



CARACTERIZACIÓN DEL FRACCIONAMIENTO POR FILTRACIÓN DEL BIOL Y CINÉTICA DE FOTOINACTIVACIÓN DE ENTEROBACTERIAS EN LA FASE LÍQUIDA

Characterization of biol filtration fractionation and photoinactivation kinetics of enterobacteria in the liquid phase

Israel Bellatin Foronda^{1*} ; Fermín Arévalo Ortíz¹ 

¹ Departamento Académico de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Agraria La Molina, 15024 - La Molina, Lima, Perú.

* E-mail: israel.bellatin@hotmail.com

Recibido: 21/02/2022; Aceptado: 06/07/2022; Publicado: 31/07/2022

ABSTRACT

Biogas is one of the best alternatives to produce renewable energy, it uses the waste from agribusiness as the main substrate for its formation. However, when producing significant amounts of biogas, large amounts of biol are generated; solar radiation and environmental oxygen are used to disinfect this compound. To guarantee the desired disinfection, it is necessary to know the kinetics of the death of Enterobacteriaceae by solar radiation and atmospheric oxygen. The objective of this scientific article was to model the disinfection kinetics of the biol, calculating the incidence of accumulated radiation per m^3 of biol, obtained as a by-product of biogas formation, from pig slurry and 1:10 water. Through an analysis of variance (ANOVA) and a multiple comparison test of the treatments using the Tukey test, the synergistic effect of solar radiation and atmospheric oxygen for the solar inactivation of enterobacteria was determined. It was found that to achieve optimal solar disinfection in the biol, its turbidity must be reduced, separating the liquid phase and diluting it with water 1:3. The separation of the phases carried out in the present study reached a volume of 56 per cent with respect to the total volume, retaining 36 and 49 per cent of nitrogen and phosphorus, respectively, of the total volume. With the liquid phase of the biol, a turbidity level (NTU) of 365 was obtained. From this, it was concluded that the atmospheric conditions were appropriate to reduce the load of enterobacteria, reaching the detection limit after 10 hours, with a cumulative radiation of 209.8 watts per m^3 of biol. The biocidal effect started from 40 watts per m^3 of accumulated radiation biol.

Forma de citar el artículo (Formato APA):

Bellatin, I., & Arévalo, F. (2022). Caracterización del fraccionamiento por filtración del biol y cinética de fotoinactivación de enterobacterias en la fase líquida. *Anales Científicos*. 83(1), 33-46. <http://dx.doi.org/10.21704/ac.v83i1.1882>.

Autor de correspondencia (*): Israel Bellatin Foronda. Email: israel.bellatin@hotmail.com

© Los autores. Publicado por la Universidad Nacional Agraria La Molina.

This is an open access article under the CC BY

Keywords: biol disinfection | modeling | photoinactivation | accumulated heat | disinfection kinetics.

RESUMEN

El biogás es una de las mejores alternativas para la producción de energía renovable, utiliza los desechos de la agroindustria como principal sustrato para su formación. Sin embargo, al producir cantidades significativas de biogás se generan grandes cantidades de biol, para desinfectar este compuesto se utiliza la radiación solar y el oxígeno ambiental. Para garantizar la desinfección deseada, es necesario conocer la cinética de la muerte de enterobacterias por radiación solar y oxígeno atmosférico. El presente artículo científico tuvo como objetivo modelar la cinética de desinfección del biol, calculando la incidencia de radiación acumulada por m³ de biol, obtenido como subproducto de la formación de biogás, a partir de purín de cerdo y agua 1:10. A través de un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de los tratamientos mediante la prueba de Tukey, se determinó el efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico para la inactivación solar de enterobacterias. Se comprobó que para alcanzar una óptima desinfección solar en el biol se debe disminuir su turbidez, separando la fase líquida y diluyéndolo con agua 1:3. La separación de las fases realizada en el presente estudio alcanzó un volumen del 56 por ciento respecto del volumen total, reteniendo el 36 y 49 por ciento de nitrógeno y fósforo, respectivamente, del volumen total. Con la fase líquida del biol se obtuvo un nivel de turbidez (NTU) de 365. A partir de esto, se concluyó que las condiciones atmosféricas eran apropiadas para disminuir la carga de enterobacterias, alcanzando el límite de detección luego de 10 horas, con una radiación acumulada de 209.8 watts por m³ de biol. El efecto biocida empezó desde los 40 watts por m³ de biol de radiación acumulada.

