



## **LIFE VALPORC**

# **Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers**

**(LIFE13 ENV/ES/001115)**



---

*Name of the Deliverable: Informe de los resultados de los análisis físico-químicos de los sustratos considerados, incluyendo el potencial de biometanización, y de los digestatos.*

---

*Number and name of the associated action: Action A2. Caracterización de materias primas del proceso de biodigestión y producción de biodiésel*

---

*Submission date: 30/04/2015*

---

*Partner responsible for this deliverable: Fundación CARTIF*

---

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

## INDEX

<b>A. Executive summary .....</b>	<b>3</b>
A.1 Objectives:.....	3
<b>B. Objetivo.....</b>	<b>5</b>
<b>C. Participantes.....</b>	<b>5</b>
<b>D. Caracterización físico-química de purín porcino, harinas, grasas, aguas de proceso y glicerina .....</b>	<b>5</b>
D.1 Análisis de caracterización de la grasa, empleada en el proceso de producción de biodiésel: .....	6
D.1.1 Resultados de las caracterizaciones de la grasa, empleada en el proceso de producción de biodiésel:.....	9
D.2 Análisis de caracterización de la glicerina .....	14
D.2.1 Obtención de glicerina .....	14
D.3 Análisis de caracterización de los sustratos a introducir en el digester anaerobio (purín porcino, harinas, aguas de proceso y glicerina): .....	34
D.3.1 Resultados de la caracterización de los sustratos a introducir en el digester anaerobio (purín porcino, harinas, aguas de proceso y glicerina) .....	39
D.3.2 Determinación del potencial de biometanización de sustratos .....	41
D.3.3 Caracterización de digestatos .....	45
<b>E. Referencias .....</b>	<b>53</b>

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

## A. Executive summary

### A.1 Objectives:

The objective of this deliverable is focused on:

- Physicochemical characterization of pig manure, meat meal, fat, process waste water and glycerin.
- Biochemical methane potential determination of substrates.
- Characterization of digestate.

Since the waste used are highly variable in composition and volume of generation , to save the great difficulty in obtaining extrapolated data from the characterization, it has been followed a specific protocol of sampling and transport of the sample, depending on the nature of each residues .

Analyses have been made are:

- To characterize fat raw material:
  - o Acid number.
  - o Water content.
  - o Fatty acid composition.
- To characterize pig manure, meat meal, process waste water and glycerin raw materials.
  - o Total and volatile solids
  - o pH
  - o Total phosphorus
  - o Total Kjeldahl Nitrogen
  - o Chemical oxygen demand
  - o Elemental analysis (C, H, N)
- To determine biomethanisation potential of the substrates.
- To characterize the digestates.
  - o Electric conductivity
  - o pH
  - o Organic matter content
  - o Total Organic Carbon and Hydro-soluble Carbon
  - o Total and Hydro-soluble Nitrogen and so as ammonium and nitric nitrogen

	<p><b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b></p> <p>VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS</p>	
	<p>Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers</p>	

- C/N Ratio
- Macro and micronutrients
- Heavy metals (Ni, Cr , Cd y Pb)
- Phytotoxicity index
- Pathogenic micro-organisms (Salmonella y Escherichia coli)

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

## B. Objetivo

El objetivo de este entregable se ha centrado en la caracterización físico-química de las materias primas que se van a utilizar en los procesos de biodigestión y de producción de biodiésel: purín de porcino, harinas, grasas, aguas de proceso y glicerina, determinación del potencial de biometanización de sustratos y la caracterización de los digestatos.

Puesto que los residuos utilizados son muy variables en composición y volumen de generación, para salvar la gran dificultad en obtener datos extrapolables de la caracterización, se ha seguido un protocolo específico de toma y transporte de muestra según la naturaleza de cada uno de los residuos.

## C. Participantes

**Responsable de la Acción:** Fundación CARTIF.

## D. Caracterización físico-química de purín porcino, harinas, grasas, aguas de proceso y glicerina

Una vez definido el protocolo de muestreo, se tomaron las siguientes muestras representativas siguiendo dicho protocolo y se realizaron sobre ellas las correspondientes caracterizaciones:

- 3 muestras de purín porcino
- 3 muestras de harinas
- 3 muestras de grasas
- 3 muestras de aguas de proceso
- 3 muestras de glicerina

En el caso de las grasas, empleadas en el proceso de producción de biodiésel, los análisis de caracterización realizados incluyen:

- Índice de acidez
- Contenido en agua
- Composición de ácidos grasos

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

En el caso de los sustratos a introducir en el digestor anaerobio (purín porcino, harinas, aguas de proceso y glicerina), los análisis de caracterización realizados incluyen:

- Concentración de sólidos (totales y volátiles) (ST, SV)
- pH
- Fósforo total (PT)
- Nitrógeno Kjeldahl total (NKT)
- Demanda química de oxígeno (DQO)
- Análisis elemental C, H, N

### D.1 Análisis de caracterización de la grasa, empleada en el proceso de producción de biodiésel:

#### Índice de acidez

La medida del índice de acidez de las muestras de grasa permite conocer el contenido en ácidos grasos libres de la misma. En este caso se determinó el índice de acidez, expresado en porcentaje de ácido oleico, al ser el componente mayoritario de las muestras de grasa analizadas. Dicha medida se ha realizado utilizando como método de referencia REGLAMENTO (CE) nº 2568/91 DE LA COMISIÓN. Anexo II.

El material empleado en la determinación del índice de acidez ha sido una balanza analítica marca Sartorius, modelo TE 214S (Figura 1) y una bureta digital marca Brand (Figura 2).



Figura 1. Balanza analítica



Figura 2. Bureta

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

El método para la determinación del índice de acidez ha requerido la disolución de la muestra en una mezcla de disolventes de éter etílico y etanol de 95% (v/v), en proporción de volumen 1:1 tal y como indica el reglamento indicado anteriormente, y la posterior valoración de los ácidos grasos libres mediante una solución etanólica valorada de hidróxido potásico 0,5 M.

### **Contenido en agua**

La medida del contenido en agua de la muestra de grasa se realizó aplicando el Método Dean-Stark. Este método está basado en la similitud del punto de ebullición del agua y un disolvente orgánico inmiscible con ella. Para su realización se calentó la muestra de grasa en el seno de un disolvente orgánico volátil, n-heptano, de punto de ebullición próximo al agua, menos denso que ésta e inmiscible. Los vapores de disolvente al alcanzar la temperatura de ebullición, arrastraron los del agua y al enfriarse ambos, condensaron y se separaron.

Los equipos empleados en la medida del contenido en agua han sido un equipo de destilación Dean Stark (Figura 3) y balanza analítica marca Sartorius, modelo TE 214S (Figura 1).



Figura 3. Equipo de destilación Dean-Stark

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

### **Composición de los ácidos grasos**

Se ha determinado la composición de los ácidos grasos de las muestras de grasa. Los ácidos grasos identificados han sido:

- Ácido Mirístico (C14:0)
- Ácido Palmítico (C16:0)
- Ácido Palmitoleico (C16:1)
- Ácido Margárico (C17:0)
- Ácido Margaroleico (C17:1)
- Ácido Esteárico (C18:0)
- Ácido Oleico (C-C18:1)
- Ácido Linoleico (CC-C18:2)
- Ácido Linolénico (CCC-C18:3)
- Ácido Aráquico (C20:0)
- Ácido Gadoleico (C20:1)
- Ácido Behénico (C22:0)
- Ácido Lignocérico (C24:0)

El método empleado en la determinación es el REGLAMENTO (CE) nº 2568/91 DE LA COMISIÓN. Anexo X. Dicho método recoge las indicaciones para determinar, mediante cromatografía de gases, la composición cualitativa y cuantitativa de una mezcla de ácidos grasos de la muestra.

Para la realización de los análisis se ha utilizado un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de ionización de llama (GC-FID,) modelo CP 3800 GC de VARIAN (Figura 4) equipado con una columna capilar CP-Sil 88 (60 m 0,25 mm, Varian) y un autoinyector CP-8410, todo de la marca Varian Inc.

Las condiciones de operación fueron las siguientes:

- Volumen de inyección: 2 µl (a 220 °C),
- Gas portador: Helio (1 ml/min),
- Temperatura de detector: constante a 235 °C.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

- Temperatura de columna: 120 °C durante 1 minuto y luego se aumentó a 170 °C a una velocidad de 3 °C/min, se mantuvo durante 1 min y finalmente ascendió a 235 °C en incrementos de 6 °C/min, quedando finalmente 5 minutos a 235 °C.

La identificación de los ácidos grasos (AG) se basó en la comparación de tiempos de retención del patrón, y el área bajo la curva de los picos. Se cuantificó usando el software de estación de trabajo Galaxie.

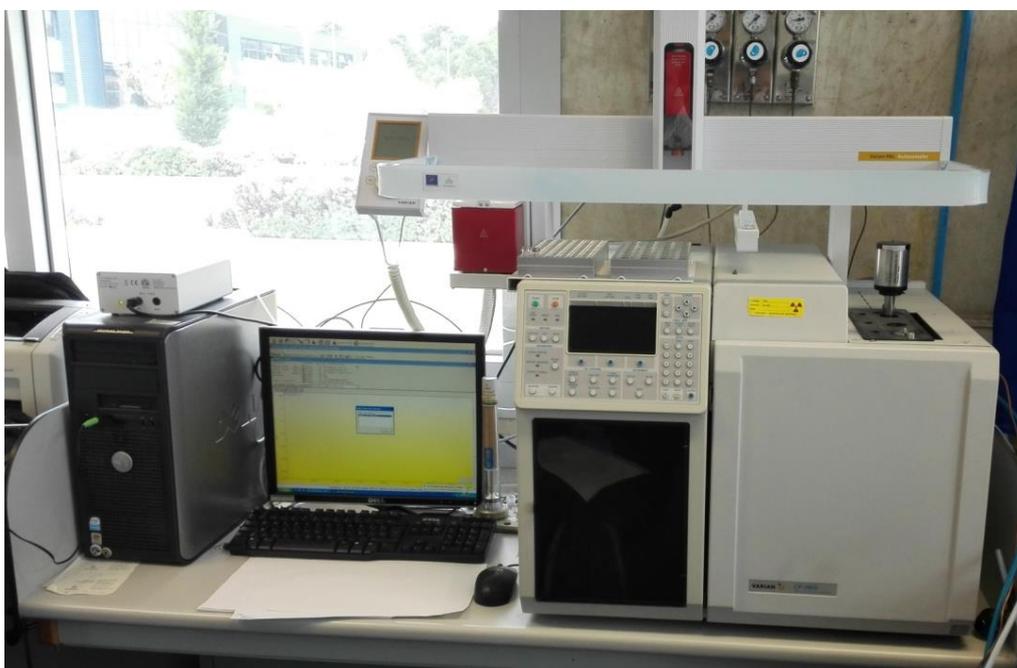


Figura 4. GC-FID.

### D.1.1 Resultados de las caracterizaciones de la grasa, empleada en el proceso de producción de biodiésel:

Se realizó la caracterización de la grasa en base a los siguientes análisis:

- Índice de acidez.
- Contenido en agua.
- Composición de los ácidos grasos.

#### **Índice de acidez:**

Los resultados correspondientes al análisis del índice de acidez de tres muestras de grasa se recogen en la Tabla 1.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 1. Índice de acidez de tres muestras de grasa.

