mayor fuente antropogénica de emisión de metano, un gas con un potencial de contribución al efecto invernadero 25 veces superior al CO_2 (Nasir *et al.*, 2012).

Generalmente la DA del FORSU es problemática debido a las características del sustrato; elevado contenido en ST (30-50%) y elevada relación C/N (Hartmann *et al.*, 2002), además de la deficiencia de macro y micronutrientes, que provoca desequilibrios en el proceso de DA dando lugar al colapso del reactor tras periodos prologados de operación (Banks *et al.*, 2012). Sin embargo, la co-digestión de la fracción orgánica de los residuos sólidos urbanos es especialmente atractiva debido a los beneficios que se pueden obtener con relación a la disminución del posible potencial de toxicidad de algunos compuestos, mejoras en los balances de nutrientes y fundamentalmente, incrementos en la carga orgánica de material fácilmente biodegradable.

Numerosos sustratos han sido estudiados en co-digestión con FORSU, tales como lodos de depuradora (Cabbai *et al*., 2013; Krupp *et al*., 2005; Marañón *et al*., 2012), estiércoles y purines (Castrillón *et al*., 2013), residuos de matadero (Cuetos *et al*., 2009, 2008), o residuos con elevado contenido en grasas (Fernández *et al*., 2005; Martín-González *et al*., 2010).

La glicerina residual generada en el proceso de producción del biodiesel es un residuo fácilmente degradable y cuya adición como co-sustrato en pequeñas cantidades permite incrementar notablemente la producción de biogás, siendo su utilización interesante para la mejora del funcionamiento del sistema convencional de digestión en fase húmeda del FORSU y en particular para los casos en los que se cuenta con un sistema centralizado de tratamiento de residuos sólidos urbanos. La separación mecánica puede resultar difícil de modo que el material orgánico obtenido en algunos casos puede presentar un contenido bajo en material biodegradable.

Este estudio se realizó como parte del Proyecto TRACE "Optimización del proceso de digestión anaerobia de la fracción orgánica separada mecánicamente" en colaboración con la empresa UTE LEGIO VII gestora de la planta de tratamiento de residuos de León.

5.2 OBJETIVOS

El objetivo de este capítulo es evaluar el efecto de la adición de glicerina como co-sustrato en la digestión de FORSU en un sistema convencional de digestión en fase húmeda.

Se realizaron ensayos de co-digestión en discontinuo empleando diferentes proporciones de FORSU y glicerina, a fin de determinar la proporción optima de co-sustrato. Posteriormente se realizó el ensayo de co-digestión en semi-continuo, empleando un reactor de mezcla completa de 25 L, para determinar las condiciones necesarias para lograr un funcionamiento estable del sistema y cuantificar el incremento en la producción de biogás que se tiene lugar por la adición de glicerina.

5.3 MATERIAL Y MÉTODOS

5.3.1 Descripción de los sustratos empleados

El inóculo empleado en los ensayos con FORSU se obtuvo del digestor existente en el centro de tratamiento de residuos (CTR) situado en San Román de la Vega (León), con el objeto de emplear un inoculo adaptado al sustrato a tratar. Este inóculo presentó un contenido en solidos de 11,2 g ST/L y 7,1 g SV/L.

El sustrato principal empleado fue la fracción orgánica separada mecánicamente de los residuos sólidos urbanos recibidos en el CRT. Esta fracción presentó un contenido en ST de 25,7 g/L y 13,1 g/L de SV.

La glicerina se obtuvo de la planta de producción de biodiesel Biocyl, y su contenido en ST y SV fue de 588,6 g/L y 535,4 g/L respectivamente. La glicerina presentó un contenido en catalizador de 1,2% y un contenido en jabones de 12,8%. La Tabla 5.1 muestra la caracterización básica del FORSU y del inóculo.

Tabla 5.1. Caracterización del inóculo y el FORSU

Muestra	***Inóculo***	***FORSU***
C (%)	0,51	0,65
N total (%)	0,33	0,29
C/N	2,01	2,86
N amoniacal (%)	0,26	0,23
Ca (ppm)	47,8	911
Ni (ppm)	1 623	1 541
K (ppm)	2 206	2 080
Cl^- (ppm)	3 598	3 407
SO_4^{2-} (ppm)	99	< 20
NO_3^- (ppm)	< 20	< 20
F^-(ppm)	< 20	< 20
PO_4^{3-} (ppm)	< 40	< 40

5.3.2 Metodología experimental

5.3.2.1 Ensayos de biodegradabilidad.

Los ensayos de biodegradabilidad realizados tuvieron como objeto determinar la mezcla óptima de fracción orgánica separada mecánicamente (FORSU) y glicerina

residual para el proceso de digestión. Para ello se evaluaron tres mezclas de glicerina y FORSU con un contenido en glicerina de un 2%, 4% y 6% en proporción volumétrica.

El ensayo se realizó en un baño termostatizado a 34 ± 1 ºC equipado con una placa agitadora, empleando como reactores matraces erlenmeyer de 250 mL de volumen. Como blanco se utilizó un matraz erlenmeyer que contenía únicamente inóculo, con el objeto de evaluar la producción de metano del inóculo y restar esta contribución del valor total de producción. Todos los ensayos se realizaron por duplicado, y sin suplemento alguno de nutrientes. Cuando fue necesario, se realizó la corrección del pH a 7 con una solución alcalina.

Las cantidades de sustrato e inóculo que se añadieron en cada erlenmeyer, fueron seleccionadas de modo que la relación inóculo/alimentación (I/A) fue de aproximadamente 1 (en base a sólidos volátiles). En la Tabla 5.2 se presenta la caracterización de la alimentación preparada para diferentes contenidos en glicerina. Los experimentos se mantuvieron operativos hasta que las producciones de biogás medidas fueron nulas y fueron desmontados progresivamente a medida que ello ocurría.

Tabla 5.2. Caracterización de las diferentes mezclas FORSU-Glicerina.

Parámetro	***Glicerina 6%***	***Glicerina 4%***	***Glicerina 2%***
ST (g/L)	59,4	48,2	36,9
SV (g/L)	44,4	34,0	23,5
pH	7,66	7,52	7,16

5.3.2.2 Ensayos en régimen semi-continuo

Los ensayos en régimen semi-continuo fueron realizados en una planta piloto diseñada para la producción de biogás mediante DA. La planta consta de dos reactores y un tanque de alimentación. Para estos ensayos se utilizó un reactor de mezcla completa con un volumen útil de 25 L.

Con base en los resultados obtenidos en los ensayos en discontinuo, la proporción volumétrica evaluada fue del 2% en glicerina. La alimentación se realizó en pequeños volúmenes cada 6 horas de forma automática mediante el sistema de inyección de la planta. El FORSU se mantuvo durante todo el ensayo en el tanque de almacenamiento a una temperatura de 4 ºC. La glicerina fue almacenada a temperatura ambiente, incorporándola al reactor de forma manual una vez al día. Se decidió no realizar la mezcla de FORSU y glicerina directamente en el tanque de alimentación debido a la separación de fases que tendría lugar a baja temperatura, y que haría imposible la alimentación homogénea del sustrato.

El reactor funcionó de forma continua durante 70 días, con un TRH de 21 días, lo cual permitió evaluar el funcionamiento del sistema durante tres TRH completos. El lote de FORSU utilizado en esta fase presentó un contenido en ST y SV de 24,2 g/L y 12,0 g/L respectivamente, mientras que la glicerina utilizada fue la misma que en el apartado anterior.

5.3.3 Metodología analítica

El seguimiento realizado a los ensayos en régimen discontinuo consistió en la medición diaria de la producción de biogás y el análisis de su composición (CH_4, CO_2, H_2, N_2) dos veces por semana. Una vez finalizado el ensayo se analizó el contenido en ácidos grasos volátiles (AGV), sólidos totales (ST) y volátiles (SV), demanda química de oxígeno (DQO), alcalinidad, amonio y pH, del digerido final obtenido.

El seguimiento sobre los ensayos en semi-continuo fue similar, midiendo diariamente el volumen de biogás producido y su composición aproximadamente cada tres días. Dos veces por semana se realizaron analíticas del digerido, evaluando los siguientes parámetros: pH, ST y ST, AGV, DQO, alcalinidad y amonio.

La metodología empleada en cada una de las técnicas analíticas realizadas se recoge en el capítulo de Material y Métodos.

5.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.4.1 Resultados de los ensayos en discontinuo

La duración de los experimentos fue similar para los sistemas con proporciones de glicerina de 2 y 4%, manteniéndose dichos reactores en funcionamiento durante 37 días. Los reactores con la mayor proporción en glicerina, cesaron la producción de biogás tras 13 días de experimentación. La Tabla 5.3 muestra la cantidad media de biogás producido en los ensayos. Se observa que el incremento en la cantidad de glicerina produjo una reducción de la producción específica de biogás, especialmente en el ensayo al 6%.

En ensayos previos asociados a la realización del proyecto se evaluó la producción de biogás en condiciones similares para el sustrato FORSU. En este caso, el valor obtenido de producción específica de metano fue de 236 mL CH_4/g SV_{alim}. Se produce entonces un considerable incremento en la producción de gas del residuo con la adición del co-sustrato.

Tabla 5.3. Características de la producción de biogás

Ensayo	***Biogás*** *(mL)*	***% CH_4***	***mL CH_4***	***PEG*** *(L CH_4/kg SV_{alim})*
2%	650	73	474	543
4%	569	73	415	496
6%	125	68	85	94

Los resultados correspondientes a los análisis de la fase líquida se presentan en la Tabla 5.4. No se observaron modificaciones en el pH de los sistemas con el transcurso de la digestión, sin embargo sí se pudo apreciar un incremento en el contenido de AGV con el aumento de la proporción de glicerina en el sistema. La acumulación de estos AGVs, principalmente acético y propiónico, no se tradujo en una

reducción del pH gracias a la elevada alcalinidad del inóculo utilizado. Sin embargo, no evitó los problemas de inhibición asociados al incremento en estos mismos ácidos.

Tabla 5.4. Características de la fase líquida al finalizar los ensayos de co-digestión en discontinuo

Muestra	***2%***	***4%***	***6%***	***Blanco***
DQO (g O_2/L)	7,9	10,2	10,2	6,4
pH	8,2	8,2	8,2	8,7
Alcalinidad (g $CaCO_3$/L)	11,7	11,1	10,8	11,5
Amonio (mg/L)	2 575	3 015	3 160	3 050
ST (g/L)	18,7	18,2	19,6	33,0
SV (g/L)	5,6	5,6	7,7	3,8
AGV (mg/L)				
Acético	84	236	369	23
Propiónico	41	146	179	14

5.4.2 Resultados bajo condiciones continuas de alimentación

Tras cargar el reactor con 25 L de inóculo, se mantuvo en adaptación durante una semana utilizando una alimentación de FORSU con 1% de glicerina. Tras este periodo de aclimatación se incrementó la proporción de glicerina hasta las condiciones deseadas en el ensayo. El pH del reactor en el momento del inicio del ensayo era de 8,1 unidades, produciéndose una ligera acidificación durante los 10 primeros días del ensayo, para posteriormente mantenerse estable durante todo el experimento en valores de 7,5 - 7,8. La carga orgánica evaluada en el ensayo con un 2% de glicerina fue de 1,2 g DQO/Lr d.

La Figura 5.1 muestra la evolución de la producción de biogás durante el ensayo. Puede observarse como la producción comenzó el tercer día de ensayo, aumentando

durante todo el periodo de aclimatación y parte del primer tiempo de retención hasta alcanzar un máximo relativo de 22 L de biogás el día 17 de ensayo. Posteriormente se produjo un descenso de producción ocasionado por la obstrucción del sistema de alimentación de la planta que hizo que no se alimentara la cantidad correcta durante dos días. Una vez el problema fue solucionado, el reactor mantuvo una producción estable, con un progresivo aumento en el volumen de gas generado diariamente que se mantuvo durante el segundo TRH evaluado. La producción media para el primer TRH de 21 días fue de 15,9 ± 3,3 L/d.

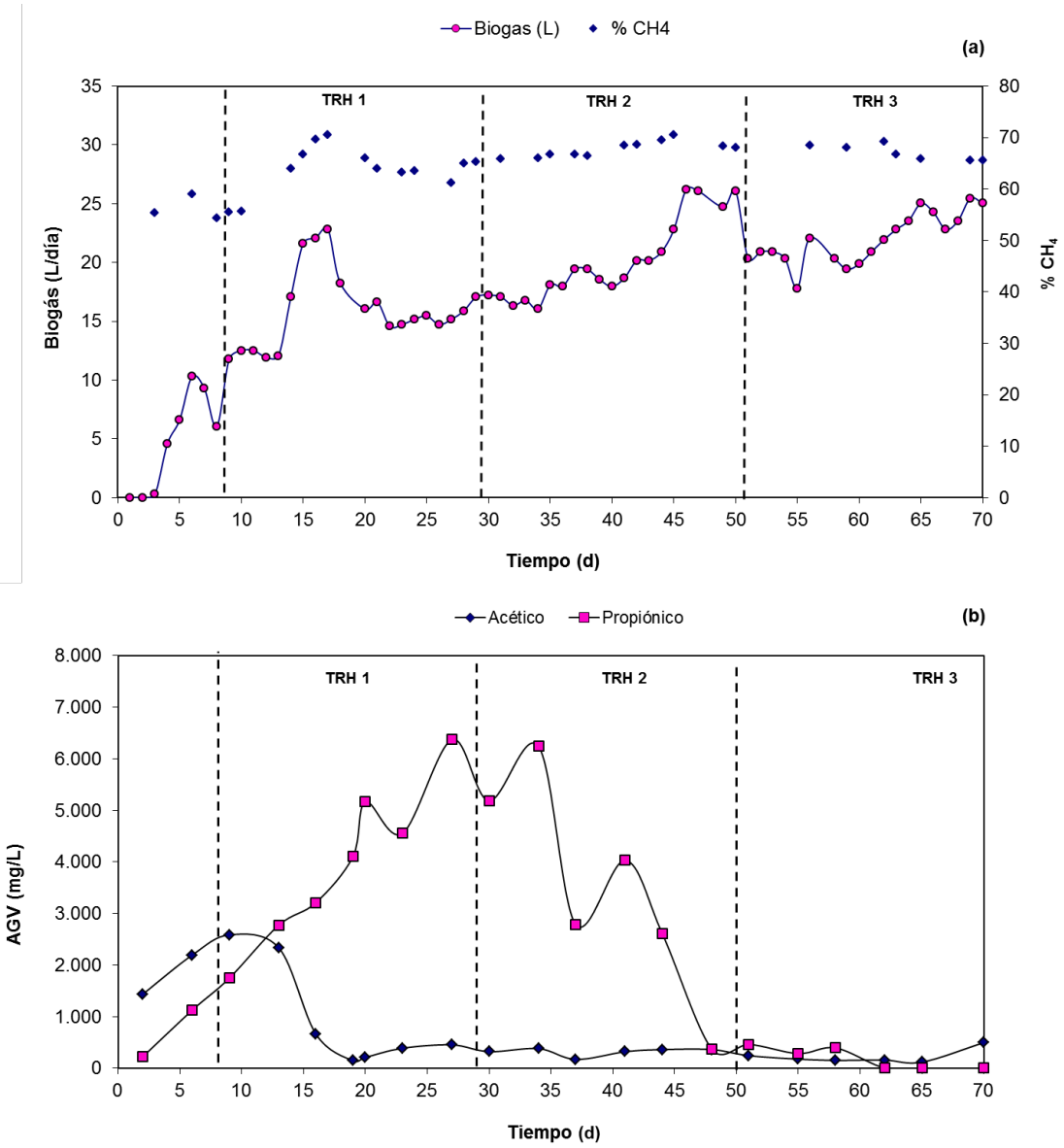

Figura 5.1. Producción diaria de biogás y AGV para el reactor FORSU+Glicerina

Durante el segundo TRH, la producción de biogás aumento significativamente, alcanzando las producciones máximas de todo el ensayo entre los días 45 - 50, con un

volumen de 26 L/d. Un nuevo problema con el sistema automático de alimentación ocasionó la disminución de la producción que puede observarse el día 50. Tras recuperar el régimen normal de alimentación, el reactor se recuperó volviendo a alcanzar valores próximos a los 25 L/d durante el final del ensayo.

Figura 5.1b muestra la evolución de la concentración de los ácidos grasos mayoritarios medidos en ensayo. La degradación de la glicerina en el reactor generó un incremento significativo de los niveles de propiónico en el sistema durante la primera mitad del ensayo, alcanzando valores entre 5 000 – 6 000 mg/L. Esta acumulación se debe a que la glicerina es un sustrato fácilmente degradable, siendo la conversión a ácido propiónico (y posteriormente a acético) una de las etapas más rápidas del proceso, y que convierte la metanogénesis en la etapa limitante (Astals *et al*., 2012; Fountoulakis *et al*., 2010; Lobato *et al*., 2010).

Durante el tercer TRH evaluado las concentraciones de acético y propiónico en el sistema son bajas, encontrándose en niveles normales que indican que el proceso de co-digestión es estable. Los valores relativos al funcionamiento del reactor para este periodo se recogen en la Tabla 5.5. El valor de producción específica obtenido para este periodo fue de 551 (L CH_4/kg SV), similar al valor obtenido en los ensayos en discontinuo. Este valor es significativamente mayor que los esperados en la digestión individual de FORSU, los cuales oscilan en régimen termofílico entre los 200 - 430 L CH_4/kg SV (Fountoulakis y Manios, 2009; Liu *et al*., 2006; Nasir *et al*., 2012).

Tabla 5.5. Valor medio de los parámetros de funcionamiento del proceso de digestión de FORSU y glicerina.

Parámetro	***TRH 30 d*** *(d 50-70)*
Biogás (L/d)	22,0 ± 2,1
% CH_4	67,1 ± 1,5
Rendimiento(L CH_4/Lr d)	0,59 ± 0,07
PEG (L CH_4/kg SV)	551 ± 63
P. Específica (L CH_4/kg MF)	12,4 ± 1,5

Este aumento se explica por el incremento en la carga orgánica alimentada al reactor, unido a la facilidad para la conversión en biogás que presenta la glicerina. Cabe destacar que de los 26,7 g SV alimentados diariamente al digestor, casi la mitad (47,6%) son aportados por el co-sustrato.

La Figura 5.2a muestra la evolución de los distintos parámetros evaluados en el reactor. Los valores promedio para cada TRH se recogen en la Tabla 5.6. Cabe destacar que el sistema no alcanza la estabilidad hasta el tercer TRH. Respecto al contenido en sólidos del reactor, se observa como aumenta progresivamente durante la fase de adaptación y el primer TRH, como consecuencia del bajo contenido en solidos del inóculo con el que se realizó el arranque. Posteriormente el contenido en sólidos se mantuvo estable, apreciándose una reducción en la parte final del ensayo como consecuencia de la diferencia entre los lotes de FORSU empleados en la alimentación durante ese periodo. El porcentaje de destrucción de SV durante el periodo de mayor estabilidad fue de un 67%.

Figura 5.2b muestra la evolución de la alcalinidad del sistema y el ratio de alcalinidad (RA) que relaciona la alcalinidad parcial e intermedia, siendo éste un indicador de la estabilidad del sistema (Astals *et al*., 2012; Fierro *et al*., 2014). Se considera que un proceso de digestión estable debe presentar valores inferiores a 0,4 (Astals *et al*., 2012; Ferrer *et al*., 2010). La evolución del RA durante el ensayo sugiere que el reactor alcanzó un funcionamiento estable en la parte final del ensayo.

En lo que respecta a la alcalinidad, se observa como ésta aumenta rápidamente con el inicio de la alimentación, manteniéndose en la mayor parte del ensayo por encima de los 10 g $CaCO_3$/L. Esta elevada alcalinidad permitió que el pH del reactor se mantuviera entre 7,6 y 7,8 durante todo el ensayo, a pesar de la acumulación inicial de acético y propiónico durante la primera fase.

La concentración de amonio (Tabla 5.6c) del reactor se mantuvo relativamente estable durante todo el ensayo, con valores que oscilaron entre los 2 600 – 2 800 mg/L, los cuales se encuentran fuera del rango de concentraciones susceptible de provocar problemas en el proceso de digestión (Chen *et al*., 2008; Hansen *et al*., 1998)

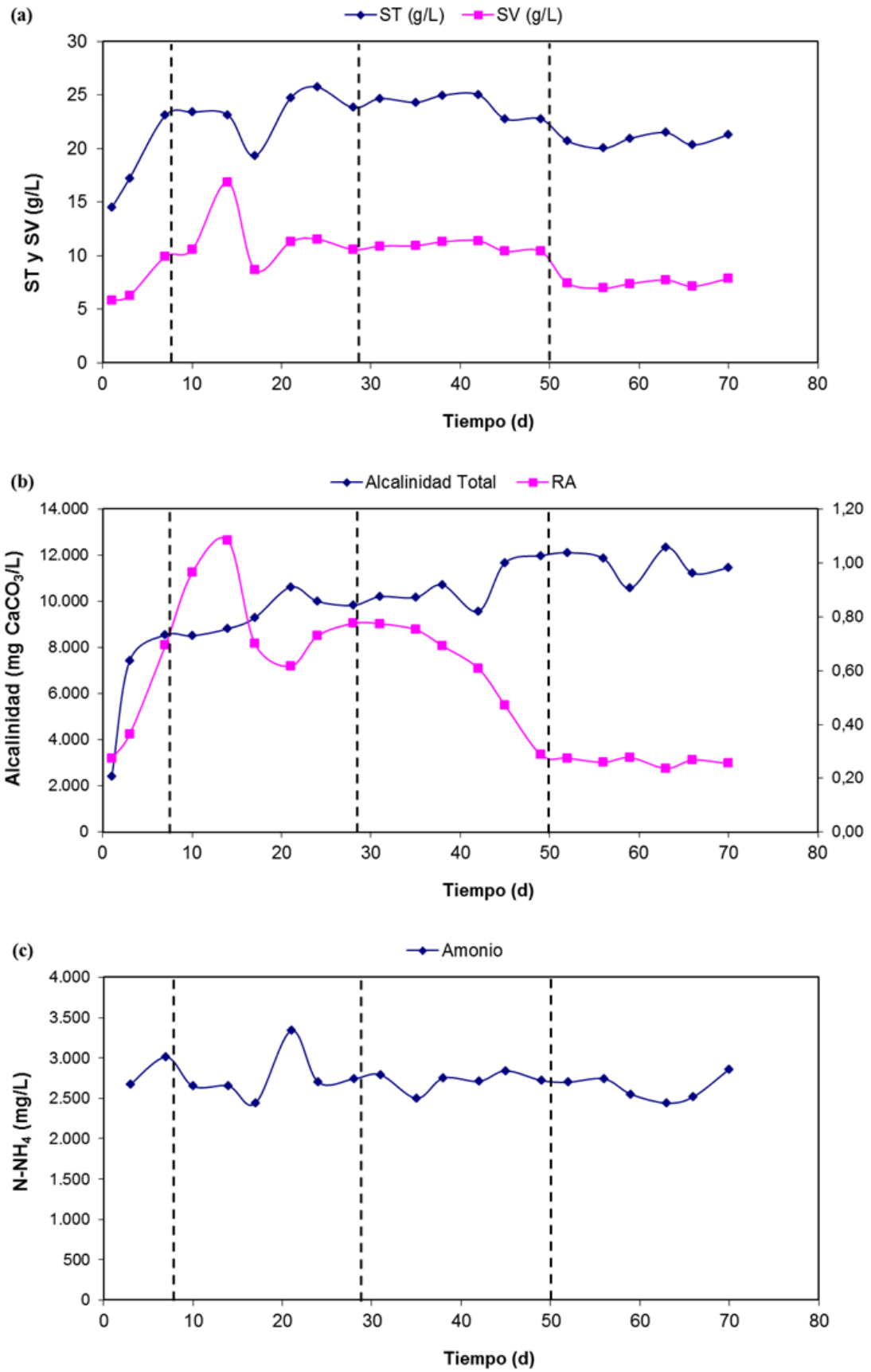

Figura 5.2. Evolución del contenido en ST y SV (a), alcalinidad (b), y amonio (c), para el reactor FORSU+glicerina

Tabla 5.6. Valor medio de los parámetros de funcionamiento del proceso de digestión de FORSU y glicerina

	TRH1	***TRH2***	***TRH3***
Alcalinidad (mg $CaCO_3$)	9 511 ± 789	10 717 ± 940	11 719 ± 646
Amonio (mg/L)	2 753 ± 306	2 718 ± 117	2 635 ± 158
ST (g/L)	23,4 ± 2,2	24,1 ± 1,1	20,8 ± 0,56
SV (g/L)	11,6 ± 1,8	10,9 ± 1,4	7,4 ± 0,34
DQO (g O_2/L)	21,55 ± 4,05	25,46 ± 1,30	18,54 ± 5,49
Acético	966	317	222
Propiónico	3 989	3 536	189

5.5 CONCLUSIONES

5.5.1 Respecto a los ensayos en discontinuo

Los ensayos de biodegradabilidad realizados a tres concentraciones de glicerina (2 - 6%) mostraron que la concentración más baja fue la generó un mayor volumen de biogás seguido del ensayo con un 4% de glicerina.

La concentración más alta evaluada (6%) obtuvo la menor producción de biogás. Las analíticas realizadas al final del ensayo muestran una concentración de AGV considerablemente alta, sugiriendo que la adición de glicerina fue excesivamente alta para este sustrato dado su bajo contenido en sólidos, lo cual provocó el fallo del sistema.