Palabras clave: Desinfección solar | Cinética de muerte celular | fotoinactivación | post-tratamiento del biol | calor acumulado.

1. INTRODUCCIÓN

La digestión anaeróbica tiene como propósito generar biogas (compuesto por metano, dióxido de carbono y trazas de otros gases) a partir de desechos orgánicos sólidos, como subproductos de dicho proceso se genera el digestato, el cual es muy utilizado en la actualidad como fertilizante, debido a su capacidad nutricional y sus características fisicoquímicas como acondicionador de suelo. Sin embargo, este suele albergar una cantidad apreciable de bacterias indicadoras de higiene, representando así un riesgo a la salud, tanto para los que lo manipulan como los que consumen las verduras cultivadas con dicho fertilizante (Vega, 2020).

Hoy en día, el aumento de la generación de residuos orgánicos ha provocado que las acciones requeridas sean cada vez más necesarias a causa del crecimiento social, el aumento de la población y de la necesidad de los recursos. Se estima que la generación de residuos para el 2050 aumentaría en un 70 por ciento a nivel mundial, con niveles cercanos a 3400 millones de toneladas al año, perjudicando tanto al suelo, como al

agua y reduciendo el espacio (Ossa-Carrasquilla et al., 2020).

Cada día, más países integran a su normativa, la adecuada gestión de los subproductos de la digestión anaeróbica, para prevenir que estos provoquen problemas sanitarios y/o ambientales como el caso de España con el Reglamento CE N°1774/2002 (Domínguez, 2021) o el caso de Inglaterra PAS 110:2014 (British Standards Institution [BSI], 2014). Así mismo, en Estados Unidos de Norteamérica se contempla en la regla federal de biosólidos y en 40 CFR, Parte 503 en la que proporcionan los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de los biosólidos que se aplicarán a la tierra (Vásquez y Vargas, 2018). Perú aún no cuenta con una norma que rijan los estándares de calidad necesarios para el uso del biol como abono, ni pautas que garanticen una adecuada disposición sin generar algún impacto ambiental nocivo, es de suma importancia promulgar las buenas prácticas de uso del biol y brindar la información necesaria para su adecuada gestión frente a cualquier contexto (INACAL, 2020).

Estudios elaborados por la Organización Mundial de la Salud [OMS] en el año 2017 detectaron que el 78 por ciento de los 663 millones de personas que consumen agua contaminada viven en comunidades rurales de países en desarrollo, generando así gran cantidad de brotes de ETA's, entre estas poblaciones. Países como Nigeria han presentado alrededor del 35 % de las muertes por diarrea relacionadas con el agua a nivel mundial. Tales desafíos sugieren la implementación de métodos más rudimentarios y autosuficientes para purificar el agua, incluida la desinfección solar del agua (SODIS) (Nwankwo et al., 2021).

Hoy en día, el SODIS se considera una técnica práctica para desinfectar el agua. Sin embargo, debido a su gran efectividad, se generan diversos estudios para determinar los niveles de los parámetros que influyen en este proceso, con el fin de estandarizarlo. Estudios como el de Castro-Alfárez et al. (2017), han demostrado que el mecanismo de acción se da por la generación de agentes reactivos del oxígeno disueltos en el agua; si bien, las bacterias cuentan con mecanismos para mitigar los efectos de los ROS, no se dan abasto frente a un SODIS con los valores de los parámetros claves adecuados (tiempo, radiación, relación área de exposición/volumen).

La fotoinactivación de ciertas enzimas como la catalasa (CAT) y el superóxido dismutasa (SOD), las cuales son las encargadas de eliminar a los agentes ROS, son determinantes en este proceso. Es necesario conocer el tiempo de exposición y la cantidad de calor incidente necesarios para disminuir la concentración de enterobacterias a cantidades inofensivas (Castro-Alfárez et al., 2017). Para que los rayos solares puedan penetrar la superficie del biol y junto con el oxígeno puedan desinfectarlo, es necesario acondicionarlo disminuyendo su turbidez, sin embargo, esto altera sus propiedades nutritivas.