	Índice de acidez % (ácido oleico)	Referencia
Muestra 1	8,36	REGLAMENTO (CE) nº 2568/91 DE LA COMISIÓN. ANEXO II.
Muestra 2	9,68	
Muestra 3	10,14	

Los resultados obtenidos indican un elevado índice de acidez y por tanto un elevado contenido en ácidos grasos libres de la muestra.

En el caso de grasas con un alto índice de acidez, se favorece enormemente una reacción secundaria, en la que los ácidos grasos libres que se encuentran en disolución reaccionan con el catalizador formando jabones (Figura 5).

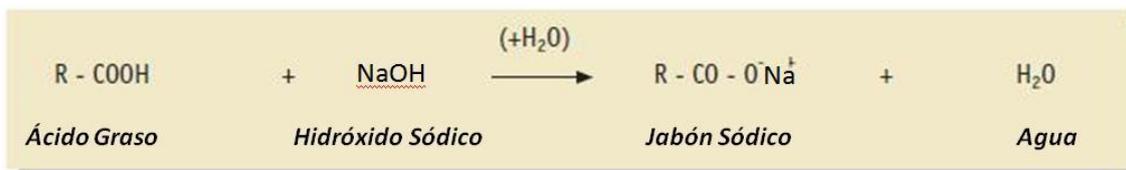


Figura 5. Reacciones de esterificación de los ácidos grasos libres.

Esta situación es totalmente desfavorable en los procesos de transesterificación para la obtención de biodiésel y glicerina, ya que por una parte se está consumiendo catalizador en una reacción secundaria no deseada y por otra parte se están formando jabones, que dificulta la separación de las fases de interés. Por esta razón, en la obtención de biodiésel y glicerina, desarrollada a nivel de laboratorio, ha sido necesario realizar una esterificación ácida previa al proceso de transesterificación.

#### Contenido en agua:

El contenido de agua correspondiente a las tres muestras de grasa analizadas es:

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 2. Contenido en agua de tres muestras de grasa.

	Contenido en agua %	Referencia
Muestra 1	0,20	Método Dean-Stark.
Muestra 2	015	
Muestra 3	0,42	

Los resultados obtenidos indican que la grasa posee un contenido en agua muy reducido. Esta situación favorece el proceso de transesterificación, ya que la presencia de agua en la materia prima de partida supone la formación de jabones y dificulta la separación de las fases de interés.

#### Composición de los ácidos grasos:

Se ha determinado la composición de los ácidos grasos de tres muestras de grasa:

Tabla 3. Composición de los ácidos grasos de tres muestras de grasa.

	Composición, %			Referencia
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	
Ácido Mirístico (C14:0)	1,70	1,95	1,87	REGLAMENTO (CE) nº 2568/91 DE COMISIÓN. ANEXO X.
Ácido Palmítico (C16:0)	25,32	22,08	19,14	
Ácido Palmitoleico (C16:1)	3,20	3,18	3,31	
Ácido Margárico (C17:0)	0,85	0,68	0,66	
Ácido Margaroleico (C17:1)	0,52	0,48	0,59	
Ácido Esteárico (C18:0)	10,26	14,58	16,53	
Ácido Oleico (C-C18:1)	44,47	46,01	45,09	
Ácido Linoleico (CC-C18:2)	12,30	9,35	10,87	
Ácido Linolénico (CCC-C18:3)	0,53	0,68	0,95	
Ácido Aráquico (C20:0)	0,15	0,09	0,15	
Ácido Gadoleico (C20:1)	0,38	0,51	0,49	
Ácido Behénico (C22:0)	0,18	0,28	0,20	

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

<b>Ácido Lignocérico (C24:0)</b>	0,06	0,09	0,09
----------------------------------	------	------	------

Si se representa gráficamente la composición media de los ácidos grasos (Figura 6) se obtiene:

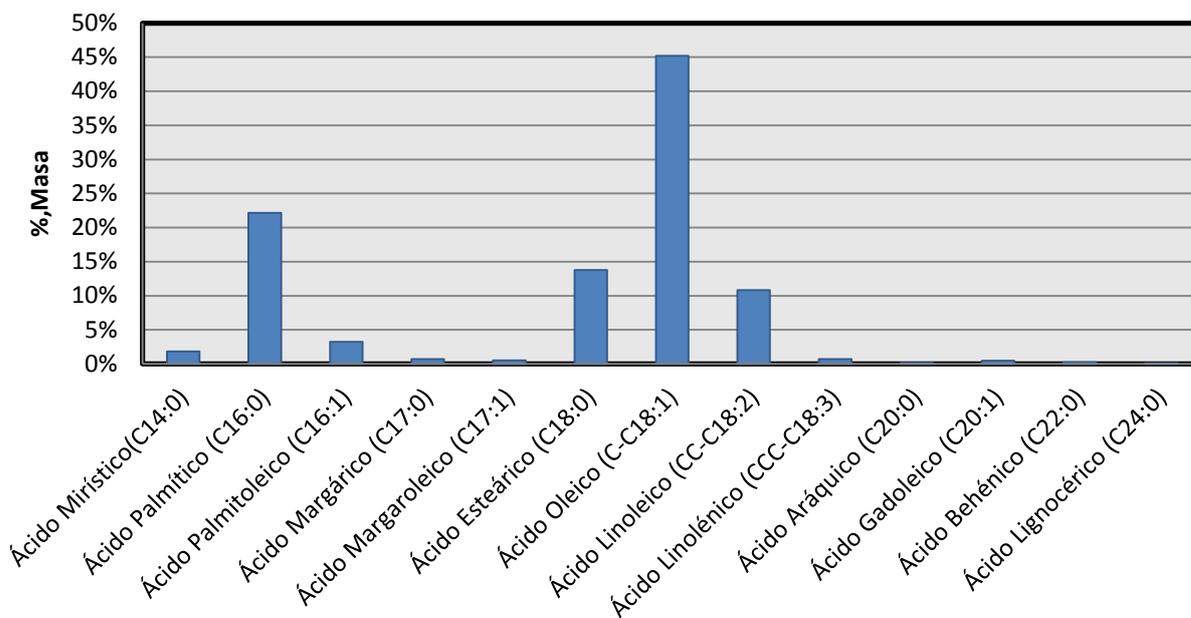


Figura 6. Composición media de los ácidos grasos de la muestras de grasa.

La composición media de ácidos grasos de la muestra analizada desvela que los componentes mayoritarios son el ácido oleico, el ácido palmítico, el ácido esteárico y el ácido linoleico, que suponen un 92% de la composición de ácidos grasos de la muestra de grasa analizada. Siendo el resto de los ácidos grasos analizados, componentes minoritarios.

Respecto a la longitud de la cadena de los ácidos grasos analizados, se puede observar (Figura 7) que los compuestos C18 y C16 son los compuestos mayoritarios en la grasa analizada, y suponen un 95,95%.

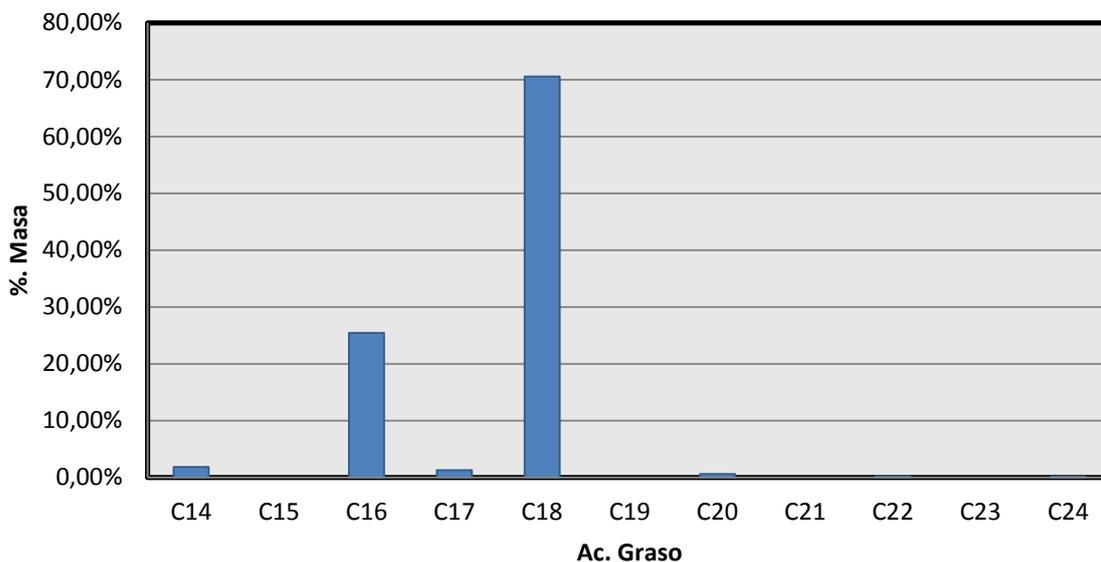
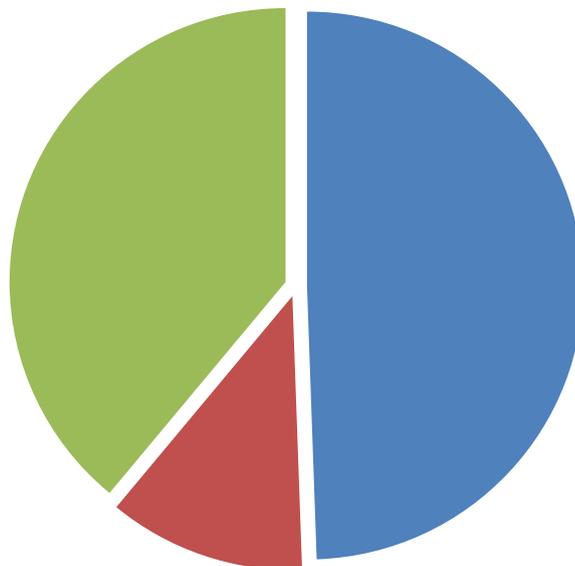


Figura 7. Composición media de los ácidos grasos según la longitud de la cadena.

Por último, se ha representado gráficamente la composición media de la grasa saturada, respecto a la composición de la misma en ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados (Figura 8). Dicho análisis indica que la muestra posee un 39,03% de ácidos grasos saturados y un 60,97% de ácidos grasos insaturados, de los cuales la mayor parte son ácidos grasos monoinsaturados (49,41%). El hecho de que la mayoría de los ácidos grasos sean saturados o de bajo índice de insaturación favorecerá una estabilidad oxidativa del biodiésel producido a partir de esta grasa, y tendrá una baja susceptibilidad a la oxidación y por tanto unas condiciones de almacenamiento del combustible líquido favorables. Sin embargo empeoran las propiedades a bajas temperaturas, mediante el aumento de los puntos de obstrucción del filtro frío, la nube y la fluidez.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	



■ ÁCIDOS GRASOS SATURADOS	■ ÁCIDOS GRASOS MONOINSATURADOS	■ ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS
Ácido Mirístico (C14:0)	Ácido Palmitoleico (C16:1)	Ácido Linoleico (CC-C18:2)
Ácido Palmítico (C16:0)	Ácido Margaroleico (C17:1)	Ácido Linolénico (CCC-C18:3)
Ácido Margárico (C17:0)	Ácido Oleico (C-C18:1)	
Ácido Esteárico (C18:0)	Ácido Gadoleico (C20:1)	
Ácido Aráquico (C20:0)		
Ácido Behénico (C22:0)		
Ácido Lignocérico (C24:0)		

Figura 8. Composición media de los ácidos grasos en función del grado de insaturación.