El contenido final de acético y propiónico en el ensayo realizado al 4% fue notablemente más alto que en el realizado al 2%. Esto indica también la presencia de problemas en el proceso de digestión, explicando porque la producción de biogás es más baja a pesar de la mayor concentración de glicerina añadida.

5.5.2 Respecto a los ensayos en semi-continuo

La co-digestión de FORSU fue realizada con éxito con un aporte de glicerina de un 2%. Si bien el reactor necesitó un periodo de adaptación, observándose durante la primera parte del ensayo una acumulación de ácido propiónico, tras un periodo de 2 TRH el reactor alcanzó un funcionamiento estable, alcanzando una producción máxima de 26 L, y una producción específica de 551 L CH_4/kg SV_{alim}.

El porcentaje de destrucción de solidos volátiles en el proceso fue de un 67%, indicando que el TRH de 21 días es adecuado para el contenido en glicerina evaluado.

5.6 BIBLIOGRAFÍA

Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., Mata-Alvarez, J., 2012. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. Bioresour. Technol. 110.

Banks, C.J., Zhang, Y., Jiang, Y., Heaven, S., 2012. Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations. Bioresour. Technol. 104, 127–135. doi:10.1016/j.biortech.2011.10.068

Cabbai, V., Ballico, M., Aneggi, E., Goi, D., 2013. BMP tests of source selected OFMSW to evaluate anaerobic codigestion with sewage sludge. Waste Manag. 33, 1626–1632. doi:10.1016/j.wasman.2013.03.020

Castrillón, L., Marañón, E., Fernández-Nava, Y., Ormaechea, P., Quiroga, G., 2013. Thermophilic co-digestion of cattle manure and food waste supplemented with crude glycerin in induced bed reactor (IBR). Bioresour. Technol. 136, 73–77. doi:10.1016/j.biortech.2013.02.076

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Bioresour. Technol. 99, 4044–4064. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057

Cuetos, M.J., Gómez, X., Otero, M., Morán, A., 2008. Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste (SHW) at laboratory scale: Influence of co-digestion with

the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). Biochem. Eng. J. 40, 99–106. doi:10.1016/j.bej.2007.11.019

Cuetos, M.J., Morán, A., Otero, M., Gómez, X., 2009. Anaerobic co-digestion of poultry blood with OFMSW: FTIR and TG–DTG study of process stabilization. Environ. Technol. 30, 571–582. doi:10.1080/09593330902835730

Fernández, A., Sánchez, A., Font, X., 2005. Anaerobic co-digestion of a simulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. Biochem. Eng. J. 26, 22–28. doi:10.1016/j.bej.2005.02.018

Ferrer, I., Vázquez, F., Font, X., 2010. Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. Bioresour. Technol. 101, 2972–2980. doi:10.1016/j.biortech.2009.12.006

Fierro, J., Martínez, E.J., Morán, A., Gómez, X., 2014. Valorisation of used cooking oil sludge by codigestion with swine manure. Waste Manag. doi:10.1016/j.wasman.2014.02.006

Fountoulakis, M.S., Manios, T., 2009. Enhanced methane and hydrogen production from municipal solid waste and agro-industrial by-products co-digested with crude glycerol. Bioresour. Technol. 100, 3043–3047. doi:10.1016/j.biortech.2009.01.016

Fountoulakis, M.S., Petousi, I., Manios, T., 2010. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. Waste Manag. 30, 1849–1853. doi:10.1016/j.wasman.2010.04.011

Hansen, K.H., Angelidaki, I., B. K. Ahring, 1998. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia. Water Res. 32, 5–12. doi:10.1016/S0043-1354(97)00201-7

Hartmann, H., Angelidaki, I., Ahring, B.K., 2002. Co-digestion of the organic fraction of municipal waste with other waste types, in: Mata-Alvarez, J. (Ed.), Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste. IWA Publishing, p. 181.

Krupp, M., Schubert, J., Widmann, R., 2005. Feasibility study for co-digestion of sewage sludge with OFMSW on two wastewater treatment plants in Germany.

Waste Manag., 1st UK Conference and Exhibition on Biodegradable and Residual Waste Management 25, 393–399. doi:10.1016/j.wasman.2005.02.009

Liu, D., D., L., J., Z.R., I., A., 2006. Hydrogen and methane production from household solid waste in the two-stage fermentation process. Water Res. 40, 2230–2236.

Lobato, A., Cuetos, M.J., Gómez, X., Morán, A., 2010. Improvement of biogas production by co-digestion of swine manure and residual glycerine. Biofuels 1, 59–68.

Marañón, E., Castrillón, L., Quiroga, G., Fernández-Nava, Y., Gómez, L., García, M.M., 2012. Co-digestion of cattle manure with food waste and sludge to increase biogas production. Waste Manag. 32, 1821–1825. doi:10.1016/j.wasman.2012.05.033

Martín-González, L., Colturato, L.F., Font, X., Vicent, T., 2010. Anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste with FOG waste from a sewage treatment plant: recovering a wasted methane potential and enhancing the biogas yield. Waste Manag. 30, 1854–1859. doi:10.1016/j.wasman.2010.03.029

Nasir, I.M., Ghazi, T.I.M., Omar, R., 2012. Production of biogas from solid organic wastes through anaerobic digestion: a review. Appl. Microbiol. Biotechnol. 95, 321–329. doi:10.1007/s00253-012-4152-7

Capítulo 6

CO-DIGESTION OF SWINE MANURE AND CRUDE GLYCERINE OBTAINED FROM BIODIESEL PRODUCTION. EFFECT OF INCREASING GLYCERINE RATIO OVER PROCESS PERFORMANCE

J. Fierro, C. Fernández, E.J. Martínez, X. Gómez,

Chemical and Environmental Bioprocess Engineering Department, Natural Resources Institute (IRENA), University of León, Av. de Portugal 41, 24071 León, Spain

Edition of this manuscript was in accordance with the scientific journal

ABSTRACT

Co-digestion of swine manure and crude glycerine from biodiesel production has been successfully attempted by many authors, reporting substantial increases in the biogas production. However the effectiveness of this co-digestion has been questioned, relating the increase in the biogas production to the addition of glycerol rather than the improvement in the manure degradation. In the present paper, the organic transformations undergone in the anaerobic digestion of pig manure and increasing amounts of glycerine (2-8%) were analysed using TG, FTIR and ^{1}H NMR techniques. A clear increase in the biogas production was observed with the addition of glycerine, up to 1.4 L CH_4/Lr d at 8%. The failure of the system was observed at this glycerine content due to the presence of sulfate reducing bacteria and foam formation. TG, FTIR, and ^{1}H NMR analysis performed on digestate samples showed that the increase in biogas production favoured by the addition of the co-substrate also caused the preferential degradation of glycerine and accumulation of proteins and aliphatic compounds. A post-estbalisation stage was necessary to complete the degradation process. Modifications in organic matter continued under this last stage although competition for substrate was observed in the last digestion period with sulfate reducing bacteria outcompeting methanogens.

Keywords

Crude glycerine, manure co-digestion, hydrogen sulfide, FTIR-NMR.

6.1 INTRODUCTION

Livestock farms are the major producers of organic wastes. The inappropriate management of these wastes may cause environmental problems such as water pollution and unpleasant odour emissions. However, these wastes can be considered as a valuable source of organic material and mineral nutrients for soil and crops if properly managed, therefore reducing the use of mineral fertilisers in agriculture. Anaerobic digestion (AD) has been recognised as a friendly technology with the capacity of highly reducing greenhouse gases (GHG) emissions thanks to the production of renewable energy. This technology offers a sustainable way of recycling nutrient and reducing the release of odours to the atmosphere.

Co-digestion of manures have been proposed as a way for increasing biogas yields and reducing the toxicity created by low C:N ratios in manure digestion systems (Cuetos *et al*., 2011; Murto *et al*., 2004). On the other hand, the great increase in the production of biodiesel in the last decade has caused an over-stock of glycerine that the existing market cannot absorb. The major fact of this situation is the fall of the price of the glycerine which has made this by-product to become a waste. Applications for crude glycerine are often limited due to the presence of methanol, water, inorganic salts, unreacted mono-, di- and triglycerides and methyl esters, and its refining to access the high-grade glycerine market is economically unfeasible (Johnson and Taconi, 2007). Glycerol is easily consumed by anaerobic microflora, and its co-digestion with swine manure (SM) has been successfully attempt by several authors (Astals *et al*., 2012; Fountoulakis *et al*., 2010; Lobato *et al*., 2010; Nuchdang and Phalakornkule, 2012) reporting significant increase in biogas production.

The digestion of SM is limited by its hydrolysis rate; meanwhile glycerol is an easy source of energy for the microorganisms. As consequence, the effectiveness of the co-digestion for the treatment of SM has been questioned by some authors, who relate the increase in the biogas production to the addition of glycerol rather than to an improvement of the degradation of SM (Álvarez *et al*., 2010; Viana *et al*., 2012). In this sense, the evaluation of the degradation process suffered by the organic matter during AD process should be evaluated in order to determine the feasibility of operating

digesters at high content of residual glycerine but assuring at the same time that the stabilisation of the organic residue is also accomplished.

The analysis of the transformations experienced by the organic matter during biological degradation is not an easy task. Different techniques have been proposed for evaluating the transformations that occurs in the anaerobic digestion and stabilisation. Due to the simplicity of the sample preparation, thermal analysis (TA) provides a simple, fast and yet reliable information regarding the characterization of the organic matter (Gómez *et al*., 2011). Thermogravimetric analysis (TGA) has been used to evaluate the transformations of operational parameters in AD process, and also to determine the degree of stabilization of the digested sludge. In this same line, fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) is also a technique which provides a rapid analysis of complex organic samples. It is sensitive to the changes in the organic functional groups, and it has been used for monitoring the anaerobic digestion (Gómez *et al*., 2011; Martínez *et al*., 2012), composting (Smidt and Lechner, 2005), or landfill stabilisation (Wu *et al*., 2011).

Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy has been also proposed for monitoring the stabilisation process of organic matter, thanks to its capacity for the selective identification of different types of C and H and allowing comparison of different concentrations of main functional groups. NMR techniques and has been widely used in the analysis of composting process (Tambone *et al*., 2010), and digestates from AD (Cuetos *et al*., 2009a; Gómez *et al*., 2011; Hafidi *et al*., 2005).

The aim of this study was to evaluate the effect over biogas production and organic transformations during AD process when residual glycerine is added as co-substrate in a SM digestion system. The transformations undergone in the AD process at increasing amounts of crude glycerine were analysed by TG, FTIR and ^{1}H NMR techniques.

6.2 MATERIAL AND METHODS

6.2.1 Inoculum and substrate

The inoculum used in the present study was obtained from the anaerobic digester of the wastewater treatment plant (WWTP) of León. The total (TS) and volatile (VS) solid content of the inoculum were 19.5 ± 0.2 and 12.7 ± 0.2 g/L respectively. Crude glycerine was obtained from a biodiesel plant processing used cooking oil located at San Cristobal de Entreviñas (Zamora, Spain). SM was obtained from a farm located nearby the plant. SM was screened using a 2 mm sieve to eliminate particles that could obstruct the feeding conducts. Crude glycerine was fed without applying any pre-treatment.

6.2.2 Anaerobic digestion

The digestion process was carried out at 34 ± 1 ºC in a completely mixed reactor with a working volume of 25 L. The reactor was equipped with a mechanical stirring system, and a water displacement device with a wet-tip counter for measuring the daily biogas production.

The start-up of the reactor was performed at a hydraulic retention time (HRT) of 50 days and a glycerine content of 2% (v/v) to allow the system a progressive adaptation. Once the system was recovered from the initial shock load, the organic loading rate (OLR) was increased by reducing the HRT from 50 to 30 days while the glycerine addition was kept constant at 2% (v/v). After this acclimation phase, three additional periods were evaluated at increasing glycerine content, 4, 6 and 8% (v/v). At the end of the digestion (day 80), a post-digestion stage was studied. During this period, with duration of one month, the reactor was not fed. Table 6.1 shows the main operation parameters for the reactor, and the contribution of the glycerine to the OLR of the reactor.

Table 6.1. Operational parameters of the digestion process.

Period	*Time (days)*	*HRT (d)*	*Glycerine (% v/v)*	*OLR (g VS/Lr d)*	*% OLR glycerine*
I	0 – 11	50	2	1.3	23
II	12 – 21	30	2	2.2	23
III	22 – 40	30	4	2.5	41
IV	41 – 61	30	6	2.9	53
V	62 – 80	30	8	3.7	55

Digestate samples were collected prior to each change in the composition of the feed (denoted as G4, G6 and G8 according with its glycerine content), and they were analysed by thermogravimetric, spectroscopy, and NMR techniques. Additionally a sample of the digestate after the post-digestion stage was collected (G_{end}). Samples were dried at 105 °C in a furnace for 48 h and then ground in a laboratory ball mill (Retsch mill model MM200) before TGA, FTIR and NMR analysis.

6.2.3 Analytical techniques

Proximate and ultimate analyses of the substrates were carried out using 5 g dried samples. C, H, and N were analysed using a LECO CHN-600 apparatus. A LECO SC-132 device was used to analyse total sulfur. Ash content was determined using a LECO MAC-300 thermogravimetric analyser (TGA). Organic matter (OM) was determined using the Walkley-Black method (MAPA, 1994), and the total organic carbon (TOC) content was calculated from the OM value, using a correlation factor of 1.72. Total nitrogen was determined by the Kjeldahl method (TKN) (MAPA, 1994). For OM and TKN determination, 10 g of homogeneous sample was used. All analysis were run by triplicate and mean values were reported.

The determination of total P, Ca, K, and Na was carried out using a PerkinElmer Optima 2000 DV inductively-coupled plasma (ICP) atomic emission spectrometer. The analysis was performed digesting 0.3 g of sample in 10 mL of nitric acid at 65% in a microwave oven at 100 °C for 5 min and, subsequently, at 190 °C for 30 min.

TS, VS and total ammonia nitrogen (TAN) of the substrates were determined in accordance with Standard Methods (APHA, 2005). During the digestion process the following parameters were monitored: daily biogas production, gas composition, pH, TS, VS, chemical oxygen demand (COD), TAN, total alkalinity (TA), and the concentration of volatile fatty acids (VFA).

COD and TA were also determined in accordance with Standard Methods (APHA, 2005). The analysis of COD was carried out by titration with ferrous ammonium sulfate (FAS) using a Metrohm 862 Titrosampler. Before titration, samples were digested for 2 h in the presence of dichromate at 150 ºC in a Hanna C9800 reactor. TA was determined by titration with HCl 0.2N at pH 4.3. Free ammonia (FA) concentration was determined by the expression proposed by Calli *et al*. (2005).

The daily biogas production was normalized to standard conditions (0 ºC and 760 mm Hg).The composition of the biogas was determined using a gas chromatograph Varian CP 3800 GC equipped with a thermal conductivity detector (TCD). The carrier gas was helium and the columns were operated at a temperature of 50 ºC and a pressure of 331 kPa.

Volatile fatty acids (VFA - C2 to C7) were determined on the same gas chromatograph, using a flame ionization detector (FID). The carrier gas was helium, and injector and detector temperatures were 220 ºC and 250 °C, respectively. The oven temperature was set at 150 °C for 3 min and then increased to 180 °C. The system was calibrated with a mixture of standard VFA from Supelco (for the analysis of fatty acids C2–C7). Samples were previously centrifuged (10 min, 3 500 × g) and the supernatant filtered through 0.45 μm cellulose filters. The detection limit for VFA analysis was 5.0 mg/L.

6.2.4 Thermal analysis

Thermal analysis was carried out in a thermobalance TA Instruments SDT2960. Thermogravimetric (TG) runs were carried out using approximately 5 mg of sample, with a heating rate (β) of 10 K/min up to 973 K. TG and Differential thermogravimetric curves (DTG) were obtained simultaneously. The analysis was performed with a

continuous flow of 100 mL/min using synthetic air and maintaining a manometric pressure of 1 atm (101 kPa). Two replicates were run for each sample and mean values were reported.

The kinetic characteristics of the thermal decomposition of the samples were studied using the Approximate Integral Method as described in Gao *et al*. (2014).

6.2.5 FTIR analysis

In the Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy analysis, two milligrams of separate dried milled samples were ground with 200 mg KBr (FTIR grade) and homogenised in an agate mortar. KBr pellets were compressed under vacuum in a standard device under pressure of 6 000 kg/cm for 10 min. Infrared spectra were recorded using a FTIR Perkin–Elmer 2000 spectrophotometer over the 4 000 – 400 cm^{-1} range at a rate of 0.5 cm^{-1}. Fifty scans were collected, averaged for each spectrum and corrected against ambient air as background as described by Cuetos *et al*., (2009). A SM sample was also analysed in order to allow the comparison.

6.2.6 NMR analysis

Ground samples from digestates were extracted using dimethyl sulfoxide *d6* (DMSO *d6*) as proposed by Francioso *et al*. (2007), for 24 h and the extract obtained after centrifugation was then analysed by ^{1}H NMR. NMR spectra were recorded with a Bruker Avance 600 spectrometer (5 mm TCi cryoprobe, inverse detection). Nominal frequencies were 600.13 MHz for ^{1}H and 150.90 MHz for ^{13}C. An internal lock on $DMSOd_6$ was used for all spectra. The chemical shifts (δ) at 298 K were referred to $DMSOd_6$ (δ for ^{1}H: 2.49 and δ for ^{13}C: 39.5). Water signal was ascribed to 3.4 ppm and DMSOd6 signal was located at 2.5 ppm. Spectra processing was carried out using MestRenova 7.1.1 software of Mastrelab Research.

6.3 RESULTS AND DISCUSSION

6.3.1 Substrate characterisation

The characteristics of the substrates used in this work are showed in Table 6.2. Crude glycerine was characterised by a high solid content, where the volatile solids represented about 97% of the TS showing that it is a highly degradable substrate. Nitrogen in the substrate was below the detection limit of the apparatus. According with the analysis provided by the biodiesel producer, the glycerol and methanol content of the glycerine was 685 ± 27 g/L and 213 ± 4 g/L respectively.

Table 6.2. Substrate characterization

Parameter	***Glycerine (Gly)***	***Swine Manure (SM)***
ST (g/kg)	787.6 ± 8.2	71.1 ± 12.2
SV (g/kg)	761.4 ± 9.2	47.7 ± 9.1
C (%)*	35.6 ± 0.2	44.9 ± 0.2
H (%)*	11.4 ± 0.1	5.5 ± 0.1
N (%)*	< 0.06 ± 0.1	2.3 ± 0.1
S (%)*	1.2 ± 0.3	0.5 ± 0.3
OM (%)	73.4 ± 5.3	5.5 ± 0.4
TOC (%)	42.7 ± 3.1	2.1 ± 0.2
TKN (%)	< 0.03 ± 0.05	0.67 ± 0.05
TAN (%)	< 0.03 ± 0.04	0.46 ± 0.04
P (mg/kg)	< 50	989 ± 47
Ca (mg/kg)	<5	2 263 ± 105
K (mg/kg)	2 178 ± 103	3 921 ± 95
Na (mg/kg)	49.3 ± 7.5	1 525 ± 62

* Dry basis

In contrast, SM presented lower solid content, with volatile solids accounting for 67% of TS. Total COD measured was 85.9 g/L. Both substrates presented high sulfur* content. This can be explained by the presence of proteins in the case of SM but in the case of glycerine, this is due to the presence of SO_4^{2-} added for neutralising the catalyst used in the biodiesel production (NaOH).

TGA was performed over the two substrates. Figure 6.1 shows the mass loss and DTG profiles for both substrates. The weight-loss profile for the crude glycerine presented two phases (denoted as Gly). The first mass-loss phase was observed at low temperatures (between 300 and 400 K), and it might correspond with the removal of water and methanol initially present in the sample (Dou *et al*., 2009). A second and more abrupt mass loss was observed between 450 and 520 K as a consequence of the removal of the glycerol.

The weight loss profile observed for swine manure presented also two main areas of mass loss. One in the temperature range 500-600 K corresponding to volatile compounds and biodegradable materials (Cuetos *et al*., 2009a; Gómez *et al*., 2007). Cellulose, hemicellulose and microbial cell walls can be also attributed to this peak (Wu *et al*., 2011). A second weight loss area can be observed at higher temperatures (700 - 775 K), which is related with the combustion of more complex materials such aromatic structures.

DTG curves usually present several peaks as a consequence of the different decomposition reactions that take pace simultaneously. According to Sørum *et al*. (2001), the best mathematical models for describing the overall thermal decomposition considers independent parallel reactions. Table 6.3 presents the kinetic values obtained from the study of the thermal degradation process.

*It is the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) who deal with questions of nomenclature and naming when it comes to chemical elements and compounds. And so when IUPAC decided that element 16 should be spelled as 'sulfur' – either in 1971 (ref. 1) or 1990 (ref. 2) depending on the source – there should be no argument about whether there should be a 'ph' in there or not. It is not a question of American or Oxford English spelling, it is a given name – and 'correcting' such a name to a different spelling is wholly inappropriate. What would Fred Flintstone say if we insisted on spelling his name Phred Phlintstone! Just to hammer the point home, IUPAC only accepts alternative spellings for two elements, and neither of them is sulfur: 'aluminum' and 'cesium' are fair game, although *Nature Chemistry* uses aluminium and caesium.

Editorial, Nature Chemistry 1, 333 (2009). doi:10.1038/nchem.301

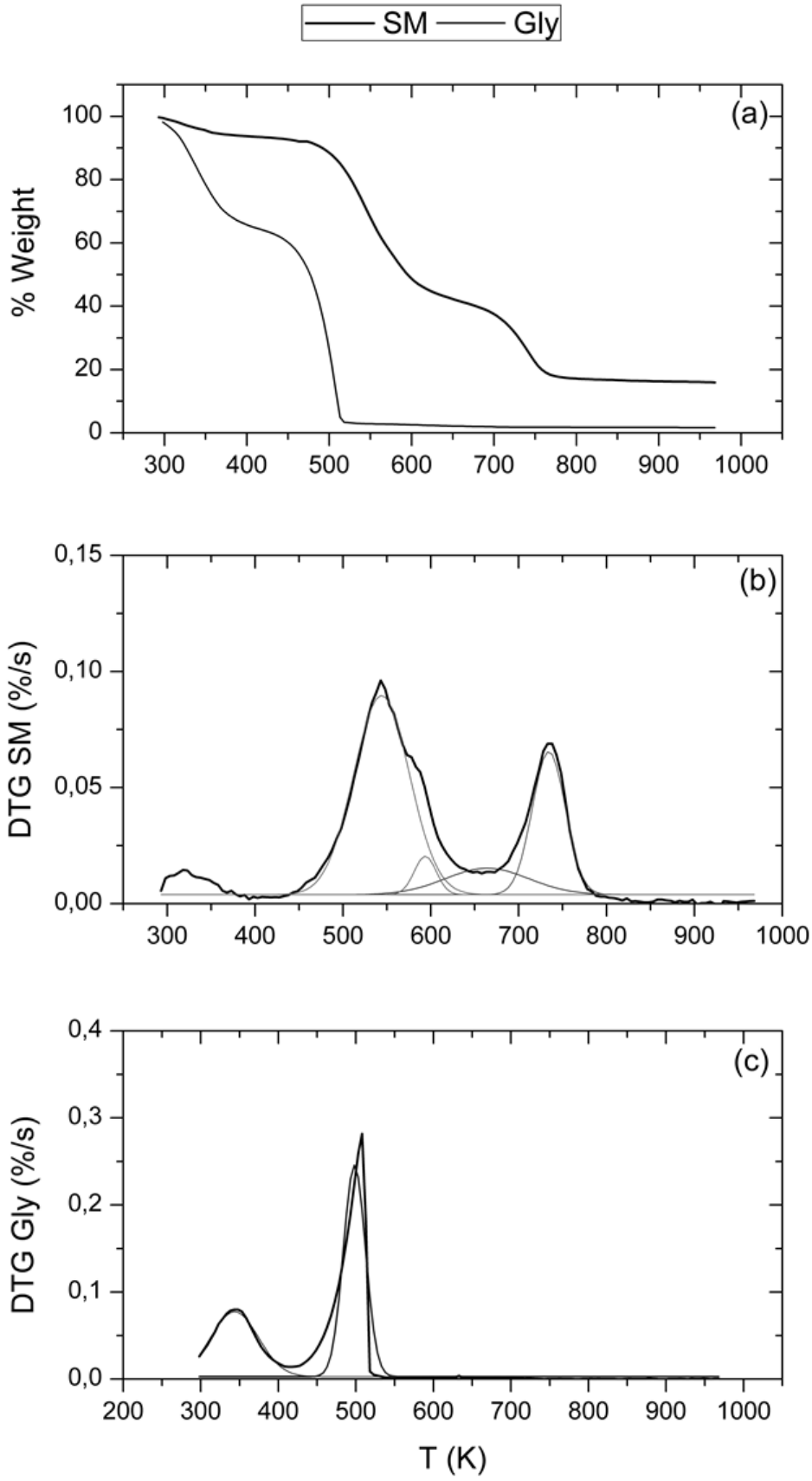
SM
Gly
(a)
% Weight
100
80
60
40
20
0
300
400
500
600
700
800
900
1000
(b)
DTG SM (%/s)
0,15
0,10
0,05
0,00
(c)
DTG Gly (%/s)
0,4
0,3
0,2
0,1
0,0
200
T (K)

Figure 6.1. Evolution of the weight loss profiles TG-DTG for the substrates (a) TG profiles of SM and glycerine, (b) DTG profile of SM sample and (c) DTG of glycerine sample.