El siguiente estudio tiene como fin caracterizar el biol post-acondicionamiento y conocer la cinética de desinfección, usando la radiación solar y el oxígeno atmosférico como agentes letales para las enterobacterias, así conocer el tipo de relación que llevan las variables para sentar las bases de futuros estudios de escalamiento y como disponer del biol sanitizado. Para alcanzar dicho objetivo se evaluó las características fisicoquímicas y microbiológicas del

biol a tratar. Posteriormente, se ajustó las características físicas a las requeridas para un óptimo proceso de desinfección solar, por medio de la separación de sus fases (líquida y sólida) y la dilución de su fase líquida con el fin de disminuir su turbidez.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de ejecución y extracción del biol.

El biol con el que se trabajó fue brindado por el Centro Modelo de Tratamiento de Residuos (CEMTRAR) de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), extraído del tanque colector de biol de un biorreactor del tipo tubular de geomembrana de PVC productor de biogás a base de purín de cerdo y agua, en relación de 1-10 respectivamente (Cañote, 2012).

Caracterización del biol

Caracterización fisicoquímica. Se extrajeron cinco litros de biol, se midió su pH con un potenciómetro Hanna modelo pH 211, se mandó a analizar el biol obtenido en cuanto a cantidad de nitrógeno y fósforo al Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Agua y Fertilizantes (LASPAF) AOAC 955.04-1955(1997), Nitrogen (Total) in fertilizers. Kjeldah.

Caracterización microbiológica (Enterobacterias). Se determinó la carga de enterobacterias diluyendo 10 g de biol en 90 g de agua peptona al 1 %, colocando 1 ml de la dilución en una placa petrifilm-enterobacterias e incubando en una estufa a 37 °C durante 24 horas.

Obtención y caracterización de la fase líquida del biol.

Para separar las fases del biol, primero se dejó decantando cinco litros de biol dentro de una refrigeradora a 4 °C durante tres días. Posterior a eso, se colectó la parte líquida y pasó por un filtro Watman de 4 mm con la ayuda de un embudo Büchner, un matraz Kitasato y una bomba de succión.

Caracterización fisicoquímica. Se midió el pH, la cantidad de nitrógeno y fósforo presentes en la fase líquida del biol.

Caracterización microbiológica. Se determinó la carga de enterobacterias diluyendo 10 g de la fase líquida del biol en 90 g de agua peptona al 1 %, colocando 1 ml de la dilución en una placa petrifilm-enterobacterias e incubando en una estufa a 37 °C durante 24 horas.

Disminución y cuantificación de la turbidez. Con el fin de obtener una menor turbidez y aumentar la penetrabilidad de la radiación, se diluyó la fase líquida del biol colectado con agua estéril destilada, en relación 1:3 hasta alcanzar un valor cercano a 300 NTU, la turbidez se midió con un turbidímetro Hanna modelo HI 98703.

Prueba preliminar del efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico en la inactivación de las enterobacterias presentes en la fase líquida del biol.

Para el experimento se usó un diseño factorial a dos niveles, 2^2 , donde los factores a estudiar fueron la radiación solar y el oxígeno a nivel atmosférico. Cada factor contó con dos niveles, un nivel + (que indica presencia del factor) y un nivel - (que indica la ausencia del factor), tal como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Codificación de los tratamientos preliminares del diseño factorial

Radiación solar (luz)	Oxígeno	
	con	sin
con	++	+-
sin	-+	--

Para realizar el experimento, se expuso 30 ml de FLB 1:3 en placas Petri de 90 ml y fueron tapados con plástico de baja densidad de polietileno y polipropileno, desde las 12 pm hasta las 4 pm (durante 4 horas). Para realizar el experimento ++ se expuso cada placa a la radiación solar y al oxígeno atmosférico. En el experimento +- se cubrieron las placas con una bolsa de polietileno negro (evitando que pasen los rayos solares). Para el caso del experimento -+ se cubrió a las placas con una bolsa transparente de polietileno con un *Anaerocult*® por dentro debidamente hidratado, para poder, así, generar un ambiente anaerobio. A modo de garantizar que exista un ambiente anaerobio se usó una banda de *Anaerotest*®. Por último, para el experimento -- se usó una bolsa negra y un *Anaerocult*® de la misma manera que en los experimentos anteriores.

Pasada las cuatro horas de exposición, se extrajo 1 ml de cada placa y se procedió al análisis microbiológico correspondiente (el análisis microbiológico se explica en detalle más adelante).