## D.2 Análisis de caracterización de la glicerina

### D.2.1 Obtención de glicerina

La glicerina se obtiene como consecuencia de la reacción de obtención de biodiésel. Por este motivo, y dado que, en la actualidad, en el proyecto no se ha iniciado todavía la tarea de producción de biodiésel, se ha optado por producir una pequeña cantidad a nivel de laboratorio. Esta cantidad es necesaria para llevar a cabo su caracterización y determinación de su potencial metanogénico y biodegradabilidad sólo y con mezcla en la tarea A2, A3.

Para ello, ha sido necesario realizar una serie de pruebas iniciales con el fin de determinar la forma más adecuada de poder realizar la reacción de obtención del biodiésel.

El proceso de producción de ésteres metílicos (biodiésel) y glicerina por transesterificación catalítica homogénea es el proceso de transesterificación comercial más comúnmente utilizado. Las reacciones que tienen lugar son:



Figura 9. Reacciones de transesterificación.

Del proceso de transesterificación se obtiene por tanto biodiésel crudo y glicerina. El biodiésel crudo se someterá posteriormente a un proceso de purificación para obtener biodiésel según norma EN 14214 y la glicerina se utilizará en el proyecto, como sustrato en el proceso de digestión anaerobia.

Dicho proceso de transesterificación catalítica homogénea se puede dividir en tres tipos:

- Transesterificación catalítica básica de un solo paso, utilizando hidróxido sódico o hidróxido potásico como catalizador.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

- Transesterificación catalítica ácida de un solo paso, utilizando ácido sulfúrico o ácido clorhídrico como catalizador.
- Transesterificación catalítica en dos pasos, realizando una primera etapa de esterificación ácida y una segunda etapa de transesterificación básica.

El empleo de uno u otro tipo de transesterificación viene determinado por el contenido en ácidos grasos libres y el contenido en agua de la muestra.

Por esta razón, como primer paso se determinó el índice de acidez de la grasa según el REGLAMENTO (CE) nº 2568/91 DE LA COMISIÓN. Anexo II.



Figura 10. Determinación del índice de acidez durante el proceso de valoración de la muestra.

El resultado obtenido de este análisis fue un 10,14% de índice de acidez, expresado en % ácido oleico, al ser el ácido graso mayoritario en la composición de la grasa analizada.

Por otra parte, se determinó el contenido en agua de la grasa según el procedimiento gravimétrico interno.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	



Figura 11. Dispositivo experimental para la determinación del contenido en agua de la muestra.

El contenido en agua de la muestra, fue de 0,2%.

A partir de los resultados obtenidos, se observó que la grasa poseía un elevado índice de acidez y un bajo contenido en agua. En estos casos, al poseer un índice de acidez tan elevado, los métodos más adecuados de obtención son por esterificación directa o bien por esterificación con transesterificación previa. Este último método es el que en la práctica se suele emplear, ya que el proceso de esterificación directa es una reacción que requiere de un elevado tiempo de residencia.

Por otra parte, la transesterificación directa no es un método adecuado para el caso de muestras con un elevado índice de acidez, ya que el catalizador reacciona con los ácidos grasos libres generando jabones. De este modo, se produce un consumo innecesario de catalizador, al tiempo que se generan jabones que posteriormente habría que eliminar del producto final. A pesar de ello, se optó por realizar también una prueba de transesterificación directa, con el fin de observar posibles el comportamiento de la muestra y del producto de reacción obtenido.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

### D.2.1.1 Transesterificación catalítica básica

En el caso de la transesterificación catalítica básica en un solo paso, se mezclaron 15 g de KOH al 86%/g grasa y 0,22 g de metanol/g grasa, lo cual supone la adición de metanol en exceso (doble de la cantidad estequiométrica) para obtener el metóxido potásico junto con el exceso de metanol. Posteriormente, se adicionó esta mezcla a 200 g de grasa.

Previo a la adición del metanol/metóxido potásico, fue necesario precalentar la muestra, con el fin de que adquiriera la adecuada fluidez.

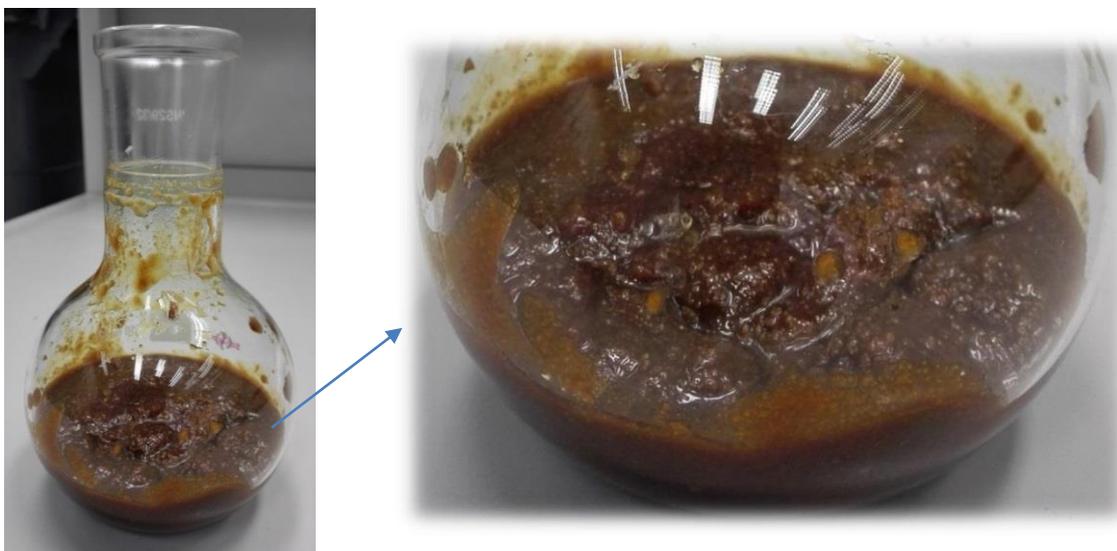


Figura 12. Muestra de grasa a temperatura ambiente.

El dispositivo experimental consistió en un balón plano en el que se dispuso la muestra de grasa. El balón se introdujo en un baño de glicerina con el fin de garantizar una temperatura homogénea sobre toda la superficie del balón. La temperatura se controló mediante una placa calefactora y una sonda de temperatura inmersa en el baño de glicerina. Como sistema de agitación se empleó el sistema de agitación magnética que poseía el propio baño.

Para evitar pérdidas de metanol, la boca del balón se conectó a un refrigerante con agua de red. El dispositivo experimental se puede ver en la Figura 13, justo en el momento en el que la grasa ya se encuentra fluida y previo a la adición de la mezcla metanol/metóxido potásico.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	



Figura 13. Dispositivo experimental para llevar a cabo la reacción de transesterificación.

La mezcla reaccionante se mantuvo con agitación a 60 °C durante 1 h. Una vez finalizado este tiempo se dejó decantar 24 h en un embudo de decantación (Figura 14).



Figura 14. Etapa de decantación de fases den embudo de decantación.

Durante el proceso de decantación se observó que se generó una pequeña fase sobrenadante que debería corresponder a la fase biodiésel, y una gran fase de aspecto esponjoso formada probablemente por una mezcla de jabones, grasa y glicerina. Es de destacar que la formación de jabones dificulta en gran medida la separación de fases.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

En vista de estos resultados se realizaron las pruebas que se describen a continuación.

#### ***D.2.1.2 Transesterificación con esterificación previa***

Este método consistió en realizar una primera etapa de esterificación ácida, con el fin de reducir el contenido en ácidos grasos libres. Una vez realizada la esterificación, se volvió a medir el índice de acidez para comprobar si su valor era  $\leq 0,5\%$ , en caso de ser mayor de 0,5% se volvía a realizar la esterificación y posterior medición del índice de acidez. En el momento que el valor del índice de acidez fue  $\leq 0,5\%$ , se procedió a la segunda etapa de transesterificación básica (Gerpen et al., 2004).

La experimentación realizada en este caso consistió por tanto en un proceso iterativo como el que se indica en la Figura 15.

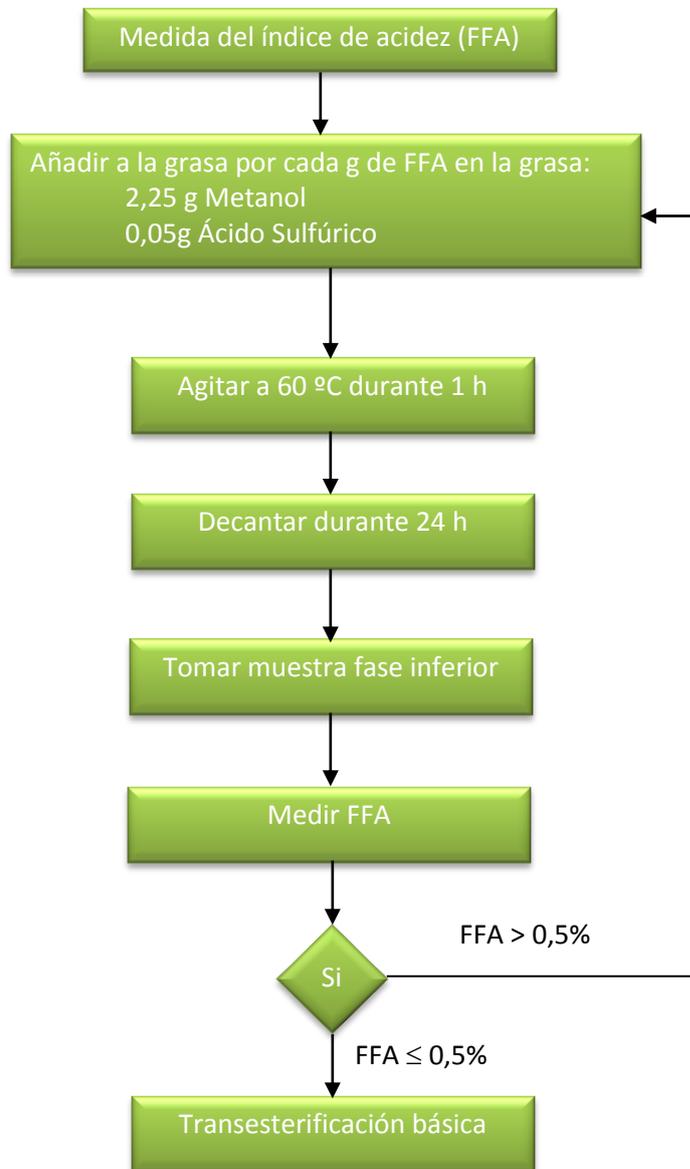


Figura 15. Procedimiento iterativo para la reacción de obtención de biodiésel por esterificación+transesterificación.

En base a este procedimiento, se realizaron una serie de experiencias previas, partiendo de 200 g de grasa, con el fin de determinar las condiciones de operación más adecuadas.