Table 6.3. Thermal kinetics of substrates.

	SM peak I	***SM peak II***	***Gly peak I***	***Gly peak II***
Temp range (K)	478 – 573	576 – 628	298-413	423 - 518
DTG max (1/s)	0.096	0.063	0.080	0.282
T* (K)	543	557	348	508
Ea (kJ/mol)	106.1	340.1	38.5	101.3
Ko (1/min)	1.91×10^{9}	2.58×10^{23}	1.37×10^{5}	4.10×10^{8}

(*) T represents the temperature at which DTGmax occurs

The overall activation energy (Ea) of the sample was calculated giving a weight to each reaction based on the area from the DTG thermogram. The overall Ea obtained for SM was 173 kJ/mol. This value is in the range of Ea values reported for cattle manure by Otero *et al.* (2011), and Sanchez *et al.* (2009), of 205 and 140 kJ/mol, respectively. The Ea value obtained for crude glycerol was 79 kJ/mol, higher than the reported by Dou *et al.* (2009) for glycerine (46 kJ/mol). The calculation methodology used and the higher glycerol content might explain the different results obtained.

6.3.2 Anaerobic digestion

Figure 6.2 shows the biogas production and VFA profile for the reactor treating SM and glycerine. The increase in the glycerine content of the feed from 2 to 4% did not lead to a significant increase in the production of biogas. Although steady values of biogas were measured from day 12 onwards. Propionic and acetic build-up was observed on days 11-19, as consequence of the reduction of the HRT to 30 days. As the digestion continued, the accumulation of acetic acid in the system decreased to values of 1 g/L, whereas the propionic build-up remained stable over 5 g/L.

Glycerol is initially degraded to propionate, which is mainly converted to acetate in the next stage. The low population of propionate and acetate-consumer bacteria at the

beginning of the digestion process are unable to degrade the VFA produced. Hydrolysis stage is usually the limiting process in the digestion of organic wastes, but when the substrate is easily-degraded like glycerine, methanogenesis becomes the limiting step, causing the VFA build-up in the system. Propionate build-up has been widely reported in the digestion of glycerine, as glycerol degradation occurs faster than propionate, causing the accumulation in the system (Fountoulakis *et al.*, 2010; Viana *et al.*, 2012).

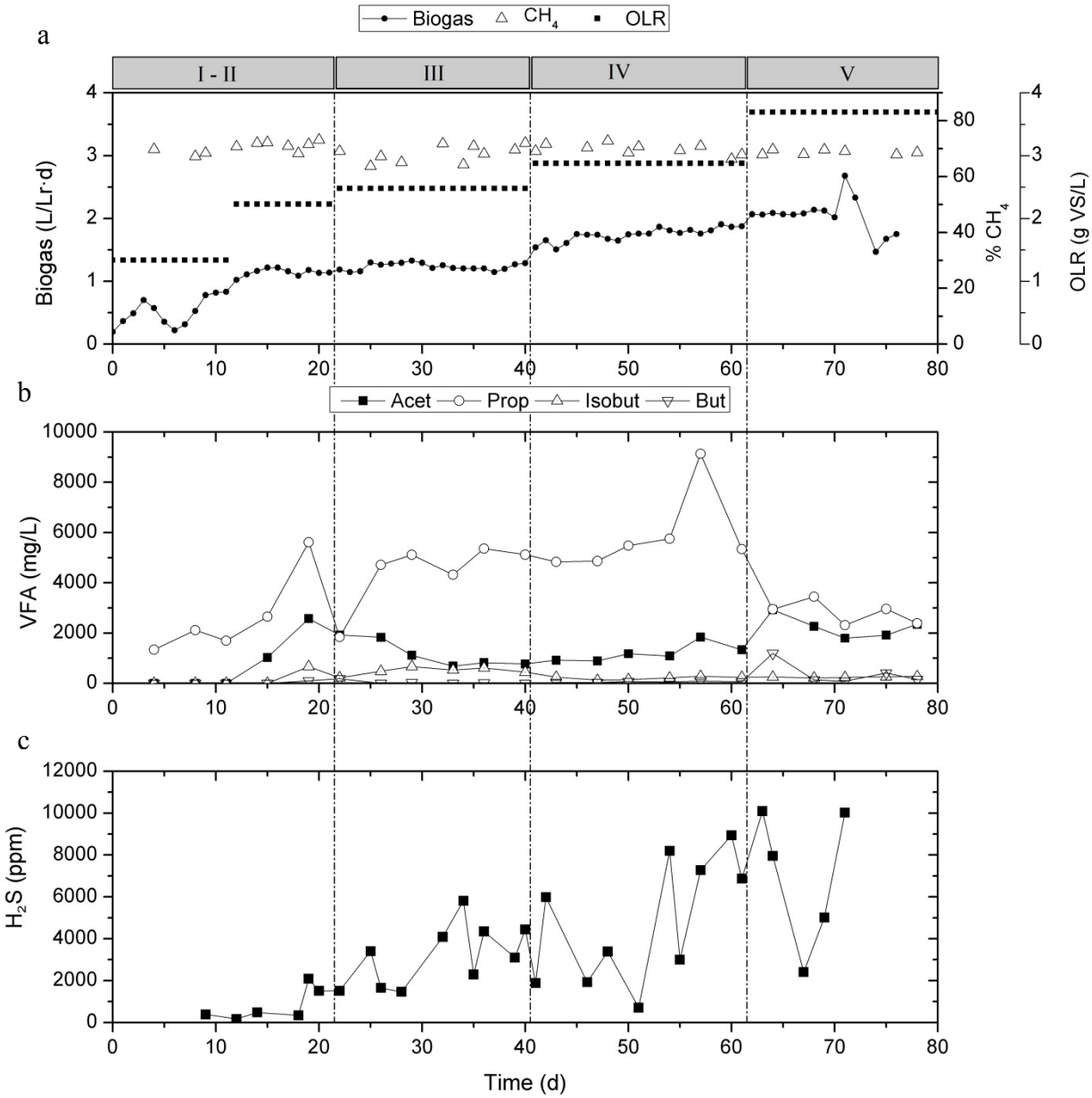

Figure 6.2. Evolution of the (a) biogas production (b) VFA evolution (c), and H_2S content in biogas for the co-digestion reactor with glycerine

A greater increase in the biogas production was observed when increasing the glycerine content to 6%, with an average production of 43.6 ± 2.7 L/d. Regarding the VFA production, a gradual build-up in propionic acid content was observed after day 48th, with a sudden increase up to 9 g/L between days 55-59. Acetic acid also experienced a slight increase along this period up to 2.2 g/L. Despite of the high VFA values observed, no significant effect was observed on biogas production, which was relatively stable presenting a progressive increase along the evaluation period. This can be explained by the high buffer capacity of the system treating manures and slurries due to the strength of the HCO_3^-/CO_3^{2-} and NH_4^+/NH_3 buffer systems.

Due to the high sulfur content of the crude glycerine, its addition to the reactor caused an increase of the concentration of H_2S in the biogas. Despite of the high variability of the production measured, an increasing trend was clearly observed with the addition of greater amounts of glycerine. The evolution of H_2S, VFA and biogas in the reactor suggested a high activity of sulfate reducing bacteria (SRB). SRB are very diverse in terms of metabolic pathways, and in the presence of sulfate, are able to compete with several types of microorganisms involved in anaerobic digestion, reducing the methane production (Chen *et al.*, 2008). From the kinetic standpoint, SRB should out-compete other anaerobes for substrate at the acetogenic stage of the AD process. In practice, several factors as it is the COD/SO_4^{2-} ratio and the initial population amount among others, can influence the competition between SRB and acetogens. Therefore, literature regarding sulfate-containing wastes is complex and often contradictory (Chen *et al.*, 2008).

A first signal of SRB activity can be observed between days 20 and 35 (Period III). An increase in H_2S production was observed, rising from 2 000 to 6 000 ppm. The simultaneous reduction in acetic acid concentration in the digester might have been caused by the SRB activity instead of being assimilated by methanogens. This may be the reason for explaining why no observable increase in biogas was obtained despite the change in glycerine content from 2 to 4%.

The highest concentration of H_2S in biogas was observed between days 53-65, with peak values near to 10 000 ppm on days 60-62. The simultaneous decrease in propionate content in the reactor suggests a high activity of propionate SRB. SRB has higher affinity for propionate and higher growth rates than the propionate syntrophic

species. As a consequence, sulfidogenic oxidation of propionate should have been favoured over the syntrophic route (Chen *et al.*, 2008)

The consumption of propionate caused the larger concentration of H_2S and an increase in acetate in the reactor. Once the propionate levels were reduced, SRB probably shifted their metabolism to acetate consumption, showing a new increase in H_2S in the biogas. This corroborates the conclusions reported by (Chen *et al.*, 2008; O'Flaherty *et al.*, 1998) regarding the higher affinity of SRB for propionate rather than acetate when both substrates are present.

Besides the primary mechanism of inhibition, caused by the competition for common substrates, SRB has a secondary inhibition effect due to the toxicity of the sulfide present in medium. Despite of the variability of toxic thresholds reported by literature, it is wide accepted that methanogens are more sensible to sulfide inhibition than acetogens and acidogens, which has a tolerance level similar to SRB. Syntrophic propionate degrading bacteria are the exception, which are the more sensitive (O'Flaherty *et al.*, 1998; Pol *et al.*, 1998). An inhibitory effect of 50% (IC_{50}) over methane producing bacteria (MPB) has been reported for H_2S concentrations 50-125 mg H_2S/L for pH in the range 7-8 units (Chen *et al.*, 2008). The calculated amount of undissociated dissolved sulfide in the reactor reached a maximum value of 28 g H_2S/L. Even though this value is below the toxicity threshold suggested, sulfide toxicity could be responsible of a partial inhibition of methanogens and propionate degraders, which could explain the propionate build-up in the digester at the different OLRs evaluated.

The further increase in glycerine content to 8% caused an additional increase in biogas production immediately after the change in the feed. Although, biogas production was stable for a 10 days period, with values over 2 L/Lr d, the system was affected by foaming problems, which caused the failure of the gas measurement device. No biogas could be measured from day 76 to the end of the test.

Many different causes has been pointed out as responsible of foaming in digesters, some of them regarding the presence of chemical compounds such as of surfactants, VFA, high protein content in the digester, operational conditions such as high OLR, temperature or mixing rate. Crude glycerine obtained from the transesterification of waste cooking oil (WCO) usually presents high soap content, due

to the free fatty acid content of the WCO (Van Gerpen, 2005). The presence of sodium oleate, could probably be the main cause of the foam formation in the digester. In addition, the increase in acetic acid concentration from day 65 onwards could enhance the formation of foam in the digester. The high potential of Na-oleate and acetic acid to create foam in manure digesters has been pointed out by (Boe *et al.*, 2012; Kougias *et al.*, 2013). An additional factor could also have been the high biogas production rates observed during the first 4 hours after feeding (over 5.5 L/h) enhancing therefore the foaming tendency.

Biogas productions rates measured along the experimentation were higher during the first hours just after the feeding procedure. Figure 6.3 shows the evolution of the accumulated biogas production *vs.* time for three feeding types (approximately 24 hours). Curves were obtained from the average production data for each period. The shape of the curves shows a similar behaviour for the three different periods. Two clear phases can be observed in the daily accumulative biogas production (Fig 6.3a) as a consequence of a high production rate for the first 3-4 hours, followed by a second phase where the production rate was significantly lower and ending with the next feeding schedule. Approximately, 50% of the daily biogas production was obtained within the first 8 hours right after feeding. The difference between this two phases increases with the higher contribution of glycerine to the organic load of the digester (Table 6.1).

Figure 6.3b shows the evolution of the biogas production rate (L/h) along the day. Biogas production rates up to 5.5 L/h were observed during the next 3 hours after the feeding procedure when glycerine was added at 8% content. A similar performance was observed with the feeding mixture at 6% content of glycerine, with biogas production rates being over 3.6 L/h during the first 3 hours. Afterwards, the biogas production rate was characterised by a steady behaviour in both periods, with values over 1.5 L/h.

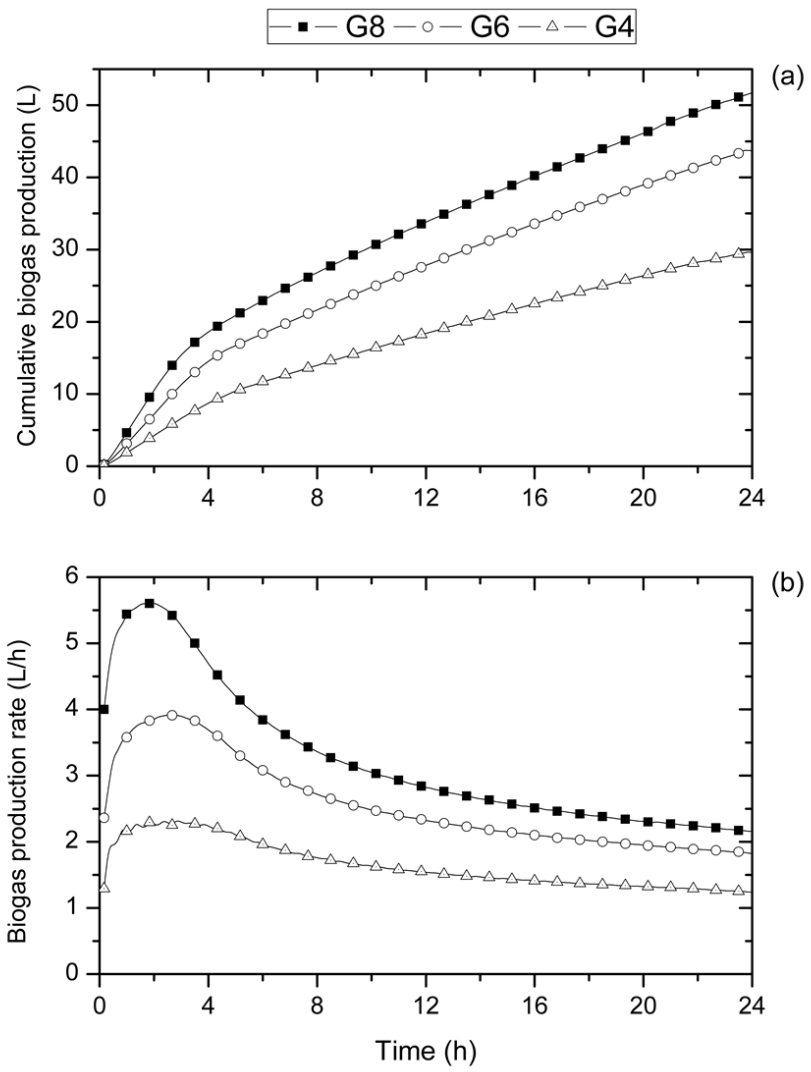

Figure 6.3. (a) Averaged cumulative biogas production, (b) and biogas production rate for each period evaluated with a content of glycerine in the feed at 4, 6 and 8%.

This behaviour is in accordance with the TA profiles observed; suggesting that microorganisms preferably digest glycerol as it is easily degradable, using the manure as substrate once glycerol has been mostly consumed. This could explain why 3-4 hours after feeding, the biogas production rates are much lower and have similar values regardless of the glycerine content of the feed. A similar result has been reported by (Astals *et al.*, 2012), in the co-digestion of SM and glycerine, who obtained the 25% of the daily biogas production within the first two hours right after feeding.

Table 6.4. Main parameters evaluated for the co-digestion reactor at different glycerine ratios

	Period II *(G2)*	***Period III*** *(G4)*	***Period IV*** *(G6)*	***Period V*** *(G8)*
Biogas (L/d)	28.6 ± 1.5	30.8 ± 1.4	43.6 ± 2.7	51.1 ± 7.1
CH_4 (%)	71.3 ± 1.5	68.2 ± 3.0	69.8 ± 1.9	68.7 ± 0.8
CH_4 production (L CH_4/Lr d)	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.4 ± 0.3
OLR (g VS/Lr d)	2.2	2.5	2.9	3.7
CH_4 yield (L CH_4/kg VS_{feed})	336	340	423	380
H_2S (ppmv)	1 170 ± 1 076	3 170 ± 1 590	4 817 ± 2 968	7 096 ± 3 339
ST (g/kg)	33.77 ± 3.19	48.94 ± 5.17	53.68 ± 0.95	66.16 ± 5.74
SV (g/kg)	20.48 ± 1.82	32.67 ± 4.61	34.10 ± 0.78	41.69 ± 3.01
%VS removal	69.5	56.0	70.7	62.4
DQO (g/L)	26.8 ± 2.7	35.9 ± 7.7	48.6 ± 11.3	62.1 ± 10.6
pH	7.61 ± 0.15	7.72 ± 0.08	7.85 ± 0.09	7.85 ± 0.10
Alkalinity (g $CaCO_3$/L)	9.48 ± 3.08	14.03 ± 1.10	14.69 ± 0.52	14.01 ± 0.80
TAN (mg/L)	2 023 ± 378	3 269 ± 962	3 958 ± 587	4 510 ± 783
pH	7.61 ± 0.15	7.72 ± 0.08	7.85 ± 0.09	7.85 ± 0.10
FA (mg/L)	84 ± 22	176 ± 70	282 ± 88	318 ± 94
Acetic acid (mg/L)	1 800 ± 1 093	1 191 ± 549	1 208 ± 350	1 877 ± 998
Propionic acid (mg/L)	4 133 ± 2 094	4 411 ± 1 312	5 901 ± 1 625	2 343 ± 1 221

6.3.3 Thermal analysis

Figure 6.4 shows the weight loss profiles and DTG of three digested samples obtained at the end of each evaluated period (G4, G6 and G8) and digestates after a

post-digestion phase of one month (Gend). Without considering the first peak, registered at temperatures below 373 K, which was associated with dehydration of samples, DTG profiles showed two differentiated areas, one between 450 and 650 K, and a second between 650 and 800 K.

The weight loss observed for the three digested samples ranged between 30 and 34%, and it was significantly higher than the mass loss observed in the fresh manure (16%) (Figure 6.1), indicating an increase in the degree of mineralisation after the digestion process (Cuetos *et al.*, 2009a). This difference between fresh substrate and digestate has also been reported by Otero *et al.* (2011) and Gómez *et al.* (2007) in their work when digesting cattle manure.

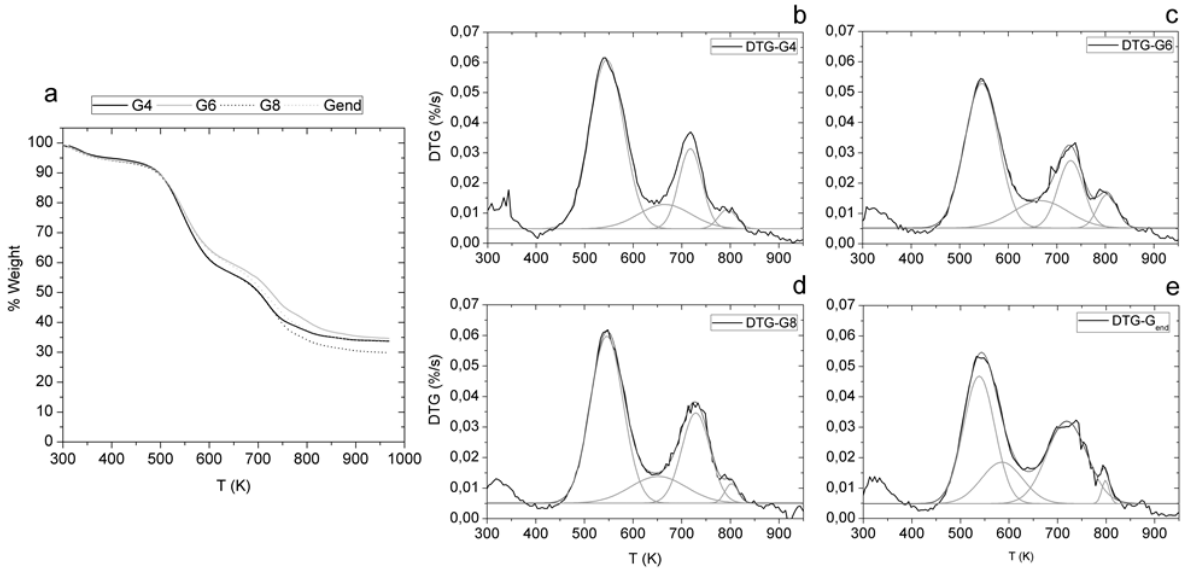

Figure 6.4. Weight loss profiles (a), DTG and thermogram deconvolution (b,c,d,e) for the set of four digestate samples.

Intensity of the peaks in DTG profiles (Fig. 6.4b-e) at the low temperature range was significantly lower than that obtained from SM fresh sample, indicating that both labile and complex substances have been transformed in the AD process. The intensity ratio between both peaks is slightly higher in the digestates than in the fresh manure, indicating a small reduction of the easily degradable components of the substrate. This might implies that digested material in the effluent has an important contribution the original compound present in the SM fresh sample, and therefore the addition of

glycerol increased the biogas production but did not improve the degradation of SM, as argued by Viana *et al.* (2012).

Table 6.5 shows the kinetic parameters obtained from digestate samples G4-$G_{end.}$ Similar values were obtained for the two main reactions, with Ea values being smaller than those obtained from SM kinetic analysis. A greater difference can be observed from G_{end} data which may be rationalised by the different shape of the peak located at 733 K (Fig 6.4e). The overall Ea value for this sample was also smaller (126 kJ/mol) than that obtained from SM and digestates (Ea values of 143, 140, and 151 kJ/mol for G4, G6 and G8 digestates, respectively). In addition, the Ea value obtained from digestate samples were lower than those from the SM sample. This difference is related to the transformation of the organic matter suffered during the anaerobic degradation. A similar trend was also reported by (Otero *et al.*, 2011), who observed a reduction of the Ea values of digestates obtained from a digestion system presenting higher methane yields, indicating a better utilisation of substrates.

Table 6.5 Kinetic parameters of digestates.

	G4 peak I	***G6 peak I***	***G8 peak I***	***G_{end} peak I***
Temp range (K)	478-638	478-638	478-638	478-638
DTG max (1/s)	0.062	0.055	0.062	0.053
T* (K)	538	538	543	533
Ea (kJ/mol)	88.9	94.4	99.2	100.5
Ko (1/min)	4.39×10^{7}	1.29×10^{8}	3.87×10^{8}	7.05×10^{8}
	G4 peak II	***G6 peak II***	***G8 peak II***	***G_{end} peak II***
Temp range (K)	673-773	673-773	673-773	673-773
DTG max (1/s)	0.037	0.033	0.038	0.032
T* (K)	713	733	718	733
Ea (kJ/mol)	274.1	232.9	210.9	139.6
Ko (1/min)	1.83×10^{17}	7.08×10^{15}	2.18×10^{14}	1.37×10^{9}

(*) T represents the temperature at which DTGmax occurs

6.3.4 FTIR

Digestate dry samples were analysed using FTIR. This type of analysis was performed to evaluate changes in taking place inside the reactor along the experimentation. Figure 6.5 shows the FTIR spectra of four digestates and fresh SM sample. Samples were characterised by a wide absorption band at 2 500-3 700 cm^{-1} attributed to O-H vibration of carboxylic and alcoholic groups. The broad absorption band at 3 300 cm^{-1} is attributed to $N-H_3$ stretching, while the peaks at 2 920 and 2 850 cm^{-1} were assigned to aliphatic (C-H bonds) stretching (Castaldi *et al.*, 2005). The absorbance in this area is greater for SM and lower for G_{end}. Aliphatic methylene represent the skeleton of many biomolecules, and the decrease in the intensity of this band can be explained by the mineralization, volatilization or transformation of readily degradable molecules or metabolites (Meissl *et al.*, 2007; Wu *et al.*, 2011).

A second strong absorption region is observed between 1 700 and 1 300 cm^{-1}. The strong peak around 1 650 cm^{-1} cannot be unequivocally assigned, due to the overlapping of aromatic C=C vibrations, functional group vibrations from carboxylates, amides, alkenes and OH from water, all contributing to this peak (Meissl *et al.*, 2007). The decrease in absorbance of peaks at 2 920 and 2 850 cm^{-1} along with an increase in peak absorbance at 1 640 cm^{-1} is characteristic of the waste biodegradation process (Wu *et al.*, 2011). SM presents a high intensity band at 1 650 cm^{-1} characterised by a shoulder peak around 1 700 cm^{-1}. The digestion process eliminates the small contribution of this peak to the spectra and also brings as result a relative increase of the 1 560 cm^{-1} absorption band. This band is attributed to C=N stretching in secondary amines. G4 and G6 samples present a significant relative increase of this band when using 1 650 cm^{-1} band as reference.