Análisis estadístico para evaluar el efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico

Usando el software Minitab se realizarán las pruebas de análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparación múltiple de los tratamientos mediante la prueba de Tukey, para medir el efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico para la inactivación solar de enterobacterias.

Exposición de la fase líquida del biol diluido 1:3 a la radiación solar y al oxígeno atmosférico

Construcción del captador solar. Para exponer el biol a la radiación solar, se construyeron dos contenedores rectangulares de plástico transparente con 3,5 cm de profundidad, 20,6 cm de largo y 12,5 cm de ancho, con una tapa de polietileno y una válvula de extracción de muestra, en el cual se vertió 1:l del biol filtrado en cada uno. Para el control se utilizó contenedores de la misma medida, pero con tapa de polietileno negro (para evitar el ingreso de radiación solar UV).

Tiempo de exposición y medición de la radiación solar incidente y temperatura.

Los datos de la radiación global incidente y temperatura atmosférica fueron estimados y brindados por el centro meteorológico Alexander Von Humbolt de la UNALM. Se registró cada parámetro cada hora, como se detalla en la Tabla 2, durante tres días, utilizando el equipo de la estación meteorológica Davis.

Toma de muestras. La toma de muestra se realizó por medio de la válvula de extracción, previamente desinfectada con alcohol de 70° y enjuagado con agua destilada. Se extrajo 10 g de muestra de cada contenedor en los intervalos que muestra la tabla.

Construcción de la cinética de la muerte de enterobacterias

- **Análisis microbiológico cuantitativo de enterobacterias.**

Almacenamiento de la muestra. Las muestras fueron transportadas en un contenedor a 10 °C desde el Centro Meteorológico de la UNALM hasta el lugar de análisis, el laboratorio Q5 del Departamento de Química de la UNALM.

Tabla 2. Horarios de toma de muestras

Tiempo hh.mm.	7:00	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00
Muestra	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9	M10

Preparación y análisis de la muestra. La muestra se homogenizó y se preparó con una dilución de 1:10 con *buffer* de agua peptonada (método ISO 6579) y se verificó que llevara un pH de entre 6,2 y 7,7, se inoculó 1 ml de la suspensión inicial en una placa petrifilm EB y se llevó a incubación durante 24 ± 2 horas a $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1$ $^\circ\text{C}$ (método AFNOR, validado 3M 01/0609/97).

Estudios han validado el uso de los medios listos para usar Petrifilm para matrices que no están dentro del alcance de su norma ISO o AFNOR, como en aguas para riego y análisis para determinar la calidad del agua, respetando los principios básicos de su uso (pH determinado y evitar matrices que por su color puedan entorpecer el conteo de las colonias) (Yuan, 2016; Meador et al., 2012).

Interpretación de los datos

Se realizó la lectura de las placas, contabilizando únicamente las colonias que presentaron un halo amarillo y/o burbujas de gases asociadas. Se consideró el factor de dilución y se obtuvo el N° de UFC (unidades formadoras de colonias) /ml con la siguiente fórmula:

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{N^\circ \text{ de colonias por placas} \times \text{el factor de dilución}}{ml \text{ de la muestra sembrada}}$$

Determinación fisicoquímica de las condiciones climáticas. La temperatura atmosférica y la radiación solar fueron cuantificadas por la estación automática Davis del centro meteorológico Alexander Von Humboldt de la UNALM, en cada hora del día.

Se integró la radiación solar respecto al tiempo y se obtuvo la irradiación. Posteriormente, con esos datos se calculó la energía acumulada de radiación solar W/m^3 de biol.

Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la fase líquida del biol diluido 1:3 a la exposición de la radiación solar y oxígeno. Se extrajo una porción de la

muestra para el análisis microbiológico y se midió inmediatamente la temperatura y el pH.

Con todos los datos obtenidos, se construyó una curva de la concentración de enterobacterias en cada muestra tomada versus el tiempo, y la concentración de enterobacterias de cada muestra tomada versus la energía acumulada de la radiación global incidente J/m^2 y se calcularon los parámetros cinéticos.

Cinética del modelo. El enfoque cinético se basa en la ecuación de Watson-Chick (utilizada para expresar la desinfección con agentes químicos) con una modificación para desinfección solar.

$$\frac{N}{N_0} = e^{-k \times C^n \times t} \rightarrow \ln \frac{N}{N_0} = -K \times C^n \times t$$

Donde:

N_0 : es el número inicial de microorganismos presentes.
 N : es el número de microorganismos posterior al tratamiento.