Teniendo en cuenta el valor del índice de acidez de la grasa inicialmente determinado (10,14%, lo que se corresponde con 20 g de ácidos grasos para los 200 g de grasa), la cantidad de metanol y sulfúrico necesario para llevar a cabo la esterificación de 200 g de grasa fue la indicada en la Tabla 4.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 4. Cantidades de reactivos utilizadas en la primera esterificación.

Reactivos	1ª Esterificación (masa, g)
<b>Grasa</b> entrada	200,0
<b>FFA</b> entrada	20,3
<b>Triglicéridos</b> entrada	179,7
<b>Metanol</b>	45,6
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%</b>	1,0
<b>TOTAL</b>	246,6

Para su adición se preparó inicialmente una disolución con la cantidad de metanol y sulfúrico indicada, y posteriormente se adicionó sobre la grasa precalentada a la temperatura de reacción (60 °C). El sistema de reacción empleado fue el mismo que el indicado en la Figura 13. Tras esta primera adicción se tomaron 10 g del medio de reacción y se procedió a medir el índice de acidez resultante el cual fue de 2,84%, lo que obligó a realizar una segunda esterificación, según las cantidades indicadas en la Tabla 5.

Tabla 5. Cantidades de reactivos utilizadas en la segunda esterificación.

Reactivos	2ª Esterificación (masa, g)
<b>Grasa</b> entrada	179,1
<b>FFA</b> entrada	6,7
<b>Triglicéridos</b> entrada	172,4
<b>Biodiésel/Metanol/Glicerina</b>	57,5
<b>Metanol</b>	15,0
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 98%</b>	0,3
<b>TOTAL</b>	252,0

En la Figura 16, se muestran los dos medios de reacción una vez se han realizado las dos esterificaciones.



Figura 16. Muestra del medio de reacción tras la primera (a) y segunda esterificación (b).

Finalmente, una vez finalizada la segunda esterificación se tomaron otros 10 g para medir el índice de acidez, resultando un valor de 0,35%, por lo que se procedió a realizar el proceso de transesterificación mediante la adición de un catalizador básico (KOH) para convertir los triglicéridos de la grasa pretratada a ésteres metílicos y glicerina. Las cantidades empleadas de los reactivos son las indicadas en la Tabla 6.

Tabla 6. Cantidades de reactivos utilizadas en la transesterificación.

Reactivos	2ª Esterificación (masa, g)
<b>Grasa</b> entrada	166,4
<b>FFA</b> entrada	0,8
<b>Triglicéridos</b> entrada	165,6
<b>Biodiésel/Metanol/Glicerina</b>	75,6
<b>Metanol</b>	36,4
<b>KOH 86%</b>	2,9
<b>TOTAL</b>	281,3

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Para ello, se preparó previamente una disolución de 2,9 g de KOH en 36,4 g de metanol, que posteriormente se añadió al medio de reacción obtenido de la segunda esterificación. Esta mezcla se mantuvo durante 1 h a 60 °C. Pasado este tiempo se dejó decantar 24 h, obteniéndose una separación en dos fases, de la cual se produjeron aproximadamente 20 g de fase glicerina, lo que representó aproximadamente un 20% respecto de la grasa de entrada.



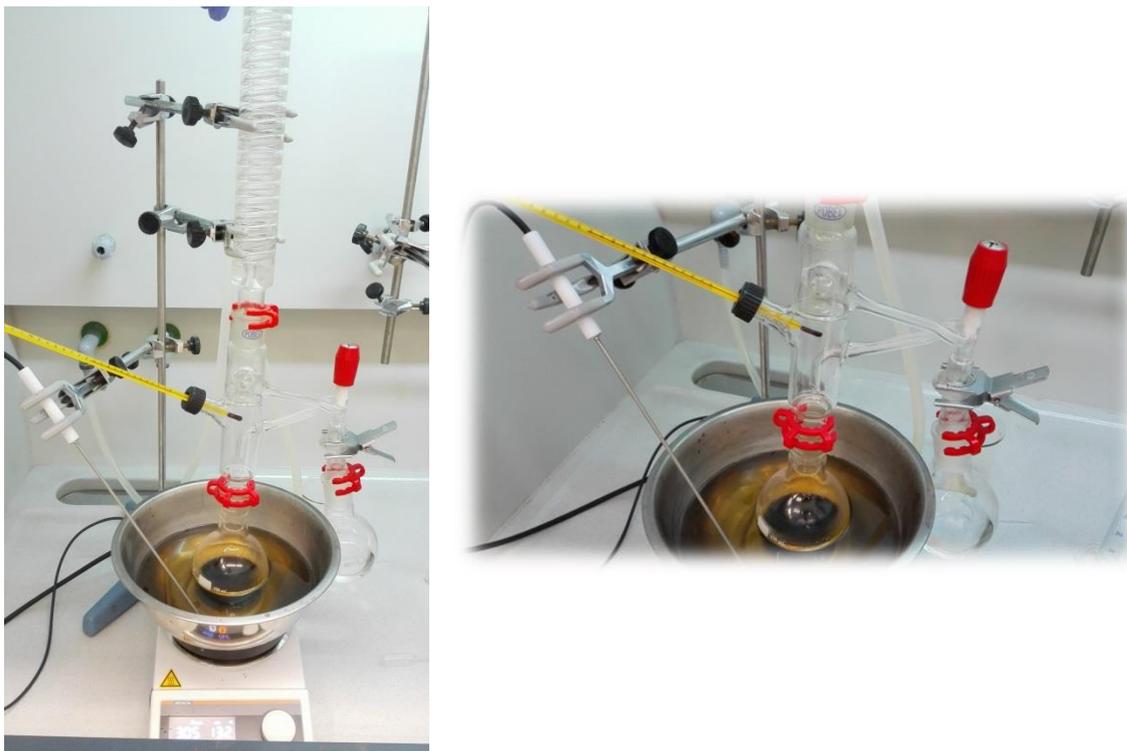
**Figura 17. Obtención de fases durante el proceso de decantación. Fase inferior: Fase glicerina. Fase superior: Fase biodiésel.**

En la Figura 17, se muestra el proceso de separación de fases mediante un embudo de decantación. La fase inferior es la fase glicerina constituida principalmente por la glicerina formada en la reacción, mientras que la superior es la fase rica en biodiésel. Ambas fases poseen también parte del metanol que no ha reaccionado.

Es de destacar que con el empleo de estas condiciones se obtuvo una fase intermedia, constituida por grasa que no ha reaccionado. Debido a ello se optó por incrementar la temperatura de reacción hasta los 65 °C, en las siguientes experiencias.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Una vez separada la fase glicerina, se procedió finalmente a llevar a cabo su concentración mediante la evaporación del metanol presente. Para ello se dispuso un equipo de destilación constituido por una placa calefactora provista de un baño de glicerina, y un sistema de destilación como se muestra en la Figura 18.



**Figura 18. Equipo de concentración de glicerina.**

En la Figura 19 se puede ver una muestra de la glicerina obtenida al final del proceso.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	



Figura 19. Muestra de la glicerina obtenida.

Una vez comprobado que el procedimiento era el adecuado, se procedió a realizar una prueba empleando una cantidad de 2 kg de grasa con el fin de obtener una cantidad adecuada de glicerina para la realización de las pruebas de caracterización y biometanización.

#### ***D.2.1.3 Transesterificación de 2 kg de grasa para la obtención de glicerina.***

En este caso, se ha empleado un equipo que constaba de un balón de tres bocas y una manta calefactora, de modo que en este caso la temperatura controlada era la del medio de reacción. Una entrada del balón se empleó para mantener agitado el sistema mediante un agitador de paletas, mientras que para mantener el metanol en el medio de reacción y evitar su evaporación se empleó un refrigerante. El sistema es el mostrado en la Figura 20.



Figura 20. Equipo de reacción cargado con 2 kg de grasa inicial.

En este caso se procedió a realizar las dos esterificaciones a la vez, por lo que los gramos añadidos de metanol y  $H_2SO_4$  por gramo de ácidos grasos contenidos en la muestra fueron: 2,99 y 0,0665 respectivamente. Los reactivos empleados se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Cantidades de reactivos utilizadas en la esterificación y transesterificación.

Reactivos	Esterificación (masa, g)	Transesterificación (masa, g)
<b>Grasa</b> entrada	2001,0	1846,5
<b>FFA</b> entrada	202,9	55,3
<b>Triglicéridos</b> entrada	1798,1	1791,2
<b>Biodiésel/Metanol/Glicerina</b>		764,7
<b>Metanol</b>	606,7	403,7
<b><math>H_2SO_4</math> 98%</b>	13,5	
<b>KOH 86%</b>		32,2
<b>TOTAL</b>	2621,2	3047,2

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Una vez preparada la disolución de  $H_2SO_4$  en metanol, ésta se añadió a la grasa y se inició la reacción. El aspecto de la evolución del medio de reacción durante la esterificación se muestra en la Figura 21.

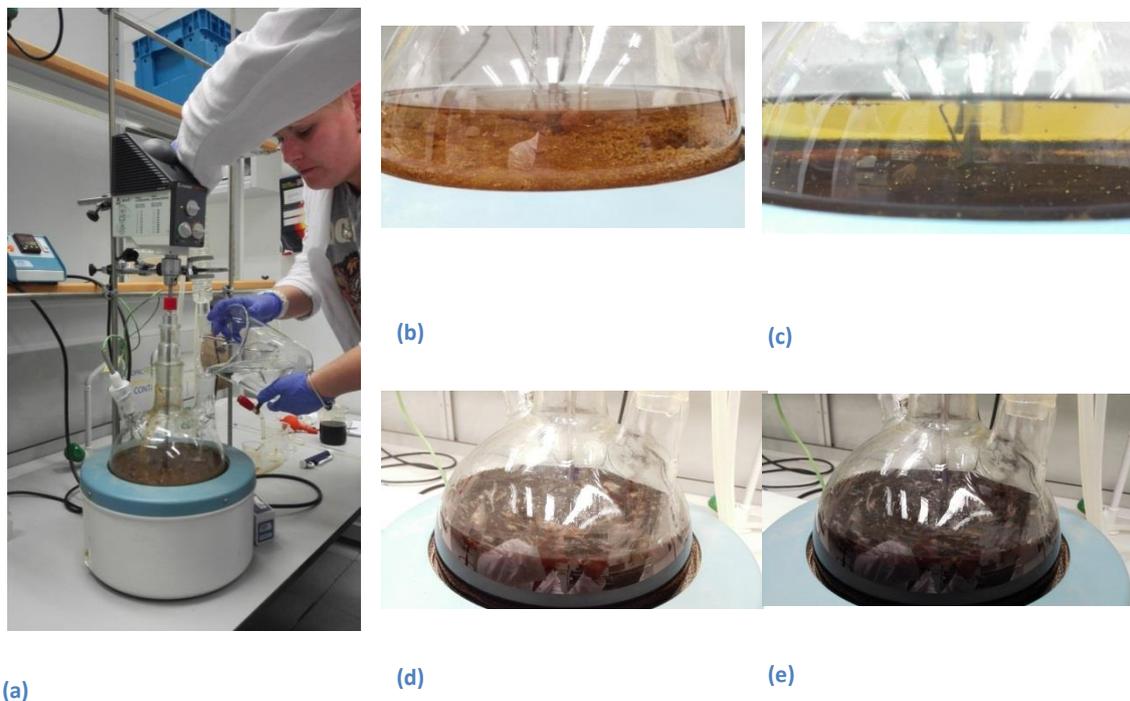


Figura 21. Evolución del medio de reacción durante la esterificación (a) adición de metanol, (b-e) evolución del medio de reacción a medida que transcurre la reacción.