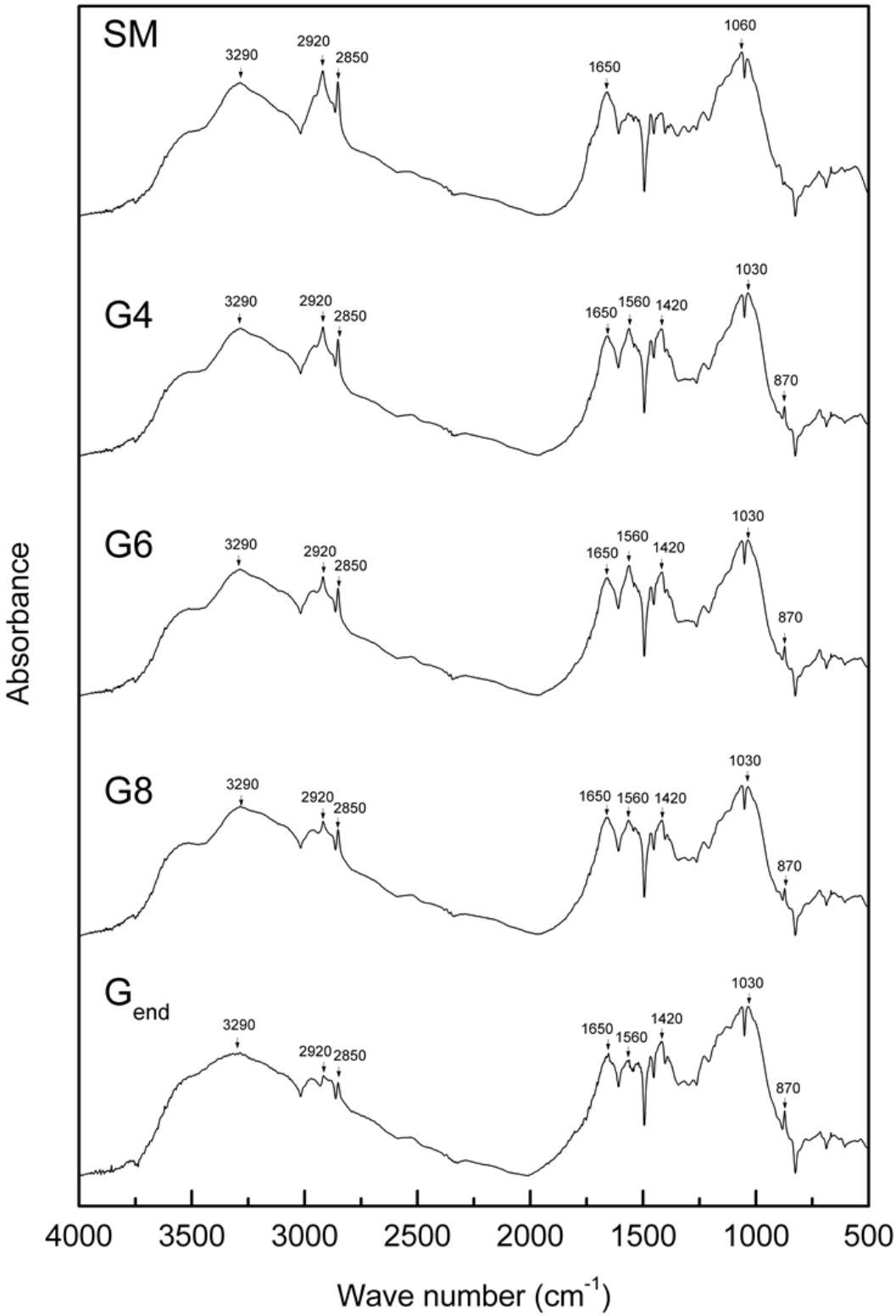

Figure 6.5 IR spectra of fresh swine manure (SM) and digestates

Digestates were characterised by high VFA accumulation, resulting in an increase of the band intensity ascribed to unsaturated compounds (1 420 cm^{-1}). The incomplete degradation of the organic matter is also reflected in the high intensity observed in the polysaccharide region. Signal around 1050 cm^{-1} are ascribed to C-O-C stretching of polysaccharides and this signal present an important contribution to the spectra even in the sample obtained after one month of stabilisation. The small peak observed at 870 cm^{-1} in the digestates may be ascribed to C-O out of plane vibration of carbonates (Reig *et al*., 2002a). Both strong carbonate bands (1 420 and 875 cm^{-1}) are stronger for the digestates than for the SM. The post-estabilisation process produces the mineralisation of organic materials resulting in higher intensities being observed in carbonate bands along with a decrease in aliphatic bands. In Gend samples is also observed a smoothing and better simmetry of the –OH band indicating that the degradation of protein materials which was initially accumulated due to the availability of sugar compounds has now taken place.

6.3.5 ^{1}H NMR

Three distinct zones are distinguished in spectra: aromatic, aliphatic and unsaturated compounds. The triple signal at 2.5 ppm corresponded to DMSO-d6 (Fig. 6.6). The broad band at 3.3-3.35 ppm was due to hydration of the sample during preparation and storage. Spectra were characterised by high intensity peaks in the aliphatic region, with the main signal placed at 1.22 ppm and ascribed to $–CH_2–$ groups. Signals at 0.6 and 0.8 ppm, ascribed to terminal methylenes, also present high intensities. The presence of these functional groups may be associated to the core lipids of archaea, which are characterised by a hydrophobic portion consisting of chains of isoprene molecules with regularly branching methyl groups and are covalently bound to glycerol molecules through ether-bonds (Matsumi *et al*., 2011).

The NMR sprectrum obtained from the substrate sample at 6% content in glycerine is also presented in Figure 6.6. In this particular case, the sample was submitted to an extra drying process in order to observe the signal corresponding to the glycerol molecular groups in attempt of avoiding overlapping with water signals.

Digestate samples present significant modifications in the relative intensities of terminal methylenes and ethylene groups when operating at varying conditions of glycerine content. There is an important contribution and a significant overlapping of signals around 0.6-0.8 ppm, with the digestion process. These signals present a relative decrease in intensity when compared with those placed at 1.7 ppm ascribed to unsaturated compounds (and to the coupling effect with protons in aromatic rings). On the contrary, alkanes which present a relevant contribution at 1.2 (–CH2–) and 1.5 (–CH–) ppm along with the strong presence of terminal methyl groups (0.84 ppm) experience a decrease in intensity when the glycerine content is set a 6%. When comparing with results obtained from FTIR spectra is observed that incomplete degradation of organic matter was taking place in preference of using available sugars. However, from NMR spectrum is observed that an initial degradation of aliphatic compounds is also occurring.

The significant increase in the intensity of signal at 1.7 ppm compared to the one at 2.0-2.2 ppm (protons adjacent to olefinic groups) is an indication of the modifications experienced in the lipid material extracted from the digested sample. This behaviour may be rationalised by an accumulation of aromatic and lipidic components with the digestion process. Reactor performance was significantly limited by SRB competition; however the degradation of the organic matter could be accomplished with the addition of a post-stabilisation stage, therefore resulting in an accumulation of unsaturated cmpounds.

The shift in microbial population as a response to a higher sulfate rich environment due to the feeding with higher glycerine content resulted in a lower gas production when reactor performance was evaluated. Thus, the lipid material extracted from this sample probably represented variations associated to modifications in membranes lipid extracted from SRB. An additional characteristic of digested samples is the important accumulation of aromatic compounds which is observed in all digested samples and with a relevant increase in intensity in Gend sample. The increase in signal at around 7.2 ppm is probably associated to coupling effect of methylene protons in benzene rings. When digestate spectra are compared with that one from the substrate sample becomes evident the accumulation of aromatic compounds.

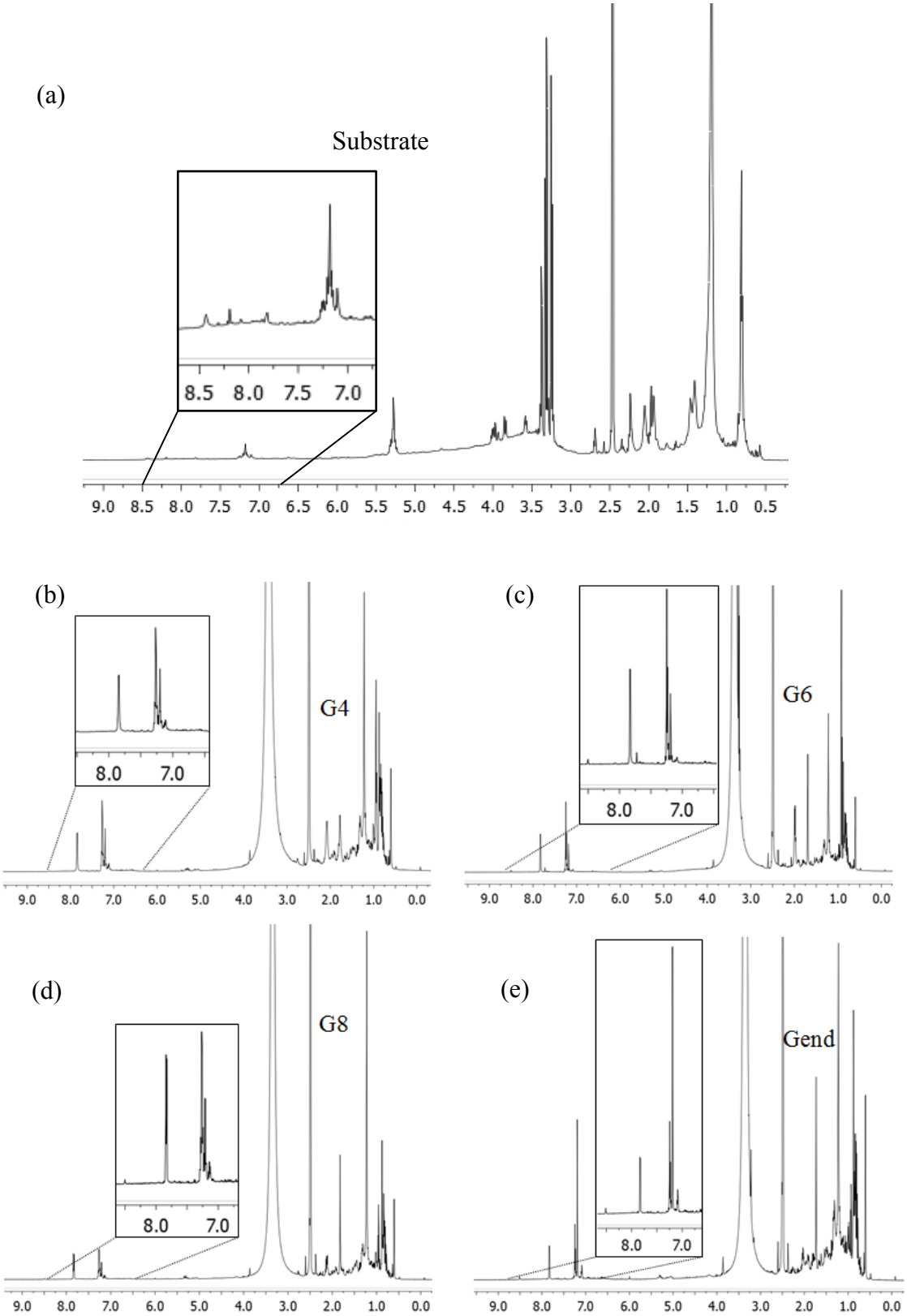

Figure 6.6. ^{1}H NMR spectrum obtained for (a) substrate at 6% content in glycerine and digestate samples (b) G4, (c) G6, (d) G8 and (e) Gend digestated samples from anaerobic co-digestion systems of swine manure with glycerine.

6.4 CONCLUSIONS

Co-digestion of swine manure and glycerine was performed at increasing amounts of glycerine from 2 to 8%. Biogas production increased with the addition of glycerine up to 51.1 L/d for 8% (v/v). The high H_2S production and the VFA build-up suggest the inhibition by SRB as a plausible cause of the failure of the system at the highest glycerol content.

TG and DTG values suggest that most of the undigested material found on the digestate comes from the manure, and therefore the addition of glycerol increased the biogas production but did not improve the degradation of swine manure. Incomplete degradation of proteins and aliphatic compounds is observed from digested samples when analysed by FTIR and ^{1}H NMR. Acumulation of aromatic compounds in clearly observed in any of digestate samples and particularly for the sample obtained at the post-estabilisation stage. At this final stage of the process, protein and lipid degradation was completed.

6.5 REFERENCES

Álvarez, J.A., Otero, L., Lema, J.M., 2010. A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. Bioresour. Technol. 101, 1153–1158. doi:10.1016/j.biortech.2009.09.061

APHA, 2005. Standard methods for the examination of water & wastewater, American Public Health Association. ed. American Public Health Association, Washington DC.

Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., Mata-Alvarez, J., 2012. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. Bioresour. Technol. 110.

Boe, K., Kougias, P.G., Pacheco, F., O-Thong, S., Angelidaki, I., 2012. Effect of substrates and intermediate compounds on foaming in manure digestion systems.

Water Sci. Technol. J. Int. Assoc. Water Pollut. Res. 66, 2146–2154. doi:10.2166/wst.2012.438

Calli, B., Mertoglu, B., Inanc, B., Yenigun, O., 2005. Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors. Process Biochem. 40, 1285–1292. doi:doi: DOI: 10.1016/j.procbio.2004.05.008

Castaldi, P., Alberti, G., Merella, R., Melis, P., 2005. Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. Waste Manag. 25, 209–213. doi:10.1016/j.wasman.2004.12.011

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Bioresour. Technol. 99, 4044–4064. doi:10.1016/j.biortech.2007.01.057

Cuetos, M.J., Fernández, C., Gómez, X., Morán, A., 2011. Anaerobic co-digestion of swine manure with energy crop residues. Biotechnol. Bioprocess Eng. 16, 1044–1052.

Cuetos, M.J., Gomez, X., Otero, M., Moran, A., 2009a. Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste: study of biological stabilization by Fourier Transform infrared spectroscopy and thermogravimetry combined with mass spectrometry. Biodegradation 21, 543–556. doi:10.1007/s10532-009-9322-7

Cuetos, M.J., Morán, A., Otero, M., Gómez, X., 2009b. Anaerobic co-digestion of poultry blood with OFMSW: FTIR and TG–DTG study of process stabilization. Environ. Technol. 30, 571–582. doi:10.1080/09593330902835730

Dou, B., Dupont, V., Williams, P.T., Chen, H., Ding, Y., 2009. Thermogravimetric kinetics of crude glycerol. Bioresour. Technol. 100, 2613–2620. doi:10.1016/j.biortech.2008.11.037

Fountoulakis, M.S., Petousi, I., Manios, T., 2010. Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production. Waste Manag. 30, 1849–1853. doi:10.1016/j.wasman.2010.04.011

Francioso, O., Ferrari, E., Saladini, M., Montecchio, D., Gioacchini, P., Ciavatta, C., 2007. TG–DTA, DRIFT and NMR characterisation of humic-like fractions from

olive wastes and amended soil. J. Hazard. Mater. 149, 408–417. doi:10.1016/j.jhazmat.2007.04.002

Gao, N., Li, J., Qi, B., Li, A., Duan, Y., Wang, Z., 2014. Thermal analysis and products distribution of dried sewage sludge pyrolysis. J. Anal. Appl. Pyrolysis 105, 43–48. doi:10.1016/j.jaap.2013.10.002

Gómez, X., Blanco, D., Lobato, A., Calleja, A., Martínez-Núñez, F., Martin-Villacorta, J., 2011. Digestion of cattle manure under mesophilic and thermophilic conditions: characterization of organic matter applying thermal analysis and 1H NMR. Biodegradation 22, 623–635. doi:10.1007/s10532-010-9436-y

Gómez, X., Diaz, M.C., Cooper, M., Blanco, D., Morán, A., Snape, C.E., 2007. Study of biological stabilization processes of cattle and poultry manure by thermogravimetric analysis and 13C NMR. Chemosphere 68, 1889–1897. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.02.065

Hafidi, M., Amir, S., Revel, J.-C., 2005. Structural characterization of olive mill waster-water after aerobic digestion using elemental analysis, FTIR and 13C NMR. Process Biochem. 40, 2615–2622. doi:10.1016/j.procbio.2004.06.062

Holm-Nielsen, J.B., Al Seadi, T., Oleskowicz-Popiel, P., 2009. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. Bioresour. Technol., OECD Workshop: Livestock Waste Treatment Systems of the Future: A Challenge to Environmental Quality, Food Safety, and Sustainability 100, 5478–5484. doi:10.1016/j.biortech.2008.12.046

Johnson, D.T., Taconi, K.A., 2007. The glycerin glut: Options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. Environ. Prog. 26, 338–348.

Kougias, P.G., Boe, K., Angelidaki, I., 2013. Effect of organic loading rate and feedstock composition on foaming in manure-based biogas reactors. Bioresour. Technol. 144, 1–7. doi:10.1016/j.biortech.2013.06.028

Lobato, A., Cuetos, M.J., Gómez, X., Morán, A., 2010. Improvement of biogas production by co-digestion of swine manure and residual glycerine. Biofuels 1, 59–68.

MAPA, 1994. Métodos Oficiales de Análisis. Direccion General de Politica Alimentaria, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación., Madrid.

Martínez, E.J., Fierro, J., Sánchez, M.E., Gómez, X., 2012. Anaerobic co-digestion of FOG and sewage sludge: Study of the process by Fourier transform infrared spectroscopy. Int. Biodeterior. Biodegrad. 75, 1–6. doi:10.1016/j.ibiod.2012.07.015

Martín-González, L., Colturato, L.F., Font, X., Vicent, T., 2010. Anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste with FOG waste from a sewage treatment plant: recovering a wasted methane potential and enhancing the biogas yield. Waste Manag. 30, 1854–1859. doi:10.1016/j.wasman.2010.03.029

Mata-Alvarez, J., Macé, S., Llabrés, P., 2000. Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. Bioresour. Technol. 74, 3–16.

Matsumi, R., Atomi, H,, Driessen, A.J.M,, van der Oost, J., 2011. Isoprenoid biosynthesis in Archaea – Biochemical and evolutionary implications. Res Microbiol.162, 39–52.

Meissl, K., Smidt, E., Schwanninger, M., 2007. Prediction of humic acid content and respiration activity of biogenic waste by means of Fourier transform infrared (FTIR) spectra and partial least squares regression (PLS-R) models. Talanta 72, 791–799. doi:10.1016/j.talanta.2006.12.005

Ministry of Agriculture Food and Environment, 2007. Inventario Nacional de Emisiones a la Atmósfera 1990-2009 en el territorio español.

Murto, M., Bjornsson, L., Mattiasson, B., 2004. Impact of food industrial waste on anaerobic co-digestion of sewage sludge and pig manure. J. Environ. Manage. 70, 101–107.

Nuchdang, S., Phalakornkule, C., 2012. Anaerobic digestion of glycerol and co-digestion of glycerol and pig manure. J. Environ. Manage. 101, 164–172.

O'Flaherty, V., Mahony, T., O'Kennedy, R., Colleran, E., 1998. Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic

and sulphate-reducing bacteria. Process Biochem. 33, 555–569. doi:10.1016/S0032-9592(98)00018-1

Otero, M., Lobato, A., Cuetos, M.J., Sánchez, M.E., Gómez, X., 2011. Digestion of cattle manure: Thermogravimetric kinetic analysis for the evaluation of organic matter conversion. Bioresour. Technol. 102, 3404–3410. doi:10.1016/j.biortech.2010.10.016

Pol, L.W.H., Lens, P.N.L., Stams, A.J.M., Lettinga, G., 1998. Anaerobic treatment of sulphate-rich wastewaters. Biodegradation 9, 213–224. doi:10.1023/A:1008307929134

Sanchez, M.E., Otero, M., Gómez, X., Morán, A., 2009. Thermogravimetric kinetic analysis of the combustion of biowastes. Renew. Energy 34, 1622–1627. doi:10.1016/j.renene.2008.11.011

Smidt, E., Lechner, P., 2005. Study on the degradation and stabilization of organic matter in waste by means of thermal analyses. Thermochim. Acta 438, 22–28. doi:10.1016/j.tca.2005.08.013

Sørum, L., Grønli, M.G., Hustad, J.E., 2001. Pyrolysis characteristics and kinetics of municipal solid wastes. Fuel 80, 1217–1227. doi:10.1016/S0016-2361(00)00218-0

Sosnowski, P., Wieczorek, A., Ledakowicz, S., 2003. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. Adv. Environ. Res. 7, 609–616. doi:10.1016/S1093-0191(02)00049-7

Tambone, F., Scaglia, B., D'Imporzano, G., Schievano, A., Orzi, V., Salati, S., Adani, F., 2010. Assessing amendment and fertilizing properties of digestates from anaerobic digestion through a comparative study with digested sludge and compost. Chemosphere 81, 577–583. doi:10.1016/j.chemosphere.2010.08.034

Van Gerpen, J., 2005. Biodiesel processing and production. Biodiesel Process. Prod. 86, 1097–1107.

Viana, M.B., Freitas, A.V., Leitão, R.C., Pinto, G.A.S., Santaella, S.T., 2012. Anaerobic digestion of crude glycerol: a review. Environ. Technol. Rev. 1, 81–92. doi:10.1080/09593330.2012.692723

Wu, H., Zhao, Y., Long, Y., Zhu, Y., Wang, H., Lu, W., 2011. Evaluation of the biological stability of waste during landfill stabilization by thermogravimetric analysis and Fourier transform infrared spectroscopy. Bioresour. Technol. 102, 9403–9408. doi:10.1016/j.biortech.2011.07.029

Capítulo 7

VALORISATION OF USED COOKING OIL SLUDGE BY CO-DIGESTION WITH SWINE MANURE.

Waste Management (2014)

http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.02.006

J. Fierro, E.J. Martínez, A. Morán, X. Gómez*

Chemical and Environmental Bioprocess Engineering Department, Natural Resources Institute (IRENA), University of León, Av. de Portugal 41, 24071 León, Spain

Edition of this manuscript was in accordance with the scientific journal

ABSTRACT

The addition of lipid wastes to the digestion of swine manure was studied as a means of increasing biogas production. Lipid waste was obtained from a biodiesel plant where used cooking oil is the feedstock. Digestion of this co-substrate was proposed as a way of valorising residual streams from the process of biodiesel production and to integrate the digestion process into the biorefinery concept.

Batch digestion tests were performed at different co-digesting proportions obtaining as a result an increase in biogas production with the increase in the amount of co-substrate added to the mixture. Semi-continuous digestion was studied at a 7% (w/w) mass fraction of total solids. Co-digestion was successful at a hydraulic retention time (HRT) of 50 d but a decrease to 30 d resulted in a decrease in specific gas production and accumulation of volatile and long chain fatty acids. The CH_4 yield obtained was 326 ± 46 l/kg VS_{feed} at an HRT of 50 d, while this value was reduced to 274 ± 43 l/kg VS_{feed} when evaluated at an HRT of 30 d. However these values were higher than the one obtained under batch conditions (266 ± 40 l/kg VS_{feed}), thus indicating the need of acclimation to the co-substrate. Despite of operating at low organic loading rate (OLR), measurements from respirometry assays of digestate samples (at an HRT of 50 d) suggested that the effluent could not be directly applied to the soil as fertiliser and might have a negative effect over soil or crops.

Keywords: Anaerobic digestion, swine manure, waste oil sludge, used cooking oil.

7.1 INTRODUCTION

Animal manures and slurries are the largest source of organic waste produced in the UE-27 with more than 1.5 billion tons produced per annum (Holm-Nielsen *et al.*, 2009). In the case of Spain, 46 Mt of swine manure (SM) are produced every year in intensive pig farming facilities. The conventional storage and application of this manure as fertiliser generates a significant environmental concern, due to the large greenhouse gas (GHG) emissions; about 10 Mt of CO_{2eq} per year; and the pollution of water and groundwater due to nutrient leaching (Fierro *et al.*, 2014).

Anaerobic digestion (AD) is a well-known process widely used to transform organic matter into biogas. This process allows the stabilisation of residues and reduces the amount of solids requiring final disposal (Álvarez *et al.*, 2010). The valorisation of SM through AD would lead to obtaining a great source of renewable energy and recycling of nutrients, reducing the environmental impact of manure management. However, SM digestion is still problematic. The low solid content, and the low biogas yield (10-20 m^3 CH_4 per ton) makes its digestion economically unfeasible (Angelidaki *et al.*, 2011; Hartmann and Ahring, 2005). Furthermore, the low carbon to nitrogen (C:N) ratio leads to toxicity problems in digesters. Co-digestion has been suggested by different authors as a means of avoiding toxicity associated with high levels of ammonium (Cuetos *et al.*, 2011; Murto *et al.*, 2004; Panichnumsin *et al.*, 2010). It is widely known that co-digestion allows the dilution of potential toxic compounds, increases methane production, improves balance of nutrients, and attains synergistic effects between microorganisms (Sosnowski *et al.*, 2003). In this same line, lipid rich wastes are suitable co-substrates which are able to increase biogas yields thanks to their higher biogas potential (1.4 m^3 biogas per ton of waste), therefore becoming an important factor for improving the economy of plants (Palatsi *et al.*, 2009).

Lipid rich wastes from different sources have been successfully used as co-substrates for improving biogas yields in digesters of waste water treatment plants (WWTP) (Girault *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 2011) and also in the co-digestion of municipal solid wastes and manures (Cuetos *et al.*, 2008; Martín-González *et al.*, 2010; Ferreira *et al.*, 2012; Regueiro *et al.*, 2012), obtaining significant increment in biogas yields. However, the co-digestion with this type of co-substrate is not free of operating

problems which are usually associated with foaming, clogging, and biomass flotation inside the reactor. In addition, inhibition due to the accumulation of long chain fatty acids (LCFAs) is also a common problem. LCFAs have been reported as inhibitory at low concentrations (Alves *et al*., 2001; Pereira *et al*., 2005) particularly affecting methanogenic populations. The adsorption of LCFA on microbial surface has been suggested as the mechanism of inhibition affecting the transport of nutrients to the cell. Nevertheless, this inhibition has proven to be reversible and microorganisms can be adapted by gradual exposure which in turn increases tolerance levels towards LCFA (Alves *et al*., 2001; Kim *et al*., 2004; Pereira *et al*., 2005).