K : constante de velocidad de la reacción, que depende del desinfectante utilizado y de la mortalidad del microorganismo afectado en las condiciones operatorias aplicadas (pH, fuerza iónica, temperatura, etcétera).

C : concentración de desinfectante (o dosis de tratamiento en el caso de una irradiación UV, por ejemplo), supuesta constante durante toda la duración de la inactivación.

n : orden de la reacción (generalmente se puede considerar el valor de n como 1, volviéndose una ecuación de orden 1.

t : tiempo de contacto entre el microorganismo y el desinfectante.

En el proceso fotolítico, la expresión general de la ecuación de Chick-Watson se puede modificar para nuestras condiciones experimentales, donde el tiempo es sustituido por la cantidad de energía solar recibida durante el experimento por unidad de volumen (Q_{sol})

para hacer posible la comparación con resultados obtenidos en otros reactores solares:

$$\ln \ln \frac{N}{N_0} = -K \times Q_{sol}$$

El parámetro Q_{sol} permite evaluar y comparar resultados de experimentos llevados a cabo en diferentes días u horas con diferentes condiciones meteorológicas. Se calcula según la ecuación, donde t_n es el tiempo experimental para la muestra n, Q_{sol} es la media de la irradiancia solar medida durante el periodo $(t_n - t_n - 1)$, A_r es la superficie iluminada del captador solar y V_T es el volumen total del reactor (P. Fernandez).

Análisis estadístico. Con el fin de calcular el valor óptimo de los parámetros cinéticos se usó el programa *Excel-Solver* y se calculó el coeficiente R de correlación para determinar el grado de ajuste de los datos con la ecuación cinética.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización fisicoquímica y microbiológica del biol, la fase líquida del biol (FLB) y la fase líquida del biol diluida 1:3 (FLB 1:3)

La separación de las fases sólida y líquida del biol tiene como finalidad, disminuir el volumen y concentrar la mayor cantidad de nutrientes en la fase sólida. Tanto la eficiencia como el costo del proceso pueden variar, dependiendo de cómo se efectúen. Los principales nutrientes que se toman en cuenta en el biol son: el nitrógeno, el fósforo y el potasio; ya que se encuentran en mayor abundancia y relevancia en los aspectos agrícolas y ambientales (Martínez y Francesena, 2018).

Los resultados de la división de las fases en este estudio mostraron un rendimiento bajo en comparación a otros trabajos con diferentes métodos de separación de fases. Lukehurst et al. (2010), reportan un volumen final de la fase líquida entre 80-90 % con respecto al volumen total del biol. Sin embargo; el presente estudio solo alcanzó un porcentaje del 56 % en la separación. Esto se debió

a que, la decantación efectuada como primer paso para facilitar la separación por filtración al vacío, no fue potenciada con ningún agente coagulante o clarificante que pudiera decantar de mejor manera las partículas en suspensión que quedaron en la zona media del recipiente.

La distribución de las concentraciones del nitrógeno y fósforo entre las fases del biol no son congruentes con estudios previos como podemos observar en la Figura 1. Esto se debe a la baja eficiencia de separación de las fases.

Se determinó que la fase líquida del biol solo contuvo un 36 % del nitrógeno total. Sin embargo, otros estudios muestran que, bajo un proceso óptimo, la fase líquida suele contener 70-80 % del nitrógeno total. La baja cantidad de nitrógeno del experimento probablemente se debió a la baja eficiencia del proceso de separación, ya que la fase sólida, contenía gran cantidad de líquido que, a su vez albergaba gran cantidad de nitrógeno. De igual manera, el fósforo también tuvo variaciones en los resultados, comparado con otros estudios. Los análisis de fósforo dieron como resultado que, la fase líquida contenía el 49 % del fósforo total. Una concentración ligeramente más baja que lo que muestra los resultados de otros estudios (50-55 %).

La ligera baja de concentración del fósforo en comparación con el nitrógeno se debió a la poca solubilidad en la fase líquida. Por tal motivo, la fase sólida, la misma que retuvo humedad, no impactó de manera relevante en la concentración de dicho nutriente (García, 2016).