Transcurrida aproximadamente 1 hora, se procedió a adicionar la disolución de KOH en metanol, para dar comienzo a la reacción de transesterificación. La temperatura del medio se mantuvo a 65 °C durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se procedió a su decantación con el fin de separar las fases formadas.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

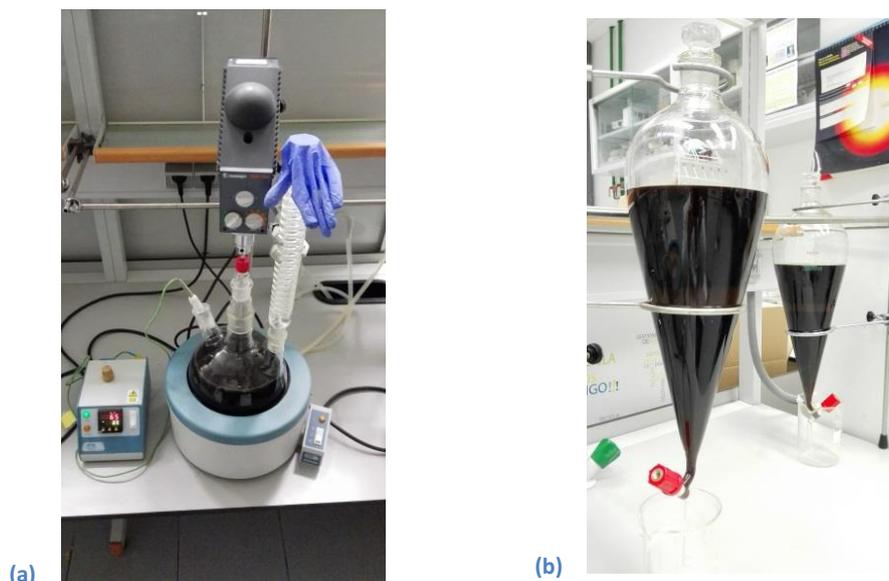


Figura 22. Evolución del medio de reacción durante la transesterificación (a) y separación de fases (b).

En este caso a pesar de que las dos fases generadas eran de color oscuro, se pudo apreciar mejor la interface de separación. Tras 24 horas de decantación se obtuvieron 406 g de fase glicerina (20,3% respecto de la grasa inicial).

Debido a que la fase glicerina posee una importante cantidad de metanol, se procedió a su evaporación, empleando esta vez un rotavapor a vacío.



Figura 23. Concentración de la fase glicerina en rotavapor.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Esta fase, una vez eliminado el metanol, es la que se ha empleado para la realización de los análisis de metanación y biodegradabilidad.

Finalmente, una vez obtenida la glicerina se procedió a su purificación con el fin de determinar la cantidad de glicerina remanente en la fase. Para ello, se realizó un tratamiento con ácido fosfórico y oxalato potásico.

El método consistió en:

Se tomaron 50 g de fase glicerina y se acidificaron con una solución de  $H_3PO_4$  5,85% hasta pH 4, para lo cual se tuvieron que emplear 38,6 ml de disolución (Figura 24).

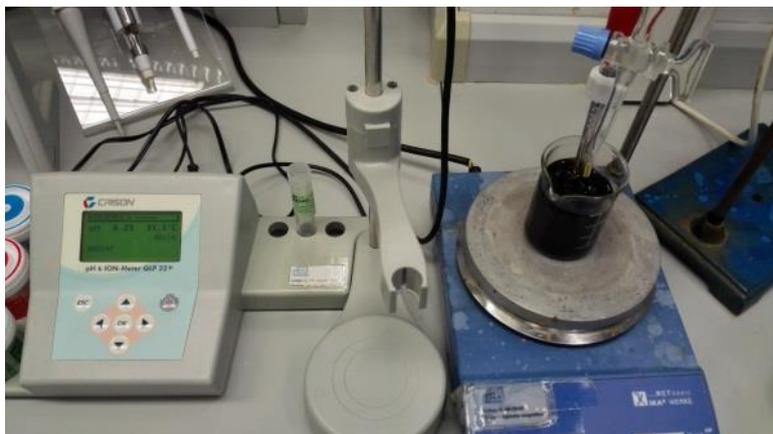


Figura 24. Neutralización de la fase glicerina.

Seguidamente la muestra se calentó a 70 °C durante 60 min. Pasado un cierto tiempo, se formaron tres fases: una superior rica en ácidos grasos libres, otra intermedia rica en glicerol y una inferior muy pequeña en este caso compuesta por sales inorgánicas (Figura 25.a).



(a)



(b)

Figura 25. Separación de fases tras tratamiento con fosfórico y decantación (a) y centrifugación (b).

Con el fin de facilitar la separación de las tres fases, se procedió a su centrifugación a 4000 rpm durante 5 min. Pasado este tiempo, se recogió la fase inferior (de color amarillo) rica en glicerina (Figura 25.b)

Las cantidades de cada fase, obtenidas junto con el agua evaporada, durante el proceso se recogen en la Tabla 8.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 8. Cantidades de cada fase obtenidas, junto con el agua evaporada durante el proceso de acidificación.

Fase	Masa, g
Fase Ácidos grasos	19,13
Fase Glicerina	52,26
Agua evaporada	17,21

Posteriormente con el fin de eliminar las impurezas se realizó un tratamiento con oxalato sódico. Se añadió un 0,03% de oxalato sódico y posteriormente se llevó a calentamiento a 80 °C durante 30 min, para posteriormente filtrar la muestra para la eliminación de los sólidos (Figura 26).



(a)



(b)

Figura 26. Muestra filtrada con un embudo Büchner y kitasato a vacío (a) y muestra filtrada (b).

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

La cantidad de sólidos separada fue de 4,4 g, lo que representó un 9 % respecto a la glicerina obtenida después de la eliminación del metanol.

Posteriormente la glicerina se secó en rotavapor a 55 °C y 30 mbar, con el fin de eliminar los restos de agua. La cantidad final obtenida fueron 28,8 g. De este modo la fase glicerina obtenida al final del proceso, una vez eliminado el metanol posee un contenido en glicerina del 57,6%.

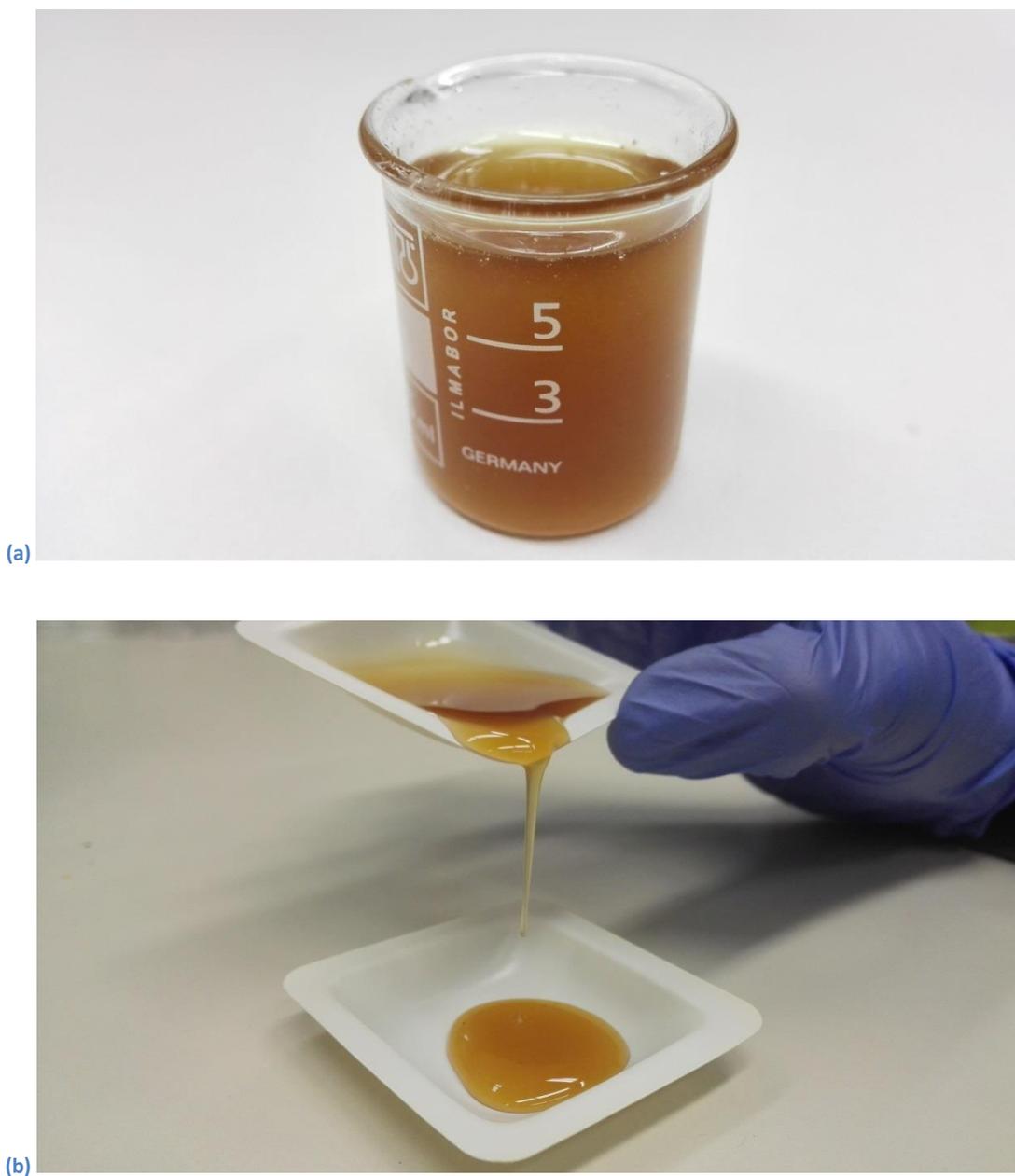


Figura 27. Muestra de la glicerina obtenida parcialmente purificada.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

### D.3 Análisis de caracterización de los sustratos a introducir en el digestor anaerobio (purín porcino, harinas, aguas de proceso y glicerina):

#### **Concentración de Sólidos Totales:**

La determinación de los sólidos totales de las muestras se ha realizado mediante un método gravimétrico, por el cual se determinan los contenidos de materias disueltas y suspendidas presentes en la muestra. Su determinación se basa en una medición cuantitativa de la variación de peso que experimenta una cápsula, previamente tarada, tras la evaporación de la muestra y secado a peso constante a 105 °C.

Las referencias seguidas en la determinación han sido:

- APHA-AWWA-WPCF “Métodos Normalizados para el análisis de aguas residuales y potables. Sólidos totales secados a 103-105 °C.
- Norma UNE 77030:2002. “Método de análisis de aguas industriales. Residuo Total”. “Calidad del agua”. AENOR.