A lipid rich waste which is increasing its production is the sludge obtained from the up-grading process of used cooking oil (UCO). This oil is widely used as a cheap feedstock for biodiesel production in an attempt to reduce production costs. UCO is far less expensive than refined vegetable oils and therefore has become a promising alternative. In addition, the valorisation of this oil prevents environmental contamination if no proper disposal method is implemented (Lam *et al.*, 2010). UCO consists of a mixture of different vegetable oils with a variable composition depending upon the source. Oleic, linoleic and stearic are usually the main fatty acids present (Bautista *et al*., 2009; Thompson and He, 2006). UCO was traditionally used as a supplement for cattle feeding, but this usage was banned in the EU due to harmful components produced during the repeatedly heating of vegetable oils, mostly oxidation derivatives from polyunsaturated acids (Bautista *et al*., 2009; Kulkarni and Dalai, 2006). The use of UCO in biodiesel plants involves an initial pre-treatment where solids are eliminated. The pre-treatment generates a solid fraction composed mainly by cooking dregs with high oil content. This waste-oily sludge (WOS) must be properly disposed or used in a way that is not harmful to the environment. WOS obtained from biodiesel plants presents high content in biodegradable organics which makes it a suitable co-substrate for AD.

The aim of this work was the assessment of anaerobic co-digestion of swine manure with WOS. Co-digestion was studied under batch and semi-continuous operation. Conditions for achieving a successful digestion process were determined. This research opens new opportunities for valorising WOS and incorporates the digestion process into the biorefinery concept. Digestates were evaluated in order to

determine their stability by using respirometry assays and phytotoxicity tests with the aim of exploring their use as soil amendments.

7.2 MATERIALS AND METHODS

7.2.1 Inoculum and substrate

The inoculum was obtained from the anaerobic digester of the WWTP of León and it was composed by a mixed anaerobic microflora. The concentration of total and volatile solids (TS and VS) was 19.5 ± 0.2 and 12.7 ± 0.2 g/l respectively. WOS was obtained from Biocyl biodiesel plant. This plant is located at San Cristobal de Entreviñas (Zamora, Spain). Swine manure (SM) was obtained from a farm located nearby the plant. The manure was screened using a 2 mm sieve to eliminate particles that could obstruct the feeding conducts when performing semi-continuous digestion experiments. Characterisation of substrates is shown in Table 7.1.

7.2.2 Experimental set up

7.2.2.1 Batch digestion tests

Batch digestion tests were carried out using 250 mL Erlenmeyer flasks equipped with magnetic stirrers and gasometers for collecting biogas. Temperature was maintained at 34 ± 1 ºC by means of a water bath. The co-digestion experiments of SM and WOS (denoted as WOS_X%) were performed at different mass fractions expressed as WOS percentage representing 1, 4, 7 and 10% (w/w) of the total solid (TS) content of the mixture. Digestion tests were also carried out to determine the biochemical methane potential (BMP) of SM and WOS.

Table 7.1. Characterisation of substrates used in co-digestion tests

Parameter	***Swine Manure***	***Waste oil sludge***
TS (g/kg)	87.8 ± 1.2	615.6 ± 30.8
VS (g/kg)	64.2 ± 1.3	605.2 ± 28.5
C (% dry)	40.1 ± 0.2	17.5 ± 0.2
H (% dry)	5.5 ± 0.1	10.3 ± 0.1
N (% dry)	2.4 ± 0.1	0.18 ± 0.10
S (% dry)	0.78 ± 0.30	0.15 ± 0.10
OM (%)	6.1 ± 0.4	50.2 ± 4.5
TOC (%)	3.6 ± 0.27	29.2 ± 2.5
TKN (%)	0.67 ± 0.05	1.1 ± 0.10
TAN (%)	0.46 ± 0.04	0.10 ± 0.02
C/N ratio	12.8 ± 0.8	135.6 ± 8.4
P (mg/kg)	1 288.0 ± 62	2 496.0 ± 120
K (mg/kg)	2 079.0 ± 98	7 205 ± 215
Ca (mg/kg)	1 208.0 ± 42	664.0 ± 32
Mg (mg/kg)	1 391.0 ± 57	526.0 ± 24
Fat (%)	0.04 ± 0.05	18.10 ± 0.05
Palmitic mg/l	93 ± 35	3 990 ± 66
Stearic mg/l	30 ± 10	1 380 ± 45

Four reactors were used in each experiment. Two replicates were used for measuring biogas production and composition. The other two reactors were used for monitoring the liquid phase. The head of Erlenmeyer flasks was swept with nitrogen gas at the beginning of the trial and after each liquid sampling. Based on previous assays (Martínez *et al.*, 2011; Cuetos *et al.*, 2013) and in the characteristics of the substrates, the ratio of volatile solids (VS) of inoculum to substrate (I/S ratio) was 2 to prevent VFA build-up and LCFA accumulation during batch tests. The TS and VS of the batch reactors were 25.6 and 17.3 g/l respectively. A blank reactor containing only inoculum was also evaluated. This experiment was used to determine the background biogas production and subtract this value from batch digestion data. The batch digestion

process was evaluated until the total stoppage of gas production. The pH of all reactors was initially set at 7.0 units and no further corrections were performed afterwards.

7.2.2.2 Semi-Continuous reactor

The digestion process was carried out in a completely mixed reactor with a working volume of 3 l and operating at 34 ± 1 ºC. The reactor was provided with mechanical stirrers and a water displacement device with a wet-tip counter for measuring the daily production of biogas. Based on previous batch results, the co-digestion of SM and WOS was studied at a WOS percentage of 7% (w/w) of the TS of the feed, since it was expected that the use of higher amounts may cause inhibition under semi-continuous conditions. The feeding mixture had an average content of TS and VS of 88.8 ± 7.6 g/kg and 71.6 ± 7.2 g/kg respectively.

The reactor (denoted as R-WOS) was initially loaded with 3 l of inoculum and evaluated at a hydraulic retention time (HRT) of 50 d for a period equivalent to 3 HRT and an OLR of 1.4 g VS/l d. The selection of this HRT at the start-up of the reactor was based on previous experiences in the digestion of complex substrates (Cuetos *et al*., 2010; Cuetos *et al*., 2008), and due to the complex characteristics of the co-substrate. Subsequently, the OLR was increased to 1.9 g VS/l d for 21 days to allow progressive adaptation. The next period was evaluated at an HRT of 30 d (OLR of 2.4 g VS/l d) to achieve working conditions suitable to a real-scale plant since the increase in OLR will directly affect the volume of the reactor and installation costs. The reactor was manually fed once a day and liquid sampling was always carried out previous to the feeding procedure. The co-digestion system was the only one evaluated under semi-continuous conditions. Previous experiences in digestion of swine manure with different co-substrates have been reported by Cuetos *et al*., 2011, 2008 and Lobato *et al*., 2010. These authors demonstrated that the evaluation of a reactor treating swine manures under semi-continuous conditions, which is used for comparison of biogas yields when a co-substrate is added, give similar information to that provided from batch testing. Therefore, the additional information obtained from the system treating swine manure under semi-continuous conditions can be similarly extracted from batch testing.

7.2.3 Analytical techniques

Proximate and ultimate analyses of the substrates were carried out using 5 g of dried samples. C, H, and N were analysed using a LECO CHN-600 apparatus. A LECO SC-132 apparatus was used to analyse total sulfur. Ash content was determined using a LECO MAC-300 thermogravimetric analyser (TGA). Organic matter was determined using the Walkley-Black method (MAPA, 1994), and the total organic carbon (TOC) content was calculated from the organic matter value, using a correlation factor of 1.72. Nitrogen was determined by the Kjeldahl method (TKN) (MAPA, 1994) 10 g of homogeneous sample was used for the TKN and OM analysis. Lipid content was determined using a modified version of Soxhlet standard method (APHA, 2005). All analysis were run by triplicate and mean values were reported.

The determination of P, K, Ca, and Mg was carried out using a PerkinElmer Optima 2000 DV inductively-coupled plasma (ICP) atomic emission spectrometer. The analysis was performed digesting 0.3 g of sample in 10 mL of nitric acid at 65% in a microwave oven at 100 °C for 5 min and, subsequently, at 190 °C for 30 min.

During the digestion process the following parameters were monitored: daily biogas production, gas composition, pH, TS, VS, total chemical oxygen demand (COD), total ammonia nitrogen (TAN), alkalinity, and the concentration of volatile fatty acids (VFA) and LCFA. TS, VS, COD, alkalinity, and (TAN) were determined in accordance with Standard Methods (APHA, 2005). The analysis of COD was determined by titration with ferrous ammonium sulfate (FAS) using a Metrohm 862 titrosampler. Before titration, samples were digested for 2 h in the presence of dichromate at 150 ºC in a Hanna C9800 reactor. Total (TA) and partial (PA) alkalinity were determined by titration with HCl 0.2 N at pH 4.3 and 5.7 respectively. Intermediate alkalinity (IA) was obtained subtracting the PA from TA value. The stability of the system was evaluated by the IA/PA ratio. Free ammonia (FA) concentration was determined by the expression proposed by Calli *et al*. (2005) and Hansen *et al*. (1998).

Daily biogas production was measured with bottle gasometers, and normalised to standard conditions (0 ºC and 760 mm Hg). The composition of biogas was determined using a gas chromatograph Varian CP 3800 GC equipped with a thermal conductivity detector (TCD). A 4-m-long column packed with HayeSep Q 80/100

followed by a 1 m long molecular sieve column was used to separate CH_4, CO_2, N_2, H_2 and O_2. The carrier gas was helium and the columns were operated at a temperature of 50 ºC and a pressure of 331 kPa. VFA (C2 to C7) were determined on the same gas chromatograph, using a flame ionization detector (FID) equipped with a Nukol capillary column (30 m × 0.25 mm × 0.25 m) from Supelco. The carrier gas was helium. Injector and detector temperatures were 220 ºC and 250 °C, respectively. The oven temperature was set at 150 °C for 3 min and then increased to 180 °C. The system was calibrated with a mixture of standard VFA from Supelco (for the analysis of fatty acids C2–C7). Samples were previously centrifuged (10 min, 3500 × g) and the supernatant filtered through 0.45 µm cellulose filters. The detection limit for VFA analysis was 5.0 mg/l.

Gas chromatography was also used for the determination of LCFAs. Sample preparation was carried out as described by Fernández *et al.* (2005). 5 ml of n-heptane were added to the same amount of homogeneous sample, which were vortex-mixed for 30 min to promote the extraction of LCFA. The extracted phase was centrifuged 30 min at 3500 rpm afterwards, and filtrated through 0.2 µm cellulose filters. Then 0.8 ml of each filtered sample was added to a glass vial with 0.2 ml of pentadecanoic acid (used as internal standard). This extract was used for free LCFA determination by gas chromatography. The sample was injected into a Perkin-Elmer AutoSystem XL chromatograph equipped with a FID detector and a PEG (100% Polyethylene Glycol) column (15 m × 0.53 mm × 0.5 µm). The carrier gas was helium. The temperatures for the injector and detector were set at 250 ºC and 275 ºC respectively. The initial oven temperature of 100 °C was maintained for 1 min, and then increased to 250 °C, with a gradient of 5 °C/min. The system was calibrated using a mixture of LCFA from individual acids with concentrations in the range of 0–700 mg/l. Blank samples, using SM and inoculum with a known amount of LCFA was measured to determine the efficiency of the extraction. The detection limit for LCFA analysis was 5.0 mg/l. The acids analysed were C6:C24 (with even number of carbon) all from Sigma.

7.2.3.1 Respirometry

Respirometry assays can be used to determine the degree of stabilization of a digestate, as it is assumed that the Oxygen uptake rate (OUR) is linked to the amount of

carbon readily degradable by microorganisms (Sánchez *et al.*, 2008). Respirometry test were carried out over both, feeding and digestate samples obtained at the end of the 50 d HRT period. Two respirometry parameters were determined, the consumed oxygen uptake COU (mmol O_2/kg VS) and the OUR (mmol O_2/kg VS h).

The assays were performed using a Warburg respirometer. The solution was prepared with de-ionised water by adding the following components: $CaCl_2$, $MgSO_4$, $FeCl_3$, KNO_3, $NaHCO_3$, phosphate solution (without NH_4Cl) and Allylthiourea as nitrification suppressor. The inoculum used was obtained from the aeration tank of the wastewater treatment plant. NaOH 2 N was used to capture the CO_2 emitted. Biological oxygen demand (BOD) was calculated from the changes in the partial pressures noted in the reactor vessel.

7.2.3.2 Zucconi phytotoxicity test

The agronomic quality of digestate samples was determined by the Zucconi phytotoxicity test (Zucconi *et al*., 1981) using seeds of garden cress (*Lepidium sativum* L.). Digestate samples were obtained from the reactor at the end of the 50 d HRT period. Different ratios of digestate samples and de-ionised water (1, 5, or 10 g of waste to 100 ml of water) were used for the preparation of extracts and subsequent evaluation of seed germination.

Extracts were obtained through mixing sample and de-ionised water for 30 min. The resulting solutions were vacuum filtered using Whatman # 42 paper. *L. sativum* seeds were germinated in disposable Petri dishes, on Whatman paper moistened with 5 ml of either de-ionised water (control) or extract solution. Tests were run using 8 replicates and 10 seeds per dish. The Petri dishes were kept in the dark, at 25 °C. Germinated seeds were counted after 24 h. 5 ml of extract was further added with a second count being made after 48 h. A final count of germinated seeds and measurement of the length of roots was performed after 72 h. An index of relative seed germination was calculated at 24 (RSG24), 48 (RSG48) and 72 h (RSG72), comparing with the germination values obtained from the control. Relative root growth (RRG72) and germination index (GI72) were calculated after 72 h. GI72 was calculated using the expression: $GI72 = G*(L/L_c)$, where G is a ratio between the number of germinated

seeds in the sample and control, L is the average root length of digestate samples, and L_c is the average root length for the control.

7.3 RESULTS AND DISCUSSION

7.3.1 Batch Tests

The characteristics of the two substrates used are given in Table 7.1. As expected, SM is characterised by a low C:N ratio, consequence of a high nitrogen and low OM content. In contrast, WOS showed a high OM content and much higher TS and VS. The high C:N ratio of this waste makes it a suitable substrate for co-digestion with SM.

Figure 7.1A shows the evolution of cumulative biogas production data obtained from batch tests for SM and WOS samples. Higher biogas production was observed for WOS sample, reporting a specific gas production (SGP) of 783 ml/g VS_{feed} with a methane content of 69%. SM sample presented lower value with the SGP being only 257 ml/g VS_{feed} with 62% of methane content.

The shape of the curve obtained from the digestion of WOS indicates the need of an adaptation period due to the complex composition of the substrate. After 6 - 7 days have elapsed, a higher degradation rate was observed. Similar results were obtained by Labatut *et al*. (2011) on BMP tests performed also with UCO. These authors also reported an extended lag phase at the beginning of the experiment, with a subsequent higher degradation rate and higher methane yield. On the other hand, a lag phase was not present in the case of SM digestion test. However; Cuetos *et al*. (2011) and Lobato *et al*. (2010) reported its presence when studying the digestion of SM under batch conditions and at mesophilic temperatures. The absence of this lag phase may be explained by the different origin of SM used in the tests.

The cumulative biogas curves obtained from batch co-digestion tests are shown in Figure 7.1B. The mixture at 10% presented the highest biogas production (502 ml/VS_{feed}) while the other three tests (1, 4 and 7%) showed lower values and no

differences among them. Methane content in the biogas was approximately 65% in all tests. The shapes of these curves also show the absence of a lag-phase which in the first instance may indicate that the addition of WOS to the mixture up to 10% translates into no inhibitions in the digestion process. Although, the digestion of lipid rich wastes is known to produce inhibitory problems associated to LCFA accumulation and adsorption, in the present experiment this effect was minimised by using a high I/S ratio. VFA and LCFA build-up was reported to be minimised by Martínez *et al*. (2011) when I/S ratio was greater than 1.0. In the present research, batch tests were designed to avoid reaching inhibitory values for acid intermediaries by using an I/S ratio of 2.0.

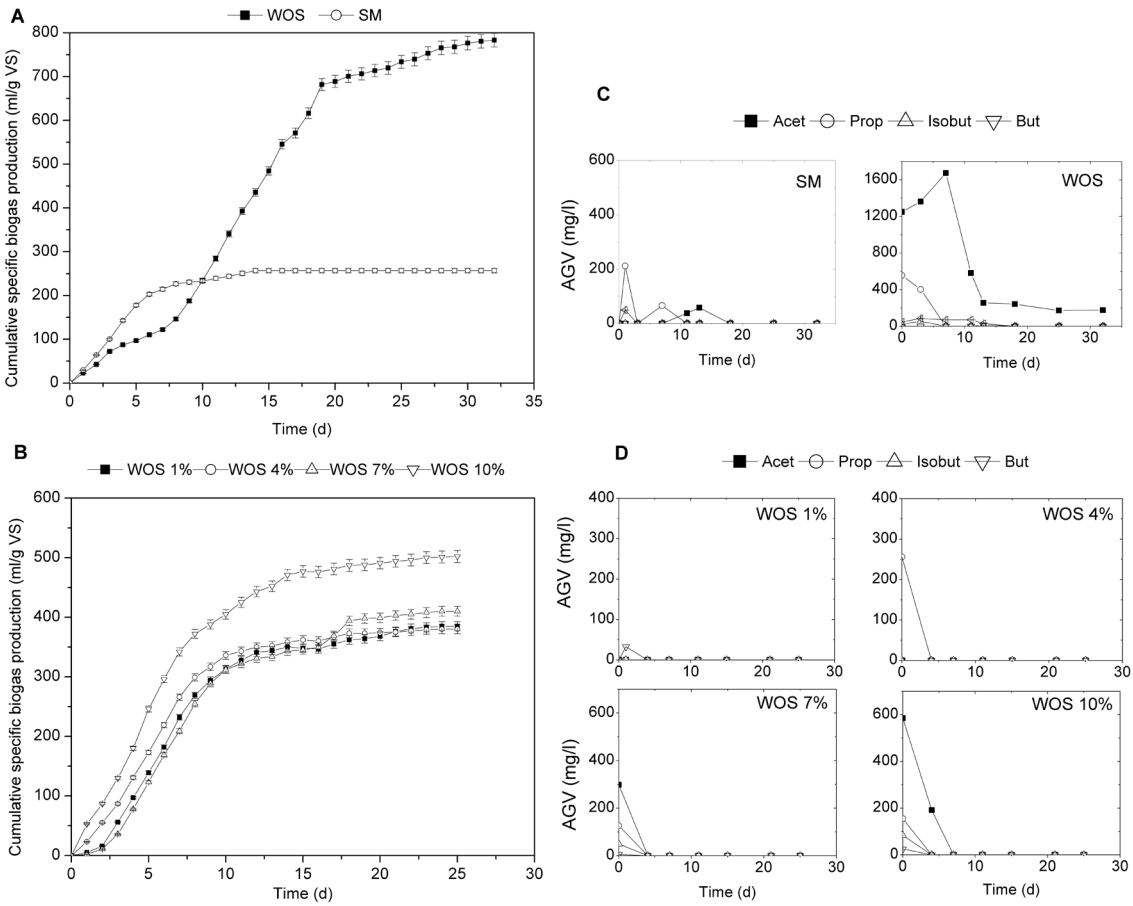

Figure 7.1. Cumulative specific biogas production for individual substrates (A) and co-digestion tests (B). VFA profiles for individual substrates (C) and co-digestion (D)

In order to determine any synergistic effects, the values of biogas production obtained from batch tests of single substrates were used to calculate the expected value

of the mixtures used in co-digestion tests. This calculation was carried out considering mass composition of the mixture and the SGP obtained from the batch test for each substrate. Table 7.2 compares these values and those from co-digestion experiments. Experimental data were higher for all conditions tested which is indicative of positive synergistic effects taking place. The addition of WOS increased the biogas production between 1.5 and 2 fold when compared with the digestion of manure. Results from batch tests are in agreement with those reported by Li *et al.* (2011), who observed a 150% increase in the production of biogas when co-digesting kitchen waste with a lipid rich residue. These authors also reported the absence of a lag-phase in co-digestion experiments although it was present when digesting the lipid rich substrate.

Table 7.2. Experimental and calculated biogas productions for WOS-SM batch co-digestion systems.

Co-digestion system	***Experimental Biogas production*** *(ml biogas/g VS_{feed})*	***Calculated biogas production (*)*** *(ml biogas/g VS_{feed})*
WOS 1%	385 ± 46	263 ± 18
WOS 4%	380 ± 28	282 ± 20
WOS 7%	410 ± 62	300 ± 21
WOS 10%	502 ± 7	318 ± 21

(*) Values were calculated using data obtained from digestion tests of SM and WOS.

Figure 7.1C shows the evolution of the VFA for the batch tests of SM and WOS. The digestion of WOS presented an initial VFA build-up. Values of acetic acid were around 1674 ± 229 mg/l on day 8th with a decrease in its content afterwards. This behaviour was associated with a change in the rate of biogas production. The initial decrease observed in biogas production was due to the accumulation of VFA, while the posterior increase was due to the degradation of these same acids, mainly acetic. Propionic acid presented an initial value of 556 ± 95 mg/l but it was degraded during the first 10 days of the experiments. Just as in the previous case, LCFA were not detected at the end the test. On the contrary, no accumulation of VFA was experienced during the digestion test of SM. This behaviour was indicative of a rapid degradation of the

organic matter, which was in accordance with results obtained from BMP tests, with nearly the total volume of gas being produced during the first 6 days.

With regard to VFA values measured in the different co-digestion tests (Figure 7.1D), those with higher WOS content presented greater accumulation of acetic and propionic acids at the beginning of the experiments. Values of acetic acid were up to 600 ± 86 mg/l and 300 ± 34 mg/l for WOS 10% and WOS 7% respectively. In the case of propionic acid, values measured were 154 ± 32 and 126 ± 21 mg/l for these systems. VFA accumulated during the first days of the experiments but were successfully digested by microbial populations afterwards, with nil concentrations being obtained at the end of experiments. This was also true for results obtained from LCFA analysis.

Although batch test at 10% presented higher biogas production, the mixture at 7% WOS was selected to perform the second experimental phase under semi-continuous conditions. Usually batch tests are used to determine the working conditions of semi-continuous tests. Nevertheless, the behaviour of the system can differ between batch and semi-continuous conditions, suggesting that results from batch tests should not be the only decision factor to set conditions for a later semi-continuous stage. Previous works performed by Cuetos *et al*. (2008, 2013) and Martínez *et al*. (2011) demonstrated that even though batch tests may indicate no significant inhibitory effects, the daily feeding process with lipid rich wastes may translate into VFA build-up and LCFA adsorption ad posterior inhibition. This also may occur when adding co-substrates which can be easily turned into acid intermediaries (Cuetos *et al*., 2013).

7.3.2 Semi-continuous test

Figure 7.2A shows the daily biogas production and methane content obtained from R-WOS reactor. The system needed a period over one full HRT (50 d) to attain stable biogas production due to the complex characteristics of the co-substrate. Even though batch tests showed no sign of inhibitions taking place, under semi-continuous conditions instabilities were observed at the early stage of the experiment. This behaviour remarks the relevance of testing the digestion process using a daily fed reactor. Working at 7% WOS demonstrated that although an inhibitory effect was present, this was overcome by the methanogenic microflora. Testing at higher WOS

content would probably lead to failure of the digestion process since acetic acid values were already close to 8 000 mg/L, thereby an increase in WOS content would have probably led to higher VFA values and more severe inhibitory conditions. Afterwards, the reactor achieved steady production of biogas and continued operation at a HRT of 50 d and then at 30 d. The slight variations observed on biogas production might be explained by minor differences between the feeding batches.