En la determinación de la concentración de sólidos totales se ha empleado una balanza analítica marca Sartorius, modelo TE 214S (Figura 1) y una estufa marca Selecta, modelo Digitronic (Figura 28).



Figura 28. Estufa

#### **Concentración de Sólidos Volátiles:**

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

La medida de concentración de sólidos totales volátiles de las diferentes muestras se ha realizado a partir de un método gravimétrico, en el que se ha determinado la cantidad de muestra capaz de volatilizarse por el efecto de la calcinación a 550 °C hasta pesada constante.

Para ello, se ha utilizado una balanza analítica marca Sartorius, modelo TE 214S (Figura 1), estufa marca Selecta, modelo Digitronic (Figura 28) y Horno mufla marca Carbolite, modelo ELF11/14 1201 (Figura 29).



Figura 29. Horno mufla

La referencia seguida en la determinación ha sido:

- APHA-AWWA-WPCF “Métodos Normalizados para el análisis de aguas residuales y potables. Sólidos fijos y volátiles incinerados a 550 °C”.

#### **pH:**

La determinación del pH se ha realizado, a partir de un método potenciométrico, con el cual se cuantifica la actividad de los iones hidrógeno mediante un electrodo indicador y otro de referencia. Para realizar las medidas se ha empleado un pH- metro marca Crison, modelo pH25 (Figura 30).

La referencia seguida en la medida de pH de las muestras ha sido:

- APHA-AWWA-WPCF “Métodos Normalizados para el análisis de aguas residuales y potables. Valor de pH”.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	



Figura 30. pH-metro

**Nitrógeno Kjeldahl Total (NKT):**

Se determinó la cantidad total de nitrógeno en las muestras analizadas, suma del nitrógeno orgánico en sus diversas formas y el ion amonio  $\text{NH}_4^+$ . El método empleado ha sido un método titulométrico, por el cual la muestra es mineralizada en medio ácido a altas temperaturas, convirtiendo todo el nitrógeno en una sal de amonio, que luego es destilada en medio alcalino, recogiendo el destilado sobre ácido bórico que se valora por desplazamiento. En los análisis, se ha dispuesto de un digestor marca Selecta, modelo RAT 2 (Figura 31), un destilador marca Tecator, modelo 1026 (Figura 32) y una bureta digital marca Brand (Figura 2).



Figura 31. Digestor marca selecta, modelo RAT2



Figura 32. Destilador

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Las referencias seguidas en la realización del análisis son:

- Norma UNE-EN 25663:1994. “Calidad del agua”. “Determinación de Nitrógeno Kjeldahl. Método de mineralización con Selenio”. AENOR.
- APHA-AWWA-WPCF “Métodos Normalizados para el análisis de aguas residuales y potables. Nitrógeno”

### **Fósforo Total:**

La determinación del fósforo total se ha efectuado por espectrofotometría del ácido vanadomolibdofosfórico. El fósforo es digerido para liberarlo de la materia orgánica a la que pudiera estar unido, convirtiéndose en ortofosfato, que reacciona con molibdato amónico y vanadio generando un compuesto de color amarillo, que es proporcional a la cantidad de fósforo de la muestra.

Los análisis se han realizado en un espectrofotómetro UV-VIS marca Shimadzu, modelo UV-1603 (Figura 33) y un digester marca Selecta, modelo RAT 2 (Figura 31).



Figura 33. Espectrofotómetro UV-VIS

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Las referencias seguidas en la realización del análisis son:

- APHA-AWWA-WPCF “Métodos normalizados para el análisis de aguas residuales y potables”. “4500-PC. Método colorimétrico del ácido vanadomolibdofosfórico”.
- Norma UNE-EN ISO 6878 “Calidad del agua”. “Determinación del fósforo. Método espectrométrico del molibdato amónico”. 2005. AENOR.

### Demanda Química de Oxígeno

La demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro que mide la cantidad de sustancias susceptibles de ser oxidadas por medios químicos que hay disueltas o en suspensión en una muestra líquida. Para ello, se empleó un método titulométrico, en el cual la muestra se llevó a ebullición en reflujo cerrado en presencia de dicromato potásico y en medio ácido. La materia orgánica se oxida de esta forma por el dicromato, valorando el exceso de este reactivo.

Los equipos necesarios para la realización de este análisis fueron: un digestor marca Hach, modelo COD Reactor (Figura 34) y una bureta digital marca Brand (Figura 2).

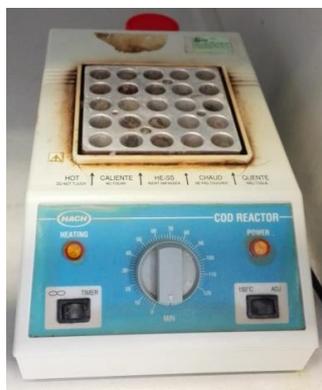


Figura 34. Digestor marca Hach, modelo COD reactor

Las referencias seguidas en la ejecución del análisis fueron:

- APHA-AWWA-WPCF “Métodos Normalizados para el análisis de aguas residuales y potables. 5220C. Reflujo cerrado, método titulométrico”
- Norma UNE 77-0004:2002. “Calidad del agua. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO). Método del dicromato”. AENOR.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

### **Análisis elemental de C, H, N**

El análisis elemental de C, H, N de las muestras se basó en la determinación de las cantidades elementales de carbono, hidrógeno y nitrógeno contenidas en la muestra.

Para la determinación de los contenidos en carbono, hidrógeno y nitrógeno, el procedimiento empleado sigue la Norma UNE-CEN/TS 15104 EX “Determinación del contenido total de carbono, hidrógeno y nitrógeno”. Para ello, se empleó un analizador elemental Marca LECO, modelo TruSpec CHN (Figura 35).



Figura 35. Detalle del interior del módulo CHN del analizador elemental.

### **D.3.1 Resultados de la caracterización de los sustratos a introducir en el digestor anaerobio (purín porcino, harinas, aguas de proceso y glicerina)**

De la Tabla 9 a la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos tras la caracterización de 3 muestras de cada uno de los residuos a digerir: purín porcino (PUR), harinas cárnicas (HA), aguas de proceso (AP) y glicerina (GL).

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 9. Resultados de las analíticas realizadas sobre purín porcino.

Residuo	pH	ST (mg/L)	STV (mg/L)	PT (mg/kg)	NKT (mg/L)	DQO (mg/L)	C (% base seca)	H (% base seca)	N (% base seca)
PP 1	7,4	30244	20214	3100	5060	54200	34,6	4,8	2,9
PP 2	7,4	31123	19543	2950	4860	53890	34,7	4,8	2,8
PP 3	7,4	31587	19338	2997	5423	54399	34,7	4,7	2,8

Tabla 10. Resultados de las analíticas realizadas sobre harinas cárnicas.

Residuo	pH	ST (%)	STV (% materia seca)	PT (mg/kg)	NKT (mg/gST)	DQO (mg/gST)	C (% base seca)	H (% base seca)	N (% base seca)
HA 1	6,45	93,8	78,2	25,7	102,5	1173	49,3	7,34	9,79
HA 2	6,45	93,4	77,9	25,1	103,1	1321	49,8	7,29	9,23
HA 3	6,45	94,2	78,3	25,6	102,9	1197	49,1	7,32	9,54

Tabla 11. Resultados de las analíticas realizadas sobre aguas de proceso.

STV (mg/L)	PT (mg/L)	NKT (mg/L)	DQO (mg/L)	C (% base seca)	H (% base seca)	N (% base seca)	SST (mg/L)	SSTV (mg/L)
16516	80,4	4630	68038	48,55	9,76	9,37	2306	1942
16492	77,6	4622	67890	48,23	9,72	9,34	2320	1967
16530	79,8	4660	67932	48,19	9,69	9,39	2302	1931

Tabla 12. Resultados de las analíticas realizadas sobre glicerina.

Residuo	pH	ST (mg/L)	STV (mg/L)	PT (mg/kg)	NKT (%)	DQO (mg/L)	C (% base seca)	H (% base seca)	N (% base seca)
GL 1	9,8	797,4	768,8	<50	0,03	15470	35,7	11,4	0,1
GL 2	9,8	795,3	762,5	<50	0,03	16020	35,8	11,3	0,1
GL 3	9,8	784,2	749,4	<50	0,03	15872	35,8	11,4	0,1

En cuanto a los datos del contenido de sólidos en general, las harinas cárnicas son las que poseen una mayor proporción.

Analizando la relación SV/ST se obtienen los valores de 0,64 para purín porcino; 0,83 para las harinas cárnicas; 0,98 para las aguas de proceso y 0,96 para la glicerina. Todos ellos son valores adecuados, teniendo en mente un proceso de digestión anaerobia, dado que revelan el alto contenido en volátiles de las corrientes analizadas frente a los sólidos totales.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

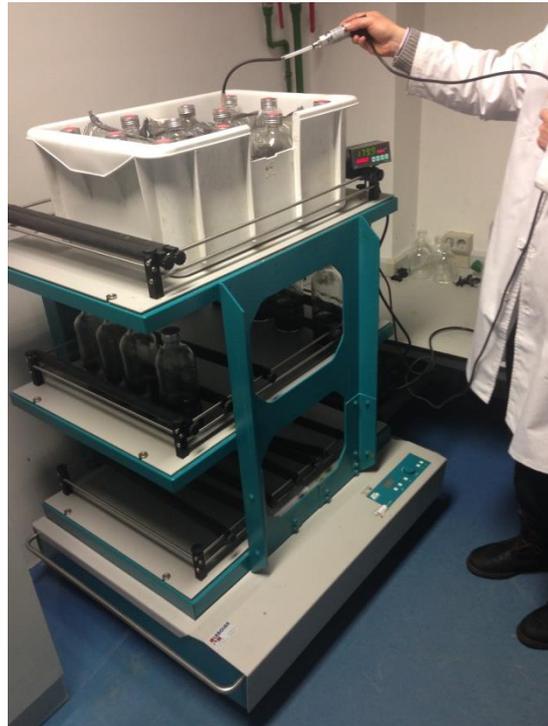
Con respecto a la relación C/N, encontramos un valor de, en torno a 12 para el purín, 5 para las harinas y las aguas de proceso y más de 350 para la glicerina. Las tres primeras corrientes consideradas son muy ricas en nitrógeno, y dado que la relación óptima C/N para la digestión anaerobia está en el rango de 20-25, es apropiada su codigestión con una corriente rica en carbono como es la glicerina, para equilibrar la composición de la corriente que entre al reactor.

Con respecto al NKT, destaca la cantidad contenida en las harinas cárnicas, mientras que en el lado opuesto se encuentra la cantidad de NKT contenida en la glicerina, resultado que concuerda con el hecho de que este residuo está compuesto principalmente por glicerol y metanol.

### **D.3.2 Determinación del potencial de biometanización de sustratos**

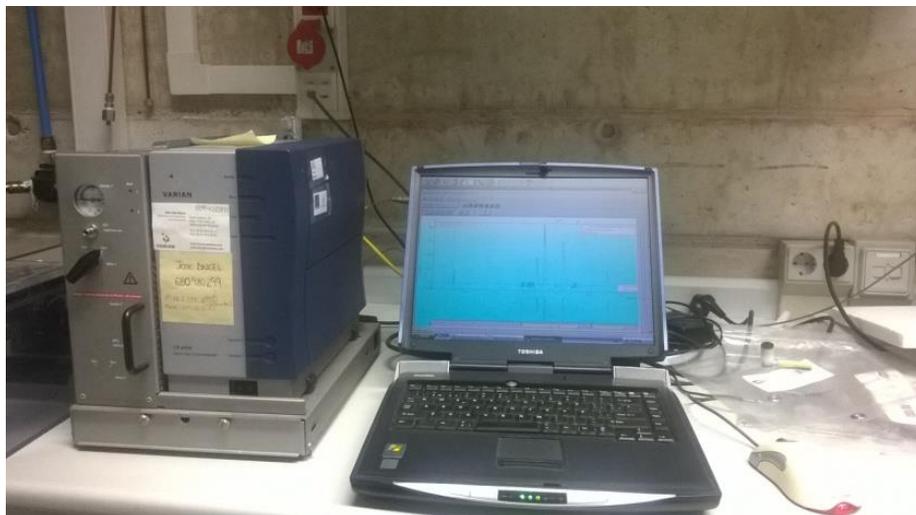
Durante esta tarea se realizaron los ensayos de biodegradabilidad de los sustratos indicados anteriormente de manera individual, a fin de determinar la producción de biogás de cada sustrato por separado. Para ello se realizaron una serie de ensayos en batch, en reactores de 1l de volumen total y 300 ml de volumen efectivo. Todos los experimentos se llevaron a cabo en una cámara termostataada a  $34 \pm 1$  °C, con agitación continua en una mesa agitadora (Figura 36). En caso de necesidad, el pH de las muestras fue corregido a 7,2 aproximadamente con HCl o NaOH. Todos los ensayos fueron llevados a cabo por triplicado y se mantuvieron operativos hasta que la producción de biogás fue nula. Además se realizó un set de ensayos en blanco (sólo inóculo) por triplicado para determinar la producción metanogénica endógena.

Las cantidades de sustrato e inóculo que se añadieron en cada reactor fueron seleccionadas de modo que la relación sustrato/inóculo (con base en los sólidos volátiles) fue de 0,5.



**Figura 36. Determinación de presión en mesa agitadora**

La producción de biogás fue medida manualmente mediante un transmisor de presión (Druck, PTX 1400, rango 1 bar) conectado al espacio libre en la cabeza de cada reactor. Las diferencias de presión eran convertidas a volumen de biogás utilizando la Ley de gases ideales y condiciones normales de presión y temperatura ( $P = 1 \text{ bar}$  y  $T = 0 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ). La composición del biogás fue medida de forma previa a cada liberación mediante un equipo Varian CP-4900 Micro-GC con detector térmico de conductividad (Figura 37).



**Figura 37. Micro GC para determinación de CH<sub>4</sub>**

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

El método empleado en la realización de los análisis aparece en la Tabla 5.

Tabla 13. Condiciones del método de análisis de biogás mediante Micro-GC.

	Canal B
Temperatura de inyección	110 °C
Temperatura del horno	60 °C
Tiempo de adquisición	40 s
Tiempo de inyección	10 ms
Presión	10 psi
Gas portador	He

En la Figura 38 y Figura 39 se muestra la producción de biogás y de metano para cada uno de los sustratos. En concreto, se ha representado el valor medio correspondiente a cada triplicado.

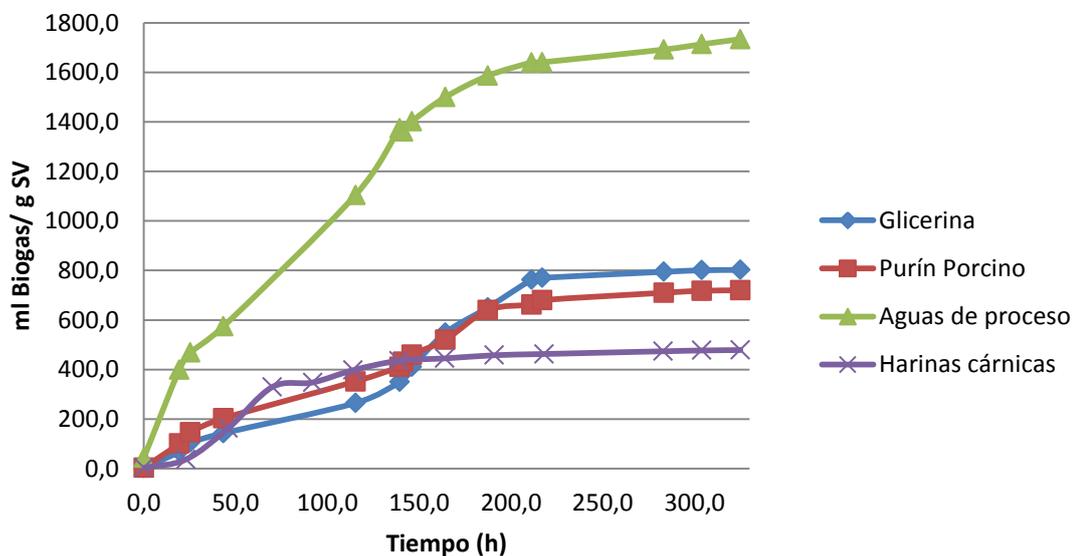


Figura 38. Producción de biogás

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

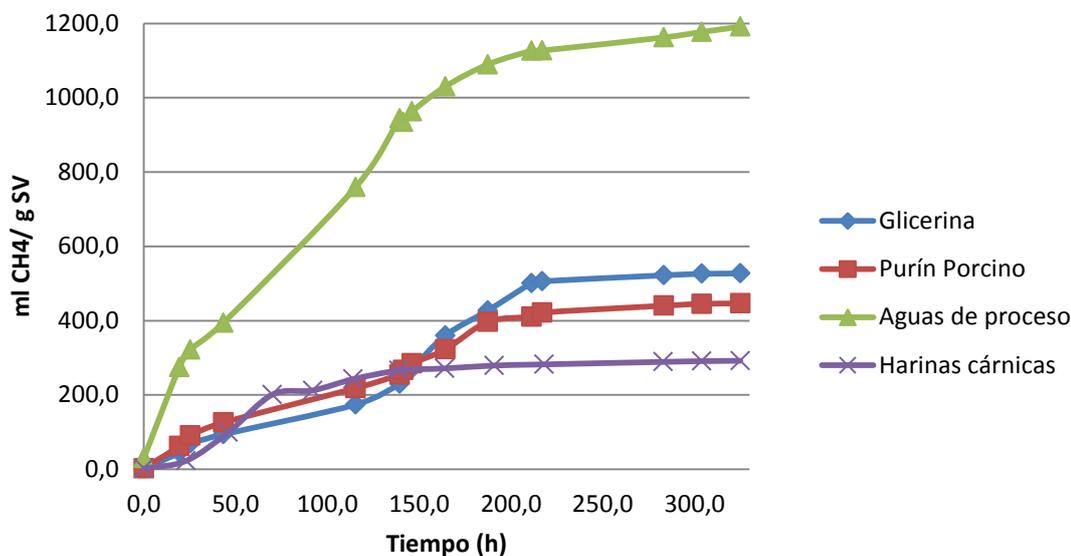


Figura 39. Producción de metano

Las curvas anteriores muestran claramente la mayor biodegradabilidad de las aguas de proceso frente a las otras corrientes analizadas. La generación de biogás comienza, de forma prácticamente inmediata, tras el arranque del test para las aguas de proceso, a diferencia de las otras corrientes que muestran tiempos de arranque bastante mayores.

La producción neta de metano es de 1200 ml/gSV en el caso de las aguas de proceso, 500 ml/gSV en el caso de la glicerina y 450 ml/gSV en el caso del purín. La menor biodegradabilidad se muestra para las harinas cárnicas que no superan los 300 ml/gSV.

Tras 250 h de ensayo todos los test se encuentran prácticamente agotados. Este dato es interesante a la hora de calcular tiempos de residencia en un reactor industrial.

La máximas velocidades de producción de metano (8 ml/gSV.h) las alcanzan las aguas de proceso, mientras que las mínimas vuelven a ser las harinas cárnicas (1,2 ml/gSV.h). Este resultado concuerda con lo esperado, ya que en las aguas de proceso el 90% de la materia orgánica se encuentra en disolución y es fácilmente accesible a los microorganismos anaerobios presentes. Por el contrario, las harinas cárnicas necesitan periodos más largos de operación para permitir que se encuentren en un estado accesible para la microbiota. El purín y la glicerina tienen una velocidad de producción de metano de 6 ml/gSV.h y 6,5 ml/gSV.h respectivamente.

En la Tabla 14 aparece la concentración de CH<sub>4</sub> en el biogás generado durante los test de biodegradabilidad para cada uno de los residuos. Como puede observarse las aguas de proceso son las que generan una corriente de biogás con una mayor concentración de metano.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 14. Concentración media de metano para cada una de los sustratos

	PP	AP	HA	GL
% CH <sub>4</sub>	62	68,7	61	65,7

### D.3.3 Caracterización de digestatos

La caracterización del digestato se ha realizado con el fin determinar el potencial de cada uno de los sustratos utilizados (purín porcino, harinas, aguas de proceso y glicerina) como enmienda orgánica. Los parámetros analíticos determinados para cada tipo de digestato obtenido han sido:

- Conductividad eléctrica y pH
- Materia orgánica total
- Carbono orgánico total e hidrosoluble
- Nitrógeno total, hidrosoluble y sus formas minerales: amónica y nítrica
- Relación C/N
- Macro y micronutrientes
- Metales pesados (níquel, cromo , cadmio y plomo)
- Índice de fitotoxicidad
- Microorganismos patógenos (Salmonella y Escherichia coli)

#### **Conductividad eléctrica y pH**

La determinación del pH se ha realizado por un método potenciométrico como se ha indicado anteriormente.

La conductividad es una expresión numérica de la capacidad de una solución para transportar una corriente eléctrica. Esta capacidad depende de la presencia de iones y de su concentración total, de su movilidad, valencia y concentraciones relativas, así como de la temperatura de medición.

#### **Materia orgánica total**

Según se ha indicado en el punto anterior.

#### **Carbono orgánico total e hidrosoluble**

El Carbono Orgánico Total se ha determinado por el método de Combustión-Infrarrojo no dispersivo. Se inyecta una microporción de muestra en una cámara de reacción caliente

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

(aproximadamente 680 °C) rellena con un catalizador oxidante. El agua se vaporiza y los componentes de carbono se oxidan a dióxido de carbono, midiéndose éste en el analizador de infrarrojo no dispersivo.

#### **Nitrógeno total, hidrosoluble y sus formas minerales: amónica y nítrica**

La determinación de nitratos y nitritos se ha realizado mediante cromatografía iónica siguiendo la norma: EN ISO 10304-1, EN ISO 10304-2

#### **Relación C/N**

La relación C/N se determina una vez realizado el análisis elemental de la muestra de digerido según el método indicado en el punto anterior.

#### **Macro, micronutrientes y metales pesados**

La determinación de metales en cada una de las muestras de digerido se ha realizado mediante espectroscopía de emisión atómica, mediante la medición de la luz emitida por el elemento y registrada por espectroscopía óptica.

Los macronutrientes analizados en cada una de las muestras han sido: K, Ca, y Mg.