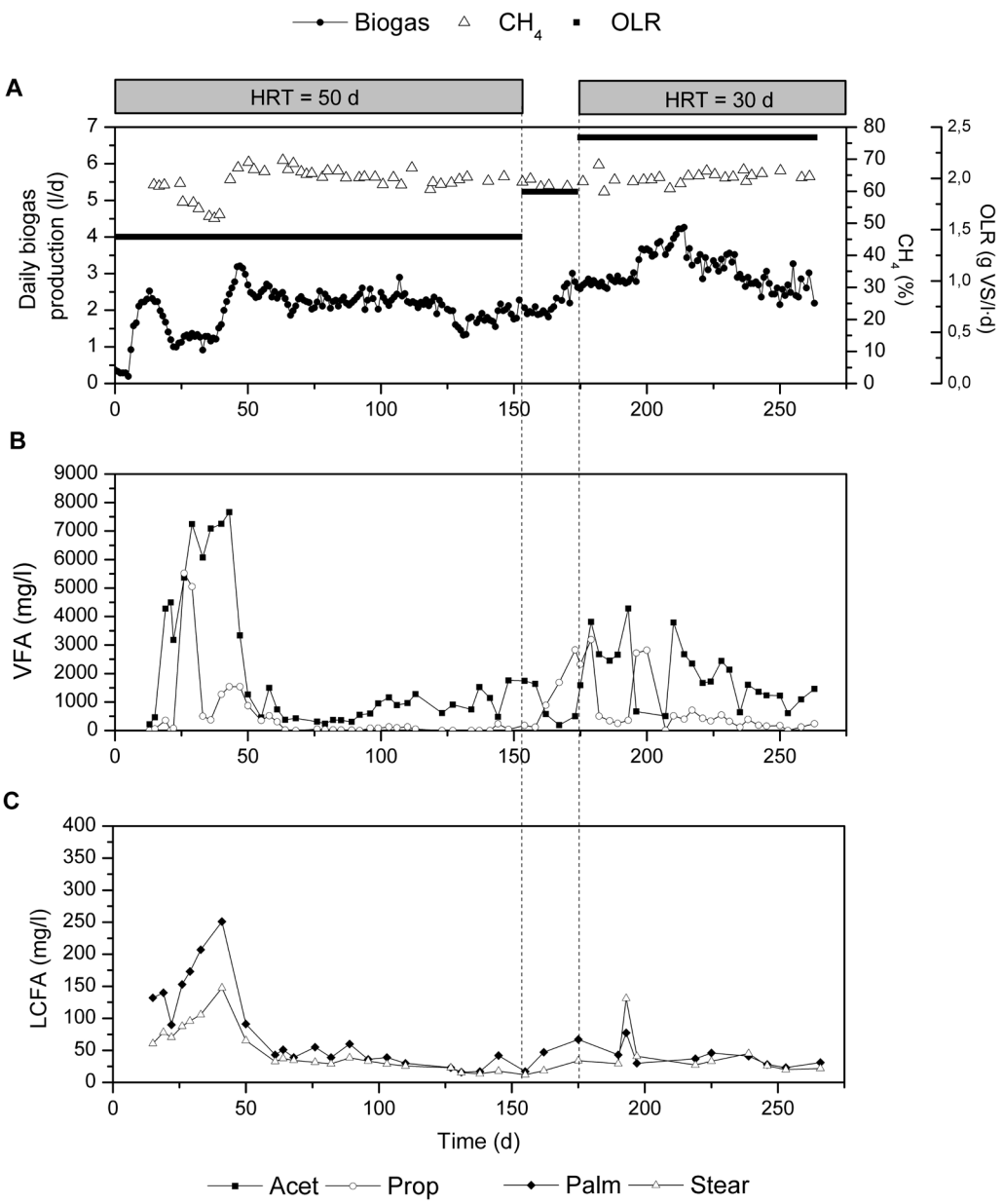

Figure 7.2. Evolution of biogas production and methane content (A), VFA (B) and LCFA (C) for the R-WOS reactor.

Instabilities initially experienced might have been caused by the accumulation of acetic and propionic acids (Figure 7.2B) during the early stage of the experiment. VFAs were consumed after 35 d by the methanogenic population resulting in a posterior increase in biogas production. Once biogas production remained stable, acetic was the only acid observed in a significant concentration during the remaining period (HRT of 50 d). A similar trend was observed for the concentration of LCFA in the effluent (Figure 7.2), with an initial accumulation being observed during the adaptation stage and a subsequent decrease as digestion continues. Stearic and Palmitic acids were the main components observed during the whole experiment with an average concentration of 29 ± 8 mg/l and 40 ± 11 mg/l respectively. These values were lower than those reported by Cuetos *et al*., (2011) and Martinez *et al*., (2011) for co-digestion of a lipid rich waste.

Performance parameters of the R-WOS reactor can be seen in Table 7.3. Average values reported at 50 d HRT were calculated from data obtained during the period between 50 - 152 days. The reactor experienced a decrease in methane yield with the decrease in HRT, from 326 ± 46 l/kg VS_{feed} to 274 ± 43 l/kg VS_{feed} at an HRT of 30 d (considering the period between 174 – 263 days). However, both values were higher than the one reported under batch conditions. This result may be rationalised by the acclimation of microbial populations to the substrate which was achieved during the first 50 days of the semi-continuous experiment. Ferreira *et al*. (2012) and Regueiro *et al*. (2012) also observed an increase in the biogas production as a result of the co-digestion with a lipid rich waste and SM. Specific methane production by these two authors were higher than the value reported from the present experiment. However comparisons must be carefully taken due to the differences in the origin and characteristics of the oil rich co-substrate.

Although co-digestion of lipid rich wastes may present several operational problems, such as foam formation, biomass flotation and clogging, none of them were observed during the operation of the semi-continuous reactor thanks to the initial adaptation period of the microflora to the co-substrate.

Average values of stearic acid observed during the 30 d HRT period were higher with peak concentrations being close to 200 mg/l. Inhibition of AD has been reported to occur at values of 100 – 300 mg/l of this acid (Alosta *et al.*, 2004; Lalman and Bagley,

2001). In this sense, the lower SGP observed at lower HRT may be explained by the increase in LCFA concentration and VFA accumulation. The increase in lipid concentration inside the reactor associated with the increase in OLR was the main cause for reducing the rate of degradation of VFA in the reactor at lower HRT. Sun *et al.* (2013) demonstrated that increasing the amount of lipids with the feeding mixture results in a concomitant increase in VFA due to lower degradation rates of these intermediaries. This inhibitory effect may be explained by the blocking of mass transfer processes due to LCFA superficial accumulation.

Table 7.3. Performance parameters of the R-WOS reactor.

Period evaluated (d)	***HRT 50 d***		***HRT 30 d***	
	(50-152)	(145-152)	(174-263)	(256-263)
Biogas (l/d)	2.2 ± 0.3	2.0 ± 0.2	3.0 ± 0.5	2.6 ± 0.3
SGP (l/kg VS_{feed})	504 ± 65	467 ± 62	427 ± 67	360 ± 40
CH_4 yield (l CH_4/kg VS_{feed})	326 ± 46	297 ± 40	274 ± 43	232 ± 32
% CH_4	64.7 ± 2.1	63.7 ± 1.2	64.2 ± 1.7	64.4 ± 0.2
TS (g/kg)	49.2 ± 4.0	47.2 ± 5.2	63.2 ± 7.7	68.8 ± 0.7
VS (g/kg)	35.2 ± 3.5	32.1 ± 4.7	47.4 ± 7.2	52.1 ± 0.7
VS removal (%)	50.7 ± 3.5	55.1 ± 6.5	33.8 ± 6.6	27.2 ± 1.0
COD (g/l)	63.5 ± 6.1	57.8 ± 8.4	78.8 ± 14.9	87.2 ± 15.7
TAN (mg/l)	5 119 ± 636	5 893 ± 236	5 993 ± 563	5 403 ± 571
FA (mg/l)	902 ± 226	1 013 ± 139	860 ± 239	640 ± 64
pH	8.31 ± 0.16	8.29 ± 0.05	8.20 ± 0.11	8.11 ± 0.01
Alkalinity (mg/l)	19.0 ± 2.1	20.8 ± 0.5	18.8 ± 2.0	17.2 ± 3.6
VFA (mg/l)				
Acetic	863 ± 482	1 405 ± 619	1 849 ± 1 000	1 336 ± 211
Propionic	124 ± 196	141 ± 82	411 ± 733	165 ± 66
Isobutyric	37 ± 72	96 ± 105	198 ± 363	ND
Butyric	35 ± 45	98 ± 51	49 ± 72	ND
LCFA (mg/l)				
Stearic	29 ± 8	15 ± 4	42 ± 13	21 ± 1
Palmitic	40 ± 11	29 ± 18	40 ± 16	27 ± 5

The content of TS and VS of the reactor (as shown in Figure 7.3A) were characterised by an increasing trend during the first HRT with a subsequent stabilisation afterwards. However, the posterior decrease in HRT caused a new increase in these values thereby indicating an incomplete degradation of the organic matter which gave as result an increase in LCFA. This factor was the main cause for the lower SGP obtained during the latter period. This also brought as a consequence, a decrease in VS removal from 50.7% to 33.8%.

TAN values reported during the semi-continuous tests were considerably high in both periods evaluated. As Figure 7.3B shows, a progressive increase was observed in TAN values during the first 50 days. Values of FA did not reflect the increase in ammonia levels due to the lower pH of the reactor at the initial experimental phase. An abrupt increase in FA was observed between days 50 - 65 due to the combined effect of the increase in TAN, pH and decrease in VFA. The average TAN and FA values for the period evaluated at an HRT of 50 days were 5.12 g/l and 0.9 g/l respectively. Although digestion of substrates with high protein content, such as SM, usually leads to high TAN levels in the reactor. This does not necessary involve a decrease in the methane yield, as inhibition is more affected by the FA concentration (Hansen *et al*., 1998). FA depends on the TAN concentration, pH and temperature in the digester, which might partially explain the different threshold values of ammonia inhibition reported. Cuetos *et al*., (2011) carried out the co-digestion of SM and energetic crop residues under mesophilic conditions with mean TAN values over 4.3 g/l without reporting inhibition signs. Lobato *et al*., (2010) also reported TAN levels between 4.7 and 5.3 g/l in a reactor treating SM and varying amounts of glycerine without experiencing inhibition. The average FA content in R-WOS reactor was 902 ± 226 mg/l at an HRT 50 d and slightly lower at an HRT 30 d. Although these values exceeded the limits set as inhibitory for methanogens (Chen *et al*., 2008), several authors have reported successful acclimation of microflora to high FA levels after an adaptation period for FA concentrations up to 1 g/l (Hansen *et al*., 1998; Lobato *et al*., 2010).

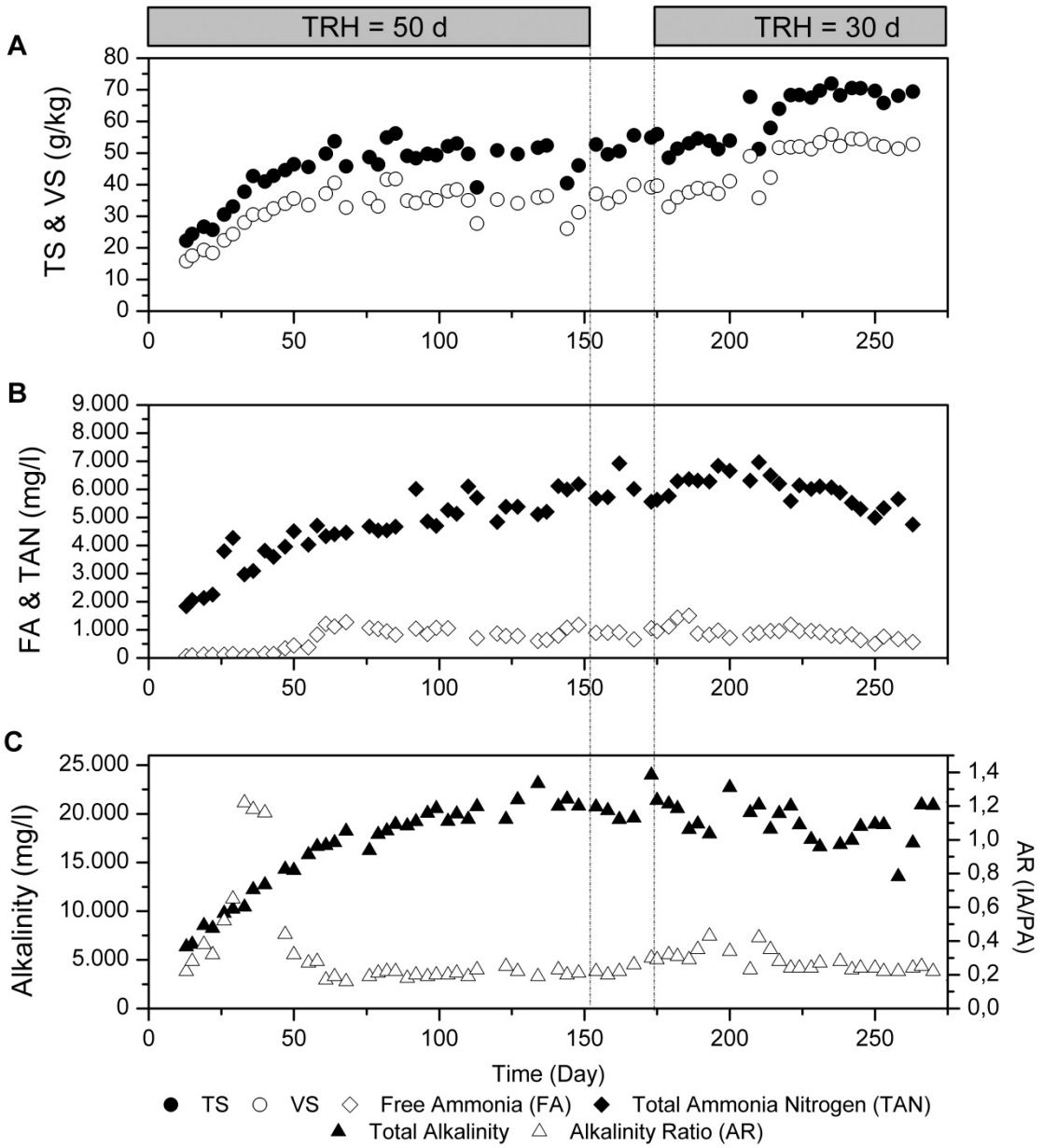

Figure 7.3. Evolution of the main parameters monitored for the reactor; TS and VS, Total ammonia nitrogen (TAN) and free Ammonia (FA) (B), and Total alkalinity (C).

The IA/PA ratio has been reported as more sensitive parameter than VFA-TA or IA/TA ratios for digesters with high alkalinity (Astals *et al*., 2012; Ferrer *et al*., 2010). Figure 7.3C shows a peak in IA/PA ratio during the initial phase of the experiment, which keeps relation with the VFA build-up experienced between days 20 and 40. However, as VFA were later consumed by methanogen a rise in alkalinity was observed. As consequence, the IA/PA ratio dropped to values below 0.4, which are

reported as critical for the stability of the reactor (Astals *et al*., 2012). The alkalinity of the reactor increased during the first 100 days until reach stable values (about 20 g/l). The second experimental phase (at lower HRT) was characterised by higher variations in alkalinity and an increase in IA/PA ratio, which reached values up to 0.4 (around day 170). This behaviour was explained by the increase in VFA previously described when decreasing HRT to 30 days.

7.3.3 Stability of the digestate

Respirometry tests were carried out over both, feeding and digestate samples obtained at the end of the HRT at 50 days. The OUR value measured for the digested sample was 120 ± 48 mmol O_2/kg VS h. Despite of the great reduction achieved in this value (nearly 96%) by the digestion process (Figure 7.4B), the digestate was not suitable for land application. The COU value measured for the same sample (4 970 ± 707 mmol/kg VS) was also significantly lower than the one obtained for the feeding sample (Figure 7.4A), but slightly higher than the threshold value (4 842 mmol/kg VS) suggested by Alburquerque *et al*. (2012). In addition, digestate may be qualified as very unstable according to Veeken *et al*. (2003).

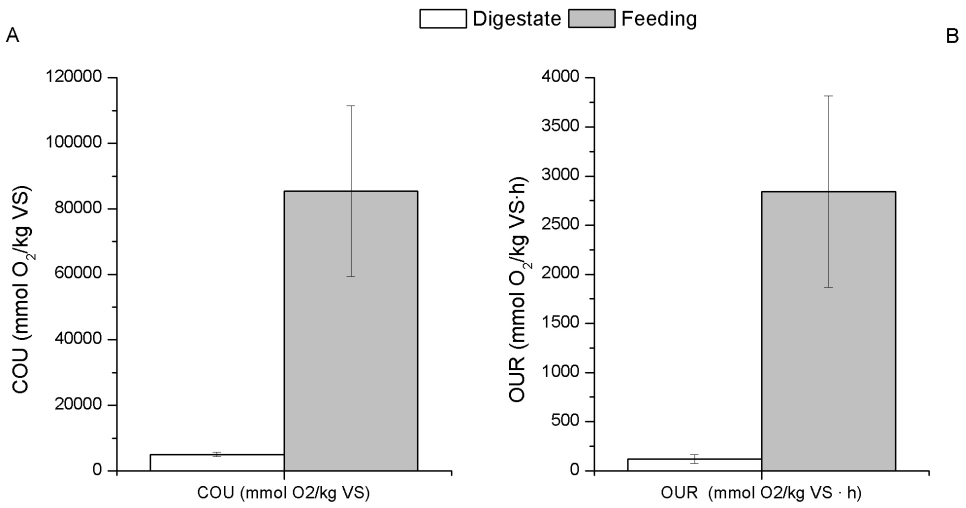

Figure 7.4. Cumulative oxygen uptake (COU) and Oxygen uptake rate (OUR) for digestate and feeding.

Phytotoxicity tests are of great relevance, since toxicity to plant is linked to a lack of maturity in residues. Values below 90% in parameters such as RSG or GI are indicative of toxicity (Sánchez *et al*., 2008). Table 7.4 shows results of digestate samples obtained at an HRT of 50 days. RSG results showed a negative effect over the germination of seeds. This effect was less significant with the increase in sample dilution. RSG values indicated permanent harm at any dilution and in all cases tested. Particularly, root growth was not observed at10/100 dilution.

Table 7.4. Relative seed germination of L. sativum after 24 (RSG24), 48 (RSG48) and 72 h RSG72, relative root growth and germination index after 72 hours (RRG72 and GI72 respectively)

Concentrations (g waste/ml water)	***RSG24***	***RSG48***	***RSG72***	***RRG72***	***GI72***
1/100	61.2 ± 4.7	71.2 ± 3.5	82.2 ± 2.9	26.7 ± 1.7	22.0 ± 4.2
5/100	29.9 ± 3.2	39.7 ± 3.5	54.8 ± 2.8	0.0	0.0
10/100	17.9 ± 2.1	17.8 ± 2.0	19.2 ± 1.9	0.0	0.0

7.4 CONCLUSIONS

Co-digestion batch tests revealed an increase in biogas production for any of SM-WOS mixtures tested when compared with the single digestion test of SM. Co-substrate addition resulted in an increase in biogas production about 1.5 to 2 fold thanks to the increase in specific biogas production associated to the co-substrate. In addition, a synergistic effect was observed under batch conditions for the different ratios tested. Results obtained from co-digestion batch tests presented higher SGP values than those obtained from the individual substrates, thus indicating that the combination of these residues led to a better utilisation of the organic matter by the anaerobic microflora. Higher biogas production achieved (per unit of volume) thanks to co-digestion can be a

key factor to ensuring the feasibility of an AD plant treating manures, as it increases revenues from the sale of electricity.

Co-digestion under semi-continuous conditions was successfully performed at an oil sludge fraction of 7% (w/w) and an HRT of 50 d. The reactor needed a period of over 50 days to achieve stable performance. The addition of WOS did not produce major inhibitory effects. However, a decrease in the specific methane production was observed with the increase in OLR. This behaviour was probably due to a partial inhibition of the methanogenic activity by VFA and LCFAs accumulation. The CH_4 yield obtained at an HRT of 50 d was 326 ± 46 l/kg VS_{feed} and this value was decreased to 274 ± 43 l/kg VS_{feed} with the decrease of HRT to 30 d.

Despite of operating at low OLR digestate was not suitable for land application. The value of OUR measured from stability tests of digestate samples at an HRT of 50 d suggested the need of a post-treatment such as long-term storage process or micro-aeration to increase stability of the organic material. Digestate should not be directly applied to the soil as fertiliser and might have a negative effect over soils or crops.

Acknowledgements

This work was financially supported by project LE091A11-2 of the Junta de Castilla y León

7.5 REFERENCES

Alburquerque, J.A., de la Fuente, C., Ferrer-Costa, A., Carrasco, L., Cegarra, J., Abad, M., Bernal, M.P., 2012. Assessment of the fertiliser potential of digestates from farm and agroindustrial residues. Biomass Bioenergy.

Alosta, H., Lalman, J.A., Jing, D., Bellmer, D., 2004. Glucose fermentation in the presence of linoleic, oleic and stearic acids by a mixed culture. J. Chem. Technol. Biotechnol. 79, 327–334.

Álvarez, J.A., Otero, L., Lema, J.M., 2010. A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes. Bioresour. Technol. 101, 1153–1158.

Alves, M.., Mota Vieira, J.., Álvares Pereira, R.., Pereira, M.., Mota, M., 2001. Effects of lipids and oleic acid on biomass development in anaerobic fixed-bed reactors. Part II: Oleic acid toxicity and biodegradability. Water Res. 35, 264–270.

Angelidaki, I., Karakashev, D., Batstone, D.J., Plugge, C.M., Stams, A.J.M., 2011. Biomethanation and its potential. Methods Enzymol. 494, 327–351.

APHA, 2005. Standard methods for the examination of water & wastewater, American Public Health Association. ed. American Public Health Association, Washington DC.

Astals, S., Nolla-Ardèvol, V., Mata-Alvarez, J., 2012. Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate. Bioresour. Technol. 110.

Bautista, L.F., Vicente, G., Rodríguez, R., Pacheco, M., 2009. Optimisation of FAME production from waste cooking oil for biodiesel use. Biomass Bioenergy 33, 862–872.

Calli, B., Mertoglu, B., Inanc, B., Yenigun, O., 2005. Effects of high free ammonia concentrations on the performances of anaerobic bioreactors. Process Biochem. 40, 1285–1292.

Cuetos, M.J., Gomez, X., Martínez, E.J., Fierro, J., Otero, M., 2013. Feasibility of anaerobic co-digestion of poultry blood with maize residues. Bioresource Technology 144, 513–520.

Cuetos, M.J., Fernández, C., Gómez, X., Morán, A., 2011. Anaerobic co-digestion of swine manure with energy crop residues. Biotechnol. Bioprocess Eng. 16, 1044–1052.

Cuetos, M.J., Gómez, X., Otero, M., Morán, A., 2008. Anaerobic digestion of solid slaughterhouse waste (SHW) at laboratory scale: Influence of co-digestion with the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). Biochem. Eng. J. 40, 99–106.

Chen, Y., Cheng, J.J., Creamer, K.S., 2008. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. Bioresour. Technol. 99, 4044–4064.

Fernández, A., Sánchez, A., Font, X., 2005. Anaerobic co-digestion of a simulated organic fraction of municipal solid wastes and fats of animal and vegetable origin. Biochem. Eng. J. 26, 22–28.

Ferreira, L., Duarte, E., Figueiredo, D., 2012. Utilization of wasted sardine oil as co-substrate with pig slurry for biogas production – A pilot experience of decentralized industrial organic waste management in a Portuguese pig farm. Bioresour. Technol. 116, 285–289.

Ferrer, I., Vázquez, F., Font, X., 2010. Long term operation of a thermophilic anaerobic reactor: Process stability and efficiency at decreasing sludge retention time. Bioresour. Technol. 101, 2972–2980.

Fierro, J., Gómez, X., Murphy, J.D., 2014. What is the resource of second generation gaseous transport biofuels based on pig slurries in Spain? Appl. Energy 114, 783–789

Georgacakis, D., Sievers, D.M., Iannotti, E.L., 1982. Buffer stability in manure digesters. Agric. Wastes 4, 427–441.

Girault, R., Bridoux, G., Nauleau, F., Poullain, C., Buffet, J., Peu, P., Sadowski, A.G., Béline, F., 2012. Anaerobic co-digestion of waste activated sludge and greasy sludge from flotation process: Batch versus CSTR experiments to investigate optimal design. Bioresour. Technol. 105, 1–8.

Hansen, K.H., Angelidaki, I., B. K. Ahring, 1998. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia. Water Res. 32, 5–12.

Hartmann, H., Ahring, B.K., 2005. Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure. Water Res. 39, 1543–1552.

Holm-Nielsen, J.B., Al Seadi, T., Oleskowicz-Popiel, P., 2009. The future of anaerobic digestion and biogas utilization. Bioresour. Technol. 100, 5478–5484.

Kim, S.-H., Han, S.-K., Shin, H.-S., 2004. Kinetics of LCFA inhibition on acetoclastic methanogenesis, propionate degradation and beta-oxidation. J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng. 39, 1025–1037.

Kulkarni, M.G., Dalai, A.K., 2006. Waste cooking oil an economical source for biodiesel: A review. Ind. Eng. Chem. Res. 45, 2901–2913.

Labatut, R.A., Angenent, L.T., Scott, N.R., 2011. Biochemical methane potential and biodegradability of complex organic substrates. Bioresour. Technol. 102, 2255–2264.

Lalman, J.A., Bagley, D.M., 2001. Anaerobic degradation and methanogenic inhibitory effects of oleic and stearic acids. Water Res. 35, 2975–2983.

Lam, M.K., Lee, K.T., Mohammed, A.R., 2010. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. Biotechnol Adv. 28, 500–518.

Li, C., Champagne, P., Anderson, B.C., 2011. Evaluating and modeling biogas production from municipal fat, oil, and grease and synthetic kitchen waste in anaerobic co-digestions. Bioresour. Technol. 102, 9471–9480.

Lobato, A., Cuetos, M.J., Gómez, X., Morán, A., 2010. Improvement of biogas production by co-digestion of swine manure and residual glycerine. Biofuels 1, 59–68.

MAPA, 1994. Métodos Oficiales de Análisis. Direccion General de Politica Alimentaria, Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación., Madrid.

Martínez, E.J., Redondas, V., Fierro, J., Gómez, X., Morán, A., 2011. Anaerobic digestion of high lipid content wastes: FOG co-digestion and milk processing FAT digestion. J. Residuals Sci. Technol. 8, 53–60.

Martín-González, L., Colturato, L.F., Font, X., Vicent, T., 2010. Anaerobic co-digestion of the organic fraction of municipal solid waste with FOG waste from a sewage treatment plant: recovering a wasted methane potential and enhancing the biogas yield. Waste Manag. 30, 1854–1859.

Murto, M., Bjornsson, L., Mattiasson, B., 2004. Impact of food industrial waste on anaerobic co-digestion of sewage sludge and pig manure. J. Environ. Manage. 70, 101–107.

Palatsi, J., Laureni, M., Andrés, M.V., Flotats, X., Nielsen, H.B., Angelidaki, I., 2009. Strategies for recovering inhibition caused by long chain fatty acids on anaerobic thermophilic biogas reactors. Bioresour. Technol. 100, 4588–4596.

Panichnumsin, P., Nopharatana, A., Ahring, B., Chaiprasert, P., 2010. Production of methane by co-digestion of cassava pulp with various concentrations of pig manure. Biomass Bioenergy 34, 1117–1124.

Patni, N.K., Jui, P.Y., 1985. Volatile fatty acids in stored dairy-cattle slurry. Agric. Wastes 13, 159–178.

Pereira, M. a., Pires, O. c., Mota, M., Alves, M. m., 2005. Anaerobic biodegradation of oleic and palmitic acids: Evidence of mass transfer limitations caused by long chain fatty acid accumulation onto the anaerobic sludge. Biotechnol. Bioeng. 92, 15–23.

Regueiro, L., Carballa, M., Álvarez, J.A., Lema, J.M., 2012. Enhanced methane production from pig manure anaerobic digestion using fish and biodiesel wastes as co-substrates. Bioresour. Technol. 123, 507–513.

Sánchez, M., Gomez, X., Barriocanal, G., Cuetos, M.J., Morán, A., 2008. Assessment of the stability of livestock farm wastes treated by anaerobic digestion. Int. Biodeterior. Biodegrad. 62, 421–426.

Sosnowski, P., Wieczorek, A., Ledakowicz, S., 2003. Anaerobic co-digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid wastes. Adv. Environ. Res. 7, 609–616.

Sun, Y.,Wang, D., Yan, J., Qiao, W., Wang, W., Zhu, T., 2013. Effects of lipid concentration on anaerobic co-digestion of municipal biomass wastes. Waste Manag. http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2013.07.018

Thompson, J.C., He, B.B., 2006. Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. Appl. Eng. Agric. 22, 261.

Veeken, A.H.M., De Wilde, V., Hamelers, H.V.M., Moolenaar, S.W., Postma, R., 2003. Oxitop measuring system for standardised determination of the respiration rate and N-mineralisation rate of organic matter in waste material, compost and soil. Wageningen University.

Zucconi, F., Pera, A., Forte, M., De Bertoldi, M., 1981. Evaluating toxicity of immature compost. BioCycle 22, 54–57.

Capítulo 8

WHAT IS THE RESOURCE OF SECOND GENERATION GASEOUS TRANSPORT BIOFUELS BASED ON PIG SLURRIES IN SPAIN?

Applied Energy 144 (2014) 783-789

Julio Fierro [a], Xiomar Gómez [a], Jerry D Murphy [b, c,]

[a] *Chemical Engineering Department, IRENA, University of León, Spain*
[b] *Environmental Research Institute, University College Cork, Cork, Ireland*
[c] *Department of Civil and Environmental Engineering, University College Cork, Cork, Ireland*

Edition of this manuscript was in accordance with the scientific journal

ABSTRACT

Biomethane produced through anaerobic digestion of residues is classified as a second generation gaseous biofuel. A technique employed in Spain to deal with pig slurry is drying, using the heat from natural gas combined heat and power (CHP) systems. This paper examines production of biomethane from pig slurry. Two scenarios are investigated: co-digestion of pig slurry with glycerine (a by-product of biodiesel production) and co-digestion of pig slurry with the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW). Both scenarios include for ca. 10 Mt of pig slurry each year.

A combination of the two scenarios is sufficient to provide for 1.4% of energy in transport by 2020. The EU Renewable Energy Directive allows a double weighting to biofuels produced from residues when assessing renewable energy supply in transport (RES-T) targets for 2020. Thus the scenarios allow for 2.8% RES-T.

The biomethane is sufficient to run 15,300 city buses or substitute for natural gas in 632,000 houses (8.7% of houses connected to the gas grid). The proposed biomethane industry would generate a fuel of similar sale price as diesel, allow for savings in the range 1046 to 1272 kt CO_2eq in transport fuel emissions and create more than 6,000 jobs.

Keywords: biomethane; pig slurry; glycerine; biofuels; biogas.

8.1 INTRODUCTION

8.1.1 Renewable energy targets for Spain

At present, 11.1% of primary energy and nearly one third of electricity consumption in Spain is supplied by Renewable Energy Sources (RES) [1]. The Spanish Renewable Energy Plan 2011-2020 [2] establishes a roadmap for the renewable energy sector until 2020 in accordance with the targets set by the Renewable Energy Directive [3]. The final energy consumption forecast for 2020 is 4,122 PJ. Transport is the dominant sector, with 32.8% of the final energy consumption (Table 8.1). Austerity however may lead to a reduction in this prediction. The predicted economic growth of 2 to 2.5% per annum until 2020 is unlikely to be achieved. Final energy consumption in 2011 was 3,904 PJ, a decrease of 4.4% over 2010 [1].

Table 8.1. Gross Final Energy Consumption forecast for 2020 [2]

Energy Consumption forecast (2020)	***PJ***	***%***
Thermal energy (Heating and cooling)	1,295	31.4
Electricity	1,338	32.5
Transport (road and rail)1	1,352	32.8
Final Energy consumption2,3	**4,122**	**100**

[1]Transport consumption includes road and rail calculation according to article 3.4 of Directive 2009/28/EC
[2]Several parameters are used to calculate the gross final energy consumption, thus this parameter does not coincide with the addition of thermal energy, electricity and transport.
[3]Including the deduction for aviation included in the article. 5.6 of Directive 2009/28/EC (10 PJ)

According to the Renewable Energy Plan [2] (Table 8.2) the contribution of renewable energy to energy consumption in Spain will be 859 PJ (20.8 % of final

energy consumption). Renewable Energy Sources in Transport (RES-T) will be 11.3% calculated using the methodology outlined in the Renewable Energy Directive [3].

In the biogas sector, the targets for 2020 are 400 MWe of installed power with an annual electricity production of 2,600 GWeh (9.36 PJ). In the thermal sector biogas is targeted to supply 4.2 PJ (1167 GWh) per annum by 2020.

Table 8.2. Renewable Energy Targets for 2020 [2]

Renewable Energy Targets for 2020 Renewable Energy Plan (REP)	***PJ***	***%***
Heating/Cooling using Renewable Energy (RE) sources	224	17.3
Electricity consumption from renewable sources	521	38.9
Energy in transport1	153	11.3
Total Energy consumption from renewable sources	8592	20.8

[1]Renewable energy in transport (135 PJ) used to calculate % of RES-T is modified to include weighting for biofuels from residues (weighting of 2) and electricity in road transport (weighting of 2.5). The total weighted energy in transport is 153 PJ which is 11.3% RES-T

[2]The total energy consumption is calculated subtracting electricity in transport (21.1 PJ) to avoid double

8.1.2 Biogas sector in Spain

The biogas sector in Spain is under developed when compared with other renewable energy sources. The previous Renewable Energy Plan (2006-2010) set a biogas target of 235 MWe for 2010. Only 159 MWe was installed, with an annual production of 600 GWeh. About 78% of this production comes from landfill gas (115 MWe). The rest of the biogas is produced from [2]:

- Organic fraction of municipal solid waste (OFMSW; 19 MWe);
- Agro-industrial wastes (14 MWe) and
- Wastewater treatment plants (WWTP; 11 MWe).

This low level development can be explained by the low feed-in tariffs for electricity produced from biogas. Up until February 2013 the feed in tariff was ca. 0.145 €/kWeh for plants less than 500 kWe. However as of February 2013 there is no subsidy for new biogas plants in Spain, and subsidies have been reduced for those currently in operation (see section 8.4.2).

This may be compared with the feed-in tariffs in Germany (up to €0.30 /kWeh) [4]. Implementation of the Landfill Directive [5] will reduce the organic waste sent to landfill which will reduce the landfill gas production while increasing the feedstock available for anaerobic digestion.

Spanish biogas potential is estimated at 75.3 PJ; 78% of the resource is based on agri-food wastes [6]. Thus agriculture, farming, and the food industry are the key sectors in initiation of a biogas industry. Co-digestion of wastes must be undertaken to optimise biogas yields and financial sustainability of the anaerobic digestion (AD) facilities.

8.1.3 Co-digestion of pig slurry with methane rich substrates

Animal manures and slurries are the largest source of organic waste produced in the EU-27 with more than 1.5 billion tons produced per annum. Anaerobic digestion of these slurries should be a great resource of renewable energy and nutrients for sustainable agriculture [7]. The slurry considered in this paper is typical of the slurry produced in large pig farm with pigs on slatted systems. This slurry has a low solids content (less than 8% dry solids (DS) and a low biogas yield (10-20 m^3 CH_4 per ton of wet slurry) [8–11]; thus mono digestion is uneconomic. Co-digestion with substrates that have a high methane production per unit volume and a gate fee is critical for an economically feasible industry [8,12]. Denmark was a pioneer in centralised co-digestion plants, integrating organic waste treatment, renewable energy production and nutrient recycling [7].

8.1.4 Environmental justification for digestion of pig slurry

The pig industry in Spain is the second biggest in the EU with nearly 25 million pigs and a yearly turnover of €4 billion [13]. Slurry production of 45.9 Mt is generated on intensive pig farming facilities every year [14]. Environmental concerns with this industry include for (greenhouse gas) GHG emissions associated with animal manure management and pollution of water and groundwater due to nutrient leaching. GHG emissions from the farming sector accounts for 10.7 % of the total GHG emitted by Spain according to the National GHG Inventory [15]. GHG emissions in the agricultural sector may be broken down as follows:

- 29% From enteric fermentation by cattle
- 28% From manure management
- 43% Through tillage operations and application of nitrogen fertilizers from both organic and inorganic sources (65% of these emissions are in the form of N_2O).

Conventional management of pig slurries in Spain involves storage in lagoons and subsequent application as fertilizer. This storage generates 8.9 Mt of CO_2eq each year, mainly in the form of CH_4; field application of these slurries emits 1.1 Mt CO_2eq, mainly N_2O [14]. Anaerobic digestion allows the stabilization of the organic matter and reduces the GHG emissions of manure degradation in storage [12,16]. It also reduces emissions on subsequent land application of digestate as compared to application of raw slurries and mineral fertilizers [17,18]. The Ministry of Agriculture developed the pig slurry bio-digestion plan (PSBP) [14] to achieve digestion of 9.5 Mt of pig slurry whilst saving 1.78 Mt CO_2eq.

8.1.5 Present treatment of pig slurry in Spain

Slurry treatment plants (not involving anaerobic digestion) have been built recently in areas with a high concentration of pig farms, and especially in those zones classified as vulnerable by the Nitrate Directive [19]. The treatment involves separation of the solid and liquor phases of the slurry. Natural gas powered CHP engines are used to produce electricity at a special feed-in tariff of €0.15 /kWeh (February 3013). The

heat is used to dry the slurry which is then used as an organic fertiliser. At present there are 27 treatment plants with a generation power of 364 MWe, treating 2.5 Mt of pig slurry annually. These plants recycle 100,000 t/a of fertilizers and save 700,000 t CO_2eq annually [20]. A few plants produce biogas from the pig slurry and combine this with natural gas for CHP production.

8.1.6 Aims and objectives

The aim of this paper is to explore the potential and merits of an anaerobic digestion industry based on pig slurry. It is suggested by the authors that digestion of slurry is preferable to the practice employed of drying slurry using the heat from natural gas CHP systems. Low levels of subsidy suggest that the produced biogas may be best used as a transport fuel. Upgrading biogas to biomethane allows for a second generation gaseous biofuel system which is encouraged by the Renewable Energy Directive (RED) [3] through a double counting of the energy in the biofuel. This gaseous biofuel system allows for beneficial treatment of waste, reduction in GHG emissions and allows compliance with the Landfill Directive and the Renewable Energy Directive [3]. Thus the objectives of this paper are:

- Produce broad scenarios for a biomethane industry in Spain based on co-digestion of pig slurry with suitable co-substrates.
- Assess the bioresource of produced biomethane in terms of satisfying renewable energy supply in transport (RES-T).
- Assess the resource in terms of vehicles powered by the biomethane.

8.2 METHODOLOGY

8.2.1 Pig slurry co-digestion

Besides the low biogas yield, mono digestion of slurries is often problematic due to its high nitrogen content. The addition of a suitable co-substrate can improve the stability of the digestion process, balance the C:N ratio, increase the methane yield and offer several advantages for the management of organic wastes [7,21].

This paper deals with the introduction of the centralised digestion plant concept in Spain for the treatment of pig slurry in co-digestion with other organic wastes. Two different scenarios are considered. The first analyses the biogas potential of pig slurry in co-digestion with residual glycerine from biodiesel production. The second analyses the biogas potential in co-digestion with municipal solid waste.

8.2.2 Scenario 1: Biogas potential from pig slurries and biodiesel residues

Biodiesel is expected to play a significant role in facilitating compliance with the RES-T target in Spain. It is expected to provide 97 PJ or 72% of the actual (un-weighted) renewable energy in transport target (135 PJ). Crude glycerine is a by-product of biodiesel with a production rate of 0.1L glycerine per L biodiesel. The increase in biodiesel production in recent years has generated an oversupply of glycerine and a resulting fall in its market price. The prices are such that refining of glycerol is financially unfeasible. This necessitates new pathways of use for low- grade glycerine [22,23]. Glycerine is not suited to mono-digestion but several authors [24–28] report significant increases in specific methane yields (LCH_4/kg VS) when co-digesting pig slurry with glycerine. Lobato et al [26] set a limit value of 5% (v/v) glycerine with pig slurry; at this level a biogas yield of 38.4 m^3/t at 62.5% methane (24m^3 CH_4/kg VS) was achieved. Further increase in the proportion of glycerine led to accumulation of propionic acid and the failure of the process [26].

Table 8.3 is based on the assumption that all existing biodiesel plants are at full capacity in 2020. This capacity equates to 4,441,000 m^3/a (146 PJ/a; slightly in excess

of RES- T target of 135 PJ) and would generate 444,100 m^3/a of glycerine. On a 5% volume to volume ratio 8.38Mt of pig slurry is required for co-digestion. This should produce 213.2 million m^3 of biomethane (7.9PJ; 5.2% of RES-T target). Typically the parasitic energy demand of the AD plant (mixing, pumping, heating, biogas upgrading and compression) will be 24.7% of the energy produced [29].

Table 8.3. Energy from scenario 1

Energy from scenario 1: Pig Slurry : Glycerine = 95:5 (v/v)	
Feedstock for AD	
Glycerine from biodiesel (m^3/a)	444,100
Pig slurry treated (m^3/a)	8,379,000
Total feedstock for AD (t/a)	8,882,000
Biomethane Production	
CH_4 obtained (m^3/a) [a]	213,168,000
PJ/a from biomethane [b]	7.89

[a] Considering a biogas yield of 38.4 m^3/t @ 62.5% CH_4 [26])
[b] Energy from biomethane higher heating value (HHV): 37 MJ/m^3 CH_4

8.2.3 Scenario 2: Biogas potential from pig slurries and domestic food wastes

On average, each person generates 535 kg of municipal solid waste (MSW) in Spain, of which 44.06% is organic (235 kg OFMSW/person/year) [13]. Long term operation of digesters treating the organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) has been reported as problematic due to lack of trace elements and accumulation of organic acids. This can lead to imbalances in the reactor, a drop in biogas production, and ultimately failure of the digestion process [30]. Co-digestion with slurry improves biological process through addition of trace elements and improvement of the buffering capacity of the system [21].

An assortment of biogas yields from OFMSW can be found in the literature. The values depend on the composition of the waste, the digestion technology used, and the method of collection. Source segregation of OFMSW is reported as generating higher methane yields, and producing better quality digestate than comingled MSW separated at a materials recovery facility (MRF) [16,31]. On average, a biomethane yield of between 0.40 and 0.50 m^3 CH_4/kg VS can be expected [12]. The expected methane production from co-digestion of OFMSW and slurry is outlined below:

- OFMSW: 450 L CH_4/kg VS (28.5 % VS) = 128 m^3 CH_4/t [32,33]
- Pig Slurry: 15 m^3 CH_4/t [8 – 11]
- Co-digestion at 1:1 by volume = 72 m^3 CH_4/t

Table 8.4 outlines scenario 2. OFMSW generated in two large cities is analysed in co- digestion with pig slurry produced within a radius of not greater than 75 km; (2.89 Mt/a of slurry is available within 75 km of Madrid; 4.69 Mt/a within 75 km of Barcelona). OFMSW has a higher solids content than slurry (ca. 30% versus ca. 8%) and as such it is more energy efficient to transport OFMSW the larger distance.

Table 8.4. Energy from scenario 2

Energy from scenario 2: PS + OFMSW			
	Madrid	**Barcelona**	**Total**
Feedstock for AD			
Inhabitants (millions)	5.0	3.2	8.2
OFMSW available (t/a)	1,178,605	754,307	1,932,912
Pig slurry treated (t/a)	1,178,605	754,307	1,932,912
Total feedstock for AD (t/a)	2,357,210	1,508,614	3,865,824
Biomethane Production			
CH_4 obtained (m^3/a)	169,719,120	108,620,200	278,339,328
PJ/a from biomethane [a]	6.28	4.02	10.30

[a] Energy from biomethane higher heating value (HHV): 37 MJ/m^3 CH_4

Energy studies have shown that transport of feed-stocks is more of a financial issue than an energy balance issue [34, 35]. The radius of 75km is the extreme distance; the average distance is half that (37.5 km). In a biomethane industry the cheaper facilities are likely to be constructed first; these would probably be the ones with a shorter transport distance. Those with longer expensive transport distances may not be constructed but are still part of the resource.

Thus it is suggested that the facilities would be situated within a few kilometres of the pig farms on the gas grid to allow gas grid injection. The methane potential is 278.3 million m^3/a (10.3 PJ/a or 20.6 PJ allowing for a weighting; equivalent to13.5% of the RES-T target). Typically OFMSW would have more electrical parasitic demand (need to process food waste) and a lesser parasitic thermal demand due to the high solids content [34]. However the overall parasitic demand would be similar. In both scenarios it is assumed that all the biomethane will be sold and the energy demand will be satisfied by biomass for thermal energy and wind for electricity.

8.2.4 Biomethane as a natural gas substitute

Biomethane is recognized by the EU Renewable Directive [3] as one of the most sustainable fuels, with a GHG savings on a whole life cycle basis, as compared to the fossil fuel replaced, of 80 to 84%. This is significantly better than first generation liquid biofuels. Biogas upgraded to biomethane (97% plus CH_4) can be injected to the natural gas grid, and used in any way natural gas is used. The Spanish Renewable Energy Plan 2011-2020 [2], expects electricity production from biogas to be competitive for plants with a biogas yield of more than 50 mn^3 per m^3 of waste by 2030. This outlook allied with the slow development of the biogas sector in Spain, suggest the need to consider alternative paths for the use of biogas than electricity production. This is definitely the case for larger facilities, as the feed-in tariff for facilities over 500 kWh is very low at €0.107 /kWeh. (February 2013)

Biogas upgrade requires scale to be economic. Various scales are suggested in the scientific press: between 20,000 and 80,000 t/a [35]; in excess of 50,000 t/a [34]. However the scale is more dependent on biogas produced which depends on the dry solids content and the specific methane yield of the feedstock. Browne *et al.* [31]

suggest costs of 22 c/m^3 biomethane for facilities sized at 250 m^3/h of biogas dropping to 18 c/m^3 biomethane for facilities sized at 500 m^3/h biogas. Molino *et al.* [36] suggest an estimated cost of biogas upgrade in the range of 20–22c/m^3 of biomethane compressed to 30 bar.

Spain has a large natural gas network, with 9,290 km of transport network and about 60,000 km of distribution network covering most of the country. Directive 2003/55/CE guarantees access to the gas grid when biomethane fulfils the technical and quality requirements.

8.3 RESULTS

8.3.1 Biomethane as transport fuel

Natural gas vehicles (NGV) are widespread. There are more than 1.3 million vehicles fuelled by compressed natural gas (CNG) in Europe, mainly buses and heavy transport [37]. At present there are 672 city buses [38], and 337 garbage trucks fuelled by CNG in Madrid, and about 376 city buses in Barcelona [39] . After upgrading, biomethane could replace the natural gas as a fuel on these vehicles without any mechanical modification. Using the average city bus consumption in Madrid [38], the biomethane obtained from scenario 1 would be sufficient to fuel 6,656 buses; the biomethane obtained from scenario 2, would be sufficient to fuel 8,691 buses.

Combining the two scenarios involves use of ca. 22% of the 45.9 Mt/a of pig slurry in Spain. The combined scenarios provide enough fuel to power 15,347 buses (Table 8.5). This is far in advance of that required by the bus fleet and the excess may be utilised by heavy goods vehicles and taxi fleets. The fuel is sufficient to satisfy 1.4% of energy in transport. Allowing for the double credit in the Renewable Energy Directive [3] this can satisfy 2.8% RES-T.

8.3.2 Biomethane replacing NG domestic consumption

Spain has 7.2 million houses connected to the NG grid, with an average consumption of 28.7 GJ per house per year. With reference to Table 8.5 it would be possible to cover the demand of 274,672 houses using the biomethane obtained from scenario 1, and 218,687 and 139,960 respectively in scenario 2 for the cities of Madrid and Barcelona. The development of both scenarios would be enough to cover the natural gas demand of 633,318 houses (8.7% of those connected to the natural gas grid).

Table 8.5. Potential Applications of biogas from both scenarios

	Scenario 1: PS + Gly	***Scenario 2: PS + OFMSW***		***Scenarios 1 & 2***
		Madrid	*Barcelona*	*Total*
Energy in biomethane (PJ/a)	7.89	6.28	4.02	18.18
Public city transport				
Nº Buses [a]	6,656	5,299	3,392	15,347
Energy on transport (2020)				
Fuel consumption in 2020 (PJ)	1,352	1,352	1,352	1,352
% of total	0.6	0.5	0.3	1.4
% of RES-T target 2020 [b]	10.3	8.2	5.3	23.7
Household NG consumption				
Nº Houses connected to NG	7,254,018	7,254,018	7,254,018	7,254,018
Nº houses with biomethane [c]	**274,672**	**218,687**	**139,960**	**633,318**
% of total	3.8	3.0	1.9	8.7

[a] Considering the average city bus consumption in Madrid: 1,185 GJ/y [38]
[b] RES-T target for 2020 = 153 PJ; double weighting applied to biofuels from residues
[c] Average NG Consumption: 28,7 GJ/user·yr

8.3.3 Environmental benefits of biomethane as a transport fuel

The Spanish Renewable Energy Plan 2011-2020 [2] proposes that the RES-T targets will be achieved through 97 PJ of biodiesel, 17 PJ of bioethanol and 21 PJ supplied by electric vehicles (EVs). At present biodiesel is produced mainly from imported soy and rape seed. Bioethanol is produced mainly from cereals. Biomethane is not considered in the Energy Plan. OFMSW, glycerine and slurries as feedstocks have no impact on food production and minimize environmental impact [40].

Biomethane is recognized by the Renewable Energy Directive [3] as one of the most sustainable fuels. Several studies reveal greater environmental benefits comparing with biodiesel and other first generation biofuels [29,41]. The Renewable Directive [3] demands a greenhouse gas (GHG) savings of 35% for biofuels, rising to 60% by 2018. It is extremely unlikely that this can be met by first generation liquid biofuels [29]. Furthermore, the European Commission in a proposal of October 2012 [42] proposes a limitation on first generation biofuels based on food crops of 5% of energy in transport. This aims to accelerate the development of 2nd and 3rd generation biofuels.

Besides the GHG reduction of biomethane, NGVs have many merits. End of pipe CO_2 emissions from these vehicles are 25% and 10% lower than gasoline and diesel engines respectively. Methane combustion is cleaner, with lower NOx, SO_2, particulate matter and other components associated with diesel combustion. Noise generation is also lower in NGVs [37,43].

Besides waste treatment, renewable sustainable biofuel production and clean burning fuels, a fourth environmental benefit is the use of digestate as a fertiliser. The use of digestate instead of raw manures and slurries will reduce nitrogen leaching, unpleasant odour emissions, and pathogen and weed seed distribution [44]. Nutrient recycling will also reduce the use of mineral fertilisers.

8.3.4 GHG Savings

Greenhouse gas analyses of biofuel systems are complex [45, 46]. Such an analysis would include for: the emissions associated with the substrates as they are presently treated; the emissions associated with the proposed digesters including for the

source of thermal and electrical demand of the facilities; fugitive losses of CH_4 at the facility; transport of the substrates and the digestate; substitution of fossil fertiliser with digestate fertiliser; displacement of fossil transport fuel from the Spanish fleet; efficiency of the vehicle on biomethane (km/MJ) as opposed to fossil fuel efficiency. This paper does not attempt a detailed analysis, but rather generates a simplified analysis based on the transport biofuel produced and on the data in the EU Renewable Energy Directive [3]. The Directive assigns a typical GHG emission savings (on a whole life cycle basis) of 80% to compressed biomethane from OFMSW and 84% to compressed biomethane from wet manure (compared to the displaced fossil fuel).