Los micronutrientes analizados han sido: Se, Fe, Co, Mn, Cu, Zn, y Mo.

Los metales pesados analizados han sido: Ni, Cr, Cd y Pb.

#### **Índice de fitotoxicidad**

Para la determinación del índice de fitotoxicidad en los digeridos de cada una de las muestras, se ha realizado el ensayo de inhibición de la movilidad en *Daphnia magna*. OCDE 202, según Norma UNE-EN ISO 6341.

Las especies del género *Daphnia* y en concreto la *D. magna*, son las más utilizadas como organismos de prueba o de referencia en pruebas de toxicidad. Su amplia distribución geográfica, el importante papel que cumplen en el interior de la comunidad zooplanctónica, la reproducción partenogenética (la cual asegura una uniformidad de respuesta) entre otras características, han hecho de este grupo un ideal para la evaluación de la toxicidad.

El ensayo consiste en determinar, bajo unas condiciones controladas y definidas la concentración inicial que en 24 horas y en 48 horas inmoviliza el 50% de las *Daphnia magna* expuestas al ensayo. Estas concentraciones medias se designan como CE50-24 h y CE50-48h.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Los resultados obtenidos se consideran válidos si se cumplen las condiciones siguientes al final del ensayo:

1. La concentración de oxígeno disuelto al final del ensayo es mayor o igual a 2 mg/l.
2. El porcentaje de inmovilización observado en los recipientes testigo es inferior o igual al 10%.
3. La CE50-24 h del dicromato de potasio está comprendida entre 0,6 mg/l y 1,7 mg/L.

Para la obtención de los resultados de la concentración CE50-24 h se utiliza el método de unidades probabilísticas “probit”, el cual evalúa la relación concentración respuesta de un contaminante sobre un organismo.

#### **Microorganismos patógenos (Salmonella y Escherichia coli)**

Para el análisis de salmonella, en cada uno de los digeridos, se ha realizado una siembra en placa según norma ISO UNE-EN 6579.

La escherichia coli se ha determinado realizando una siembra en profundidad en placa con medio cromogénico Rapid e-coli, e incubación a 37°C.

#### **Resultados de la caracterización de los digestatos**

En las tablas siguientes (Tabla 15 a

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 18), se recogen los resultados de las analíticas realizadas.

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 15. Resultados de las analíticas realizadas sobre el digerido de purín porcino

		PP 1	PP 2	PP 3
<b>Conductividad (mS/cm)</b>		8,34	8,45	8,43
<b>pH (unid. pH)</b>		7,71	7,7	7,7
<b>DQO (mgO<sub>2</sub>/L)</b>		2658	2598	2582
<b>COT (mg/L)</b>		239,9	235,6	237,2
<b>COT (mg/L) hidrosoluble</b>		229,9	230,7	231,4
<b>NKT (mg/L)</b>		256	252	257
<b>NKT (mg/L) hidrosoluble</b>		166	165	168
<b>Nitratos (mg/L)</b>		4,9	4,9	4,7
<b>Nitritos (mg/L)</b>		<0,04	<0,04	<0,04
<b>C/N</b>				
<b>Macronutrientes</b>	<b>K (mg/L)</b>	279	281	284
	<b>Ca (mg/L)</b>	914	899	879
	<b>Mg (mg/L)</b>	30,7	31,2	30,6
<b>Micronutrientes</b>	<b>Fe (mg/L)</b>	17,66	16,21	16,87
	<b>Co (µg/L)</b>	314	317	322
	<b>Mn (mg/L)</b>	3,04	3,09	3,16
	<b>Cu (µg/L)</b>	579	558	570
	<b>Zn (mg/L)</b>	5,12	5,08	4,97
	<b>Mo (µg/L)</b>	37,5	38,4	37,1
	<b>Se (µg/L)</b>	44	42	45
<b>Metales pesados</b>	<b>Ni (µg/L)</b>	44,1	42,3	42,9
	<b>Cr (µg/L)</b>	24,4	25,6	24,8
	<b>Cd (µg/L)</b>	0,57	0,55	5,56
	<b>Pb (µg/L)</b>	8,66	8,43	8,12
<b>Fitotoxicidad</b>				
<b>Patógenos</b>	<b>Salmonella</b>	-	-	-
	<b>Esterichia Coli</b>	-	-	-

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 16. Resultados de las analíticas realizadas sobre el digerido de aguas de proceso

		AP 1	AP 2	AP 3
<b>Conductividad (mS/cm)</b>		31,6	30,8	31,3
<b>pH (unid. pH)</b>		8,16	8,13	8,12
<b>DQO (mgO<sub>2</sub>/L)</b>		17472	17321	17210
<b>COT (mg/L)</b>		5944	5854	5699
<b>COT (mg/L) hidrosoluble</b>		5892	5723	5612
<b>NKT (mg/L)</b>		5111	5210	5165
<b>NKT (mg/L) hidrosoluble</b>		2040	2111	2083
<b>Nitratos (mg/L)</b>		34,2	33,9	34,3
<b>Nitritos (mg/L)</b>		24,8	24,6	24,3
<b>C/N</b>				
<b>Macronutrientes</b>	<b>K (mg/L)</b>	192	186	194
	<b>Ca (mg/L)</b>	649	673	691
	<b>Mg (mg/L)</b>	16,8	16,1	17,2
<b>Micronutrientes</b>	<b>Fe (mg/L)</b>	12,48	12,23	11,87
	<b>Co (µg/L)</b>	432	412	425
	<b>Mn (mg/L)</b>	1,82	1,77	1,81
	<b>Cu (µg/L)</b>	143	139	135
	<b>Zn (mg/L)</b>	0,33	0,29	0,34
	<b>Mo (µg/L)</b>	45,5	42,1	43,6
	<b>Se (µg/L)</b>	63,6	61,8	64,8
<b>Metales pesados</b>	<b>Ni (µg/L)</b>	52,6	51,5	54,7
	<b>Cr (µg/L)</b>	19,7	19,2	18,8
	<b>Cd (µg/L)</b>	0,27	0,25	0,24
	<b>Pb (µg/L)</b>	9,45	9,12	9,34
<b>Fitotoxicidad</b>				
<b>Patógenos</b>	<b>Salmonella</b>	-	-	-
	<b>Esterichia Coli</b>	-	-	-

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 17. Resultados de las analíticas realizadas sobre el digerido de harinas cárnicas

		HA 1	HA 2	HA 3
<b>Conductividad (mS/cm)</b>		7,92	7,9	7,92
<b>pH (unid. pH)</b>		7,73	7,72	7,72
<b>DQO (mgO<sub>2</sub>/L)</b>		2292	2314	2250
<b>COT (mg/L)</b>		137,9	135,8	137,1
<b>COT (mg/L) hidrosoluble</b>		124,8	125,3	125,9
<b>NKT (mg/L)</b>		441	432	429
<b>NKT (mg/L) hidrosoluble</b>		217	220	221
<b>Nitratos (mg/L)</b>		2,81	2,83	2,8
<b>Nitritos (mg/L)</b>		<0,04	<0,04	<0,04
<b>C/N</b>		10		
<b>Macronutrientes</b>	<b>K (mg/L)</b>	201	197	199
	<b>Ca (mg/L)</b>	1397	1402	1421
	<b>Mg (mg/L)</b>	15,0	15,4	14,8
<b>Micronutrientes</b>	<b>Fe (mg/L)</b>	22,55	22,96	22,67
	<b>Co (µg/L)</b>	236	240	242
	<b>Mn (mg/L)</b>	4,00	4,34	4,46
	<b>Cu (µg/L)</b>	90,9	89,7	90,1
	<b>Zn (mg/L)</b>	0,56	0,52	0,58
	<b>Mo (µg/L)</b>	20,3	20,7	21,1
	<b>Se (µg/L)</b>	28,4	27,8	28,1
<b>Metales pesados</b>	<b>Ni (µg/L)</b>	45,9	44,7	45,3
	<b>Cr (µg/L)</b>	24,7	24,7	24,1
	<b>Cd (µg/L)</b>	0,43	0,45	0,46
	<b>Pb (µg/L)</b>	9,66	9,16	9,09
<b>Fitotoxicidad</b>				
<b>Patógenos</b>	<b>Salmonella</b>	-	-	-
	<b>Esterichia Coli</b>	-	-	-

	<b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b> VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS	
	Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers	

Tabla 18. Resultados de las analíticas realizadas sobre el digerido de glicerina

		GL 1	GL 2	GL 3
<b>Conductividad (mS/cm)</b>		6,11	6,24	6,42
<b>pH (unid. pH)</b>		7,35	7,11	7,3
<b>DQO (mgO<sub>2</sub>/L)</b>		1719	1687	1732
<b>COT (mg/L)</b>		447,8	446,5	454,3
<b>COT (mg/L) hidrosoluble</b>		422,6	425,9	430,4
<b>NKT (mg/L)</b>		86	88	89
<b>NKT (mg/L) hidrosoluble</b>		53	54	51
<b>Nitratos (mg/L)</b>		< 2,00	< 2,00	< 2,00
<b>Nitritos (mg/L)</b>		0,04	0,04	0,04
<b>C/N</b>				
<b>Macronutrientes</b>	<b>K (mg/L)</b>	225	231	224
	<b>Ca (mg/L)</b>	299	282	293
	<b>Mg (mg/L)</b>	11,7	11,3	11,2
<b>Micronutrientes</b>	<b>Fe (mg/L)</b>	6,42	6,12	6,31
	<b>Co (µg/L)</b>	345	331	341
	<b>Mn (mg/L)</b>	1,00	1,03	1,06
	<b>Cu (µg/L)</b>	53,9	52,4	51,8
	<b>Zn (mg/L)</b>	0,11	0,12	0,11
	<b>Mo (µg/L)</b>	33,2	32,8	32,5
	<b>Se (µg/L)</b>	38,4	38,7	37,4
<b>Metales pesados</b>	<b>Ni (µg/L)</b>	78,4	77,3	76,2
	<b>Cr (µg/L)</b>	20,1	19,1	19,4
	<b>Cd (µg/L)</b>	0,74	0,68	0,66
	<b>Pb (µg/L)</b>	3,05	3,01	2,98
<b>Fitotoxicidad</b>				
<b>Patógenos</b>	<b>Salmonella</b>	-	-	-
	<b>Esterichia Coli</b>	-	-	-

De los resultados anteriores puede extraerse que las cuatro corrientes analizadas (digestatos) pueden ser, a priori, aptas para su valorización agronómica. Es de destacar la ausencia total de Salmonella y E. Coli en los cuatro digestatos, el bajo contenido en metales de todos ellos y la presencia de materia orgánica remanente y nutrientes (N, K), lo que incrementa su valor potencial como fertilizantes.

	<p><b>LIFE + VALPORC LIFE 13ENV/ES/001115</b></p> <p>VALORIZACIÓN DE CADÁVERES DE PORCINO MEDIANTE SU TRANSFORMACIÓN EN BIOCOMBUSTIBLES Y FERTILIZANTES ORGÁNICOS</p>	
	<p>Valorization of pig carcasses through their transformation into biofuels and organic fertilizers</p>	

## E. Referencias

Gerpen, J. V. & Clements, L. D. (2004). Biodiesel production technology. NREL-National Renewable Energy Laboratory. NREL/SR-510-36244.