Table 8.6. GHG savings and employment generated by biomethane industry

	Scenario 1: PS + Glycerine	***Scenario 2: PS + OFMSW***		***Total Scenarios 1 & 2***
		Madrid	Barcelona	
Total feedstock	8,820,000	2,357,210	1,508,614	12,685,824
Biomethane produced PJ/a	7.89	6.28	4.02	18.19
GHG savings t CO_2/a	**552,105**	**439,573**	**281,326**	**1,273,004**
nº of facilities [a]	178	47	30	255
Direct employment [b]	534	141	90	765
Indirect Employment [b]	3738	987	634	5,355
Total Employment	**4,272**	**1,128**	**720**	**6,120**

[a] Assuming a plant size of 50,000 t/a
[b] Assuming the creation of 3 direct and 21 indirect jobs per plant [43]

Diesel emits 87kg CO_2/GJ on a whole life cycle basis [47]. Assuming diesel is the displaced transport fuel then the emission savings are of the order of 69.6 ktCO_2/PJ of biomethane from OFMSW and 73 ktCO_2/PJ of biogas from slurry. Values of 70 ktCO_2/PJ are assessed for biomethane from pig slurry and OFMSW. The savings from glycerine are not as well defined and these depend on the alternative use of glycerine and the method of resource allocation within the life cycle analysis. Glycerine is

responsible for 41% of the methane production in scenario 1. In this analysis it is assigned a value between zero and 70 kt CO_2/PJ. The potential GHG savings of the two scenarios is in the range of 1046 - 1272 kt CO_2/a (Table 8.6).

8.3.5 Socio-Economic Benefits

The development of a biomethane industry would aid security of energy supply and generate indigenous employment. It is estimated that a biogas plant with a capacity of 50,000 t/a could create 3 direct jobs and 21 indirect jobs in construction, transport of feedstocks and digestate [43]. Scenario 1 could create over 4,200 jobs on 176 AD facilities. Scenario 2 would create 1,131 jobs for Madrid and 724 for Barcelona.

8.3.6 Cost of biomethane produced

Table 8.7 outlines a build-up of capital costs for the two different digester types both at a scale of 50,000 t/a. Costings are taken from the recent paper by Browne and co- workers [31]. Scenario 1 (the agricultural digester: PS and glycerine) has a cheaper unit capital cost than Scenario 2 (the urban digester: PS and OFMSW) (€110/t/a versus €280/t/a). This is because the OFMSW requires higher specification in handling and hygiene. Biogas up-grading is dependent on economies of scale; biggeris cheaper. The upgrading facility for the rural digester (capacity of 150 m^3/h) is priced at €6,667/m^3/h while that of the urban digester (capacity of 450 m^3/h) is priced at €4,444/m^3/h. The capital costs of the rural digester at a scale of 50,000 t/a is €6.8M while for the rural digester at a similar feedstock scale is €16.3M. It should be noted that the biomethane output of the urban digester is a factor of 3 higher for the same mass of feedstock.

Table 8.8 outlines the running costs again based on the data from Browne and co- workers [31]. Maintenance is charged at €8/t for the rural digester and €30/t for the urban digester. This includes purchase of parasitic energy, transport of feedstock and land application of digestate. Hygiene is more of an issue from OFMSW, hence digestate processing is priced at €5/t for the urban digester. The cost of capital is assessed at 6% over 15 years. A depreciation fund is priced for the M&E component

which is assessed at 50% of the capital cost. This is depreciated by a straight line method over 14 years. A gate fee of €50/t is assumed for OFMSW while crude glycerine is charged at €80/t [48].

The cost of biomethane may be assessed in the range of €1.22 to €1.77 /m^3 biomethane, with the cheaper biomethane associated with feedstock with a gate fee such as OFMSW. One m^3 of biomethane has a similar energy content as a litre of diesel. Thus these prices may be contrasted with present costs of ca. €1.40/L of diesel.

Table 8.7. Summary of Capital Investment for Biomethane System

Capital Costs (€)	***PS & Glycerine***		***PS & OFMSW***	
Feedstock	50,000 t/a		50,000 t/a	
Biogas Plant	€110 t/a		€280 t/a	
		€5,500,000		€14,000,000
Biomethane production	1,200,000 m^3/a		3,600,000 m^3/a	
	150 m^3/h		450 m^3/h	
Biogas Upgrading Plant	€1,000,000	€1,000,000		€2,000,000
Gas Grid connection		€300,000		€300,000
Total Capital Cost		**€6,800,000**		**€16,300,000**

Table 8.8. Evaluation of price of biomethane

Annual Costs of biogas facility (€/a)	***PS & Glycerine***	***PS & OFMSW***
Maintenance and overheads	400,000	1,500,00
Digestate processing	0	250,000
Cost of Capital	550,00	1,400,000
Depreciation fund for M & E	183,33	466,667
Total Annual Costs of biogas facility	**1,133,33**	**3,616,667**
Purchase of Glycerine (€80/t)	200,00	
Income from gate fee (€50/t OFMSW)	0	1,250,000
Annual Cost of Biogas Production	**1,333,33**	**2,366,667**
Cost of Biogas production (€/m^3 biomethane)	**1.11**	**0.66**
Upgrading	**0.20**	**0.20**
Distribution	**0.15**	**0.15**
Cost of biomethane production (€/m^3)	**1.46**	**1.01**
VAT @ 21%	0.31	0.21
Cost of biomethane including VAT	**1.77**	**1.22**

8.4 DISCUSSION OF RESULTS

8.4.1 Advantages of co-digestion

The low biogas yields and the high water content of slurry is a barrier to financially sustainable biogas production from pig slurries. High water content increases transportation costs and energy demand (heating the digester). Biogas development in countries like Germany is based on co-digestion with energy crops. This is not a suitable option for Spain, as limited rainfall and droughts limit the yields of energy crops [4]. Co-digestion of wastes is the most appropriate remedy for Spain. Food waste and glycerine are excellent substrates for co-digestion with pig slurry.

8.4.2 Policy and Feed-in Tariffs

Feed-in tariffs for renewable energy sources in Spain are revised and updated every year depending on the consumer price index (CPI). However in 2012 the Spanish government temporarily halted subsides for all new renewable energy projects in order to decrease the debt of the electricity sector. The Spanish Biogas Association suggests 40 biogas plant projects ceased in 2012. A Government decree in February 2013 reduced the feed-in tariffs for plants in operation. For 2013 the tariffs are slightly lower than in 2012: €0.0145 /kWeh for facilities under 500 kWe and €0.01074/kWeh for facilities in excess of 500 kWe. These subsidies do not compare well with facilities which dry slurry at a natural gas CHP facility. Natural gas CHP facilities have a feed in tariff which is slightly higher than that for an AD plant at a scale less than 500 kWe (€0.015 /kWeh versus €0.0145 /kWeh), and significantly higher for larger scale (€0.01563/kWeh for natural gas systems up to 10 MWe). With this tariff system, the development of anaerobic digestion systems for treatment of slurry is not feasible when compared with drying at a natural gas CHP facility.

The Spanish tariff system does not compare well with the German tariff system. The German system is detailed, with compensation based on size and substrate, and with bonuses for innovative technologies, use of heat, and gas grid injection. The German system is such that at present there are over 7000 digesters in place as of 2012 [49]. The Spanish tariff system makes electricity production from biogas unattractive. This suggests the need to develop alternative models for use of biogas such as upgrading to biomethane, gas grid injection and use in the transport sector. For a biomethane industry in Spain, policy is required across a spectrum of sectors including for energy, environment, waste management and agriculture. In Spain there is insufficient policy regulating biogas, upgrading to biomethane and gas grid injection.

8.4.3 Food waste, the Landfill Directive and digestate

The Landfill Directive [5] allows at most 35% of the quantities landfilled in 1995 to be landfilled in 2016. This is a significant opportunity to develop centralised biogas plants treating OFMSW. Source segregation of food waste is a requirement for

digestion of OFMSW and associated land application of the produced digestate [33]. At present only 14% of OFMSW is source segregated [13]. Source segregation is cheaper to central processing of mixed waste streams [31]. Digestate from agro-industry residues are excellent organic fertilisers which reduce the need for fossil fuel based mineral fertilisers [44].

8.5 CONCLUSIONS

The European Commission in 2012 proposed a limitation on first generation biofuels based on food crops at 5% of energy in transport. The Renewable Energy Directive sets a target for RES-T at 10% by 2020. Thus by 2020 at least 5% of biofuels must be sourced from non-food crops.

This paper presents two independent scenarios for a biomethane industry in Spain. One of these is based on co-digestion of pig slurry with glycerine (a by-product from the biodiesel industry). The second is based on co-digestion of pig slurry with OFMSW from Barcelona and Madrid. Biomethane production from residues such as pig slurry and OFMSW generates positive environmental effects through renewable energy production, recycling of nutrients, minimisation of fossil fuel based fertilisers, reduction of GHG emissions, and rural employment. Because of this the RED allows the energy values from these fuels to be counted twice towards renewable energy targets in transport.

Buses already run on methane in Spain. Thus the potential to incorporate biomethane in the transport system is good. The potential of the two scenarios is sufficient to meet 2.8% RES-T and is equivalent to powering the equivalent of 15,400 buses. The sale price of the fuel is in the range €1.22 to 1.77/ L of diesel equivalent which can be competitive. This is coupled with GHG savings in the range 1046 to 1272 kt CO_2eq per annum and the provision of 6000 jobs.

Acknowledgements:

This work was supported financially by project LE091A11-2 of the Junta de Castilla y Leon.

8.6 REFERENCES

[1] Ministry of Industry Tourism and Commerce, La energía en España 2011, Ministerio de Industria, Turismo y Comercio, Madrid, 2012.

[2] IDAE, Plan de Energías Renovables 2011-2020, Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, Madrid, 2011.

[3] European Commission, Directive 2009/28/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the promotion of the use of energy from renewable sources and amending and subsequently repealing Directives 2001/77/EC and 2003/30/EC, 2009.

[4] Ministry of Agriculture Food and Environment, El sector del biogás agroindustrial en España, 2010.

[5] European Commission, Council Directive 1999/31/EC of 26 April 1999 on the landfill of waste, (1999).

[6] IDAE, Situación y potencial de generación de biogás. Estudio Técnico PER 2011-2020, Insituto de Diversificación y Ahorro Energético, Madrid, 2011.

[7] J.B. Holm-Nielsen, T. Al Seadi, P. Oleskowicz-Popiel, The future of anaerobic digestion and biogas utilization, Bioresource Technology. 100 (2009) 5478–5484.

[8] Z.-Z. Asam, T.G. Poulsen, A.-S. Nizami, R. Rafique, G. Kiely, J.D. Murphy, How can we improve biomethane production per unit of feedstock in biogas plants?, Applied Energy. 88 (2011) 2013–2018.

[9] I. Angelidaki, L. Ellegaard, Codigestion of manure and organic wastes in centralized biogas plants, Applied Biochemistry and Biotechnology. 109 (2003) 95–105.

[10] J. Mata-Alvarez, J. Dosta, S. Macé, S. Astals, Codigestion of solid wastes: A review of its uses and perspectives including modeling, Critical Reviews in Biotechnology. 31 (2011) 99–111.

[11] H. Hartmann, B.K. Ahring, Anaerobic digestion of the organic fraction of municipal solid waste: Influence of co-digestion with manure, Water Research. 39 (2005) 1543–1552.

[12] I. Angelidaki, D. Karakashev, D.J. Batstone, C.M. Plugge, A. Stams, Biomethanation and its potential, CR Amy and WR Stephen, Ed. (2011) 327–351.

[13] Ministry of Agriculture Food and Environment, Anuario Estadístico 2011, Centro de Publicaciones, 2011.

[14] Ministry of Agriculture Food and Environment, Pig slurries biodigestion plan, (2008).

[15] Ministry of Agriculture Food and Environment, Inventario Nacional de Emisiones a la Atmósfera 1990-2009 en el territorio español, 2007.

[16] J. Mata-Alvarez, S. Macé, P. Llabrés, Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives, Bioresource Technology. 74 (2000) 3–16.

[17] T. Amon, B. Amon, V. Kryvoruchko, V. Bodiroza, E. Pötsch, W. Zollitsch, Optimising methane yield from anaerobic digestion of manure: Effects of dairy systems and of glycerine supplementation, International Congress Series. 1293 (2006) 217–220.

[18] D. Massé, G. Talbot, Y. Gilbert, On farm biogas production: A method to reduce GHG emissions and develop more sustainable livestock operations, Animal Feed Science and Technology. 166 (2011) 436–445.

[19] European Commission, Directive 91/676/EEC of 12 December 1991 concerning the protection of waters against pollution caused by nitrates from agricultural sources, Official Journal L. 375 (1991) 12.

[20] ADAP, Los purines y su impacto, Asociacion De Empresas Para El Desimpacto Ambiental De Los Purines. (2012).

[21] H. Hartmann, I. Angelidaki, B.K. Ahring, Co-digestion of the organic fraction of municipal waste with other waste types, in: J. Mata-Alvarez (Ed.), Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste, IWA Publishing, 2002: p. 181.

[22] N. Pachauri, B. He, Value-added utilization of crude glycerol from biodiesel production: a survey of current research activities, ASABE Paper. (2006) 1–16.

[23] D.T. Johnson, K.A. Taconi, The glycerin glut: Options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production, Environmental Progress. 26 (2007) 338–348.

[24] M.S. Fountoulakis, I. Petousi, T. Manios, Co-digestion of sewage sludge with glycerol to boost biogas production, Waste Management. 30 (2010) 1849–1853.

[25] S. Astals, V. Nolla-Ardèvol, J. Mata-Alvarez, Anaerobic co-digestion of pig manure and crude glycerol at mesophilic conditions: biogas and digestate, Bioresource Technology. 110 (2012).

[26] A. Lobato, M.J. Cuetos, X. Gómez, A. Morán, Improvement of biogas production by co-digestion of swine manure and residual glycerine, Biofuels. 1 (2010) 59–68.

[27] S. Nuchdang, C. Phalakornkule, Anaerobic digestion of glycerol and co- digestion of glycerol and pig manure, Journal of Environmental Management. 101 (2012) 164–172.

[28] J.A. Álvarez, L. Otero, J.M. Lema, A methodology for optimising feed composition for anaerobic co-digestion of agro-industrial wastes, Bioresource Technology. 101 (2010) 1153–1158.

[29] J.D. Murphy, N.M. Power, An argument for using biomethane generated from grass as a biofuel in Ireland, Biomass and Bioenergy. 33 (2009) 504–512.

[30] C.J. Banks, Y. Zhang, Y. Jiang, S. Heaven, Trace element requirements for stable food waste digestion at elevated ammonia concentrations, Bioresource Technology. 104 (2012) 127–135.

[31] J. Browne, A.-S. Nizami, T. Thamsiriroj, J.D. Murphy, Assessing the cost of biofuel production with increasing penetration of the transport fuel market: A case study of gaseous biomethane in Ireland, Renewable and Sustainable Energy Reviews. 15 (2011) 4537–4547.

[32] Y. Zhang, C.J. Banks, S. Heaven, Anaerobic digestion of two biodegradable municipal waste streams, Journal of Environmental Management. 104 (2012) 166–174.

[33] J. Browne, J.D. Murphy, Assessment of the resource associated with biomethane from food waste, Applied Energy. 104 (2013) 170 - 177.

[34] J.D. Murphy, K. McCarthy, The optimal production of biogas for use as a transport fuel in Ireland, Renewable Energy. 30 (2005) 2111–2127.

[35] J.D. Murphy, E. McKeogh, G. Kiely, Technical/economic/environmental analysis of biogas utilisation, Applied Energy. 77 (2004) 407–427.

[36] A. Molino, F. Nanna, Y. Ding, B. Bikson, G. Braccio, Biomethane production by anaerobic digestion of organic waste, Fuel. (2012).

[37] M. Persson, O. Jönsson, A. Wellinger, Biogas upgrading to vehicle fuel standards and grid injection, in: n.d.

[38] EMT, EMT - Madrid - Informe anual 2010, 2010. [39] TMB, TMB - Transporte Metropolitano de Barcelona, (n.d.).

[40] M. Pöschl, S. Ward, P. Owende, Evaluation of energy efficiency of various biogas production and utilization pathways, Applied Energy. 87 (2010) 3305– 3321.

[41] T. Patterson, S. Esteves, R. Dinsdale, A. Guwy, An evaluation of the policy and techno-economic factors affecting the potential for biogas upgrading for transport fuel use in the UK, Energy Policy. 39 (2011) 1806–1816.

[42] European Commission, EU Commission tackles the climate impacts of biofuel production, (2012).

[43] T. Thamsiriroj, H. Smyth, J.D. Murphy, A roadmap for the introduction of gaseous transport fuel: A case study for renewable natural gas in Ireland, Renewable and Sustainable Energy Reviews. 15 (2011) 4642–4651.

[44] C.T. Lukehurst, P. Frost, T. Al Seadi, Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser, IEA Bioenergy. (2010).

[45] N.E. Korres, A. Singh, A.S. Nizami, J.D. Murphy, Is grass biomethane a sustainable transport biofuel?, Biofuels, Bioproducts and Biorefining. 4 (2010) 310–325.

[46] T. Thamsiriroj, J.D. Murphy, The impact of the life cycle analysis methodology on whether biodiesel produced from residues can meet the EU sustainability criteria for biofuel facilities constructed after 2017, Renewable Energy. 36 (2011) 50–63.

[47] T. Thamsiriroj, J.D. Murphy, Is it better to import palm oil from Thailand to produce biodiesel in Ireland than to produce biodiesel from indigenous Irish rape seed?, Applied Energy. 86 (2009) 595–604.

[48] J. West, Crude Glycerol: A Feedstock for Organic Acid Production by Microbial Bioconversion. Microbial Biochem Technol (2012), 4:4 http://dx.doi.org/10.4172/1948-5948.1000e106

[49] B.M. Smyth, H. Smyth, J.D. Murphy, Can grass biomethane be an economically viable biofuel for the farmer and the consumer?, Biofuels, Bioproducts and Biorefining. 4 (2010) 519–537.

Capítulo 9

CONCLUSIONES

9.1 GENERAL CONCLUSIONS

9.1.1 Regarding the co-digestion of swine manure and wastes from biodiesel industry

Tests performed under batch conditions at varying glycerine content (4-16%) showed a 1.5 - 2 times higher gas production than the digestion of swine manure (SM). This increase was caused by the addition of a co-substrate with a high specific biogas production, while no synergistic effects were observed.

As it was the case in biodegradability tests, the digestion of refined glycerine under semi-continuous conditions was problematic, and an HRT of 50 days was necessary to achieve stable operation of the reactor.

The addition of glycerine resulted in an increase in biogas production of 39,5 L CH_4/L_{feed} for P-GA at HRT of 50 d, and 32,5 L CH_4/L_{feed} for P-GB at an HRT of 30 d. These values are above the minimum threshold necessary to achieve economic viability of a biogas plant.

Co-digestion of swine manure and glycerine was also performed at increasing amounts of glycerine from 2 to 8%. Biogas production increased with the addition of glycerine up to 51.1 L/d for 8% (v/v). The high H_2S production and the VFA build-up suggest SRB inhibition as a plausible cause of failure at the highest glycerol content.

TG, FTIR and ^{1}H NMR analysis of digested samples suggested that most of the undigested material came from the manure. Incomplete degradation of proteins and aliphatic compounds could be observed in digested samples. However, these compounds were totally digested in the subsequent stabilisation stage.

Batch tests performed at different ratios of SM and waste oil sludge (WOS) showed an increase in biogas production with the amount of WOS added with synergistic effect being observable when evaluating the different mixtures.

The co-digestion process under semi-continuous conditions was successfully attained (needing an adaptation period) at a WOS fraction of 7% (w/w) and an HRT of

50 d. A posterior increase in the organic load by reducing the HRT to 30 d caused a drop in methane yield (from 326 to 274 L/kg VS_{feed}). A partial inhibition of the methanogenic activity as result of the accumulation of LCFA and VFA was likely the main cause of this behaviour

Digestate was not suitable for land application despite of operating at low OLR. The values of OUR measurement obtained from stability tests of digestates (at an HRT of 50 d) suggested the need of a post-treatment stage such as long-term storage or micro-aeration if soil application of digestate is intended.

9.1.2 Regarding the co-digestion of OFMSW and glycerine

Batch co-digestion tests performed at three different glycerine concentrations (2-6%) showed higher biogas production for the lowest concentration of glycerine.

The lowest biogas production was observed for the highest concentration evaluated (6%). The high VFA content measured at the end of the tests suggested an overloading of glycerine. The presence of acetic and propionic acids in tests at 4% content in glycerine, points out problems in the digestion process. This could explain the low biogas production obtained in spite of the increase in glycerine content applied with the feed.

The co-digestion of OFMSW and glycerine under semi-continuous conditions was carried out successfully at a glycerine content of 2%, reporting a yield of 551 L CH_4/kg $VS_{feed.}$ The volatile solids removal achieved was 67% showing that an HRT of 21 days was adequate.

9.1.3 Regarding the prospective application in transport

The biomethane potential of co-digesting pig slurry-glycerine and pig slurry-OFMSW was studied using two theoretical scenarios. Results indicated that there is enough biomethane to meet 2.8% RES-T in 2020, and is equivalent to power 15 400 buses. This is coupled with GHG savings in the range 1 046 to 1 272 kt CO_2eq per annum and the provision of 6 000 jobs.

9.2 CONCLUSIONES GENERALES

9.2.1 Respecto de la co-digestión de purín y residuos de la industria del biodiesel

Los ensayos realizados en régimen discontinuo a diferentes concentraciones de glicerina (4-16%) presentaron una producción de biogás 1.5-2 veces superior a la digestión individual del purín. Este aumento fue debido a la adición de un co-sustrato con una elevada producción especifica de gas, no observándose ningún efecto sinérgico como consecuencia de la co-digestión.

Al igual que ocurrió en las pruebas iniciales de biodegradabilidad, la glicerina con mayor grado de refinado presentó problemas para su digestión en el ensayo en continuo, siendo necesario emplear un TRH de 50 días para lograr el funcionamiento estable del reactor.

El incremento en la producción de biogás, como resultado de la adición de glicerina, ha permitido alcanzar valores de producción de biogás de 39,5 L CH_4/L_{alim} para P-GA a TRH de 50 días, y 32,5 L CH_4/L_{alim} para P-GB a TRH 30 días. Estos valores de producción se encuentran por encima del umbral mínimo que permitiría la viabilidad económica de una planta de biogás.

La co-digestión de purín y glicerina fue también evaluada empleando cantidades crecientes de glicerina desde 2 a 8%. La producción de biogás aumentó con la adición de glicerina, llegando hasta 51.1 L/d para un contenido en glicerina del 8% (v/v). La elevada producción de H_2S y la acumulación de AGV sugieren la inhibición por bacterias SBR como la causa probable del fallo del digestor a la concentración de glicerina más alta evaluada.

El análisis mediante TG, FTIR, y ^1H NMR de los digeridos indica que la mayor parte del material sin digerir procede del purín. También se observa la incompleta degradación de proteínas y compuestos alifáticos en las muestras digeridas, siendo degradados completamente en la fase posterior de estabilización.

En los ensayos realizados a diferentes proporciones de purín y lodo residual de aceite (LR) en discontinuo se observó un aumento de la producción con la cantidad de lodo añadido y un efecto sinérgico de la co-digestión para los distintos ratios purín-lodo evaluados.

Tras un periodo de adaptación, el proceso de digestión en régimen semi-continuo se desarrolló sin problemas con un contenido en lodo de un 7% (w/w) y un TRH de 50 días. El posterior aumento de la cara orgánica al reducir el TRH a 30 días provocó la caída de la producción específica de metano (de 326 a 274 L/kg VS_{feed}). Una inhibición parcial de la actividad metanogénica causada por la acumulación de AGCL y AGV ha sido la causa probable de la caída de la producción.

A pesar de la baja carga orgánica empleada, el digerido obtenido no es apto para su aplicación al terreno. Los ensayos de respirometría realizados sobre el digestato (a TRH de 50 d) sugieren la necesidad de una fase de acondicionamiento, como micro-aireación o almacenamiento, si va a ser empleado como fertilizante.

9.2.2 Respecto de la co-digestión de FORSU y glicerina

Los ensayos de biodegradabilidad realizados a tres concentraciones de glicerina (2 - 6%) mostraron mayores producciones de biogás para las concentraciones de glicerina más bajas.

La concentración más alta evaluada (6%) obtuvo la menor producción de biogás. La elevada concentración de AGV observada al final del ensayo sugiere que la cantidad de glicerina añadida fue excesivamente elevada. La presencia de acético y propiónico también en el ensayo realizado al 4% indica también problemas en el proceso de digestión, explicando porque la producción de biogás se reduce al aumentar la concentración de glicerina.

La co-digestión en régimen semi-continuo de FORSU y glicerina fue realizada con éxito con un aporte de glicerina de un 2%, alcanzando una producción específica de 551 L CH_4/kg SV_{alim}. El porcentaje de destrucción de solidos volátiles en el proceso fue de un 67%, indicando que el TRH de 21 días es adecuado.

9.2.3 Respecto a la aplicación en el transporte

El potencial de producción de biometano de la co-digestión de purín-glicerina y purín-FORSU fue evaluada mediante dos escenarios simulados. Los resultados muestran que el biometano producido en dichos escenarios aportaría el 2,8% de los objetivos de EERR en el transporte en 2020, siendo suficiente para impulsar el equivalente a 15 400 autobuses urbanos y evitando la emisión de entre 1 046 y 1 272 kt CO_{2eq}