Respecto al pH, como observamos en la Figura 2, se mantuvo estable en el tiempo, conservando su valor ligeramente básico (valor característico de los bioles). Este valor de pH en el biol es consecuencia tanto de la transformación del (CO_2) disuelto en $(NH_4)_2CO_3$ como del consumo de los ácidos grasos volátiles. Si se dan las condiciones necesarias, el pH del biol se mantendrá en ese rango, alcanzando su estabilidad; si el pH decrece, podría ser un indicador de que el amonio se está volatilizando (Drosig et al., 2015).

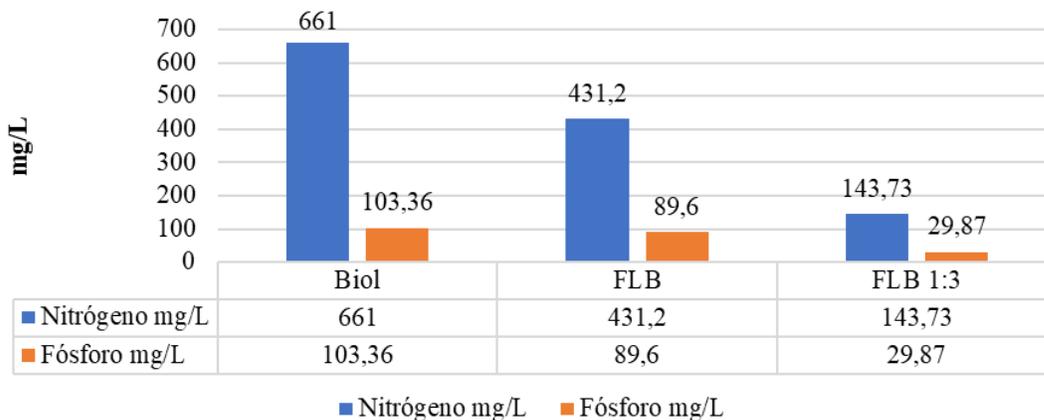


Figura 1. Concentración del fósforo y nitrógeno en el biol, en la fase líquida del biol y FLB 1:3

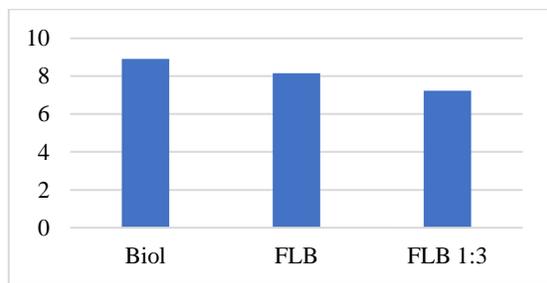


Figura 2. Niveles de pH en el biol, FLB y la FLB 1:3

La carga microbiológica del biol fue mayor a 1500 colonias (límite superior de colonias en una placa petrifilm-enterobacterias). Los parámetros clave que influyen en la inactivación de un agente patógeno son la temperatura, el tiempo de retención hidráulica y de lodos, interacciones microbiológicas competitivas, composición de la materia prima, pH y la presencia o acumulación de material tóxico (Avery et al., 2014). Si bien, la digestión anaeróbica tiene la capacidad de disminuir la carga enteropatógena del sustrato con el que es alimentado, no siempre se llega a un proceso óptimo. Diversos estudios muestran un nivel de supervivencia significativamente alto de enterobacterias, e incluso de coliformes. Esto se debe, principalmente, a que la familia de enterobacterias son anaerobias facultativas, esto quiere decir que, la falta de oxígeno no representa un inconveniente para su supervivencia. Por otro lado, los metabolitos liberados por diversas bacterias en la fermentación anaeróbica, antagónicos para las enterobacterias y las temperaturas a las que llega la digestión anaeróbica, suelen no afectarlos, ya que las partículas sólidas del biol suelen

albergar gran cantidad de bacterias, sirviéndoles así, como barrera protectora (Sahlström, 2003).

La fase líquida del digestato obtenido en este estudio tuvo una concentración de 1530 UFC/ml como se muestra en la Figura 3. El proceso de separación de fases del biol disminuye la concentración de enterobacterias en la fase líquida, sin embargo, esta reducción no siempre llega a estar en los límites permitidos para su uso agrícola, representando aún un riesgo a la salud. Los resultados también muestran que, al diluir la fase líquida del biol en una proporción de 2 litros de agua por 1 de biol, se reduce aproximadamente 1/3 de la concentración inicial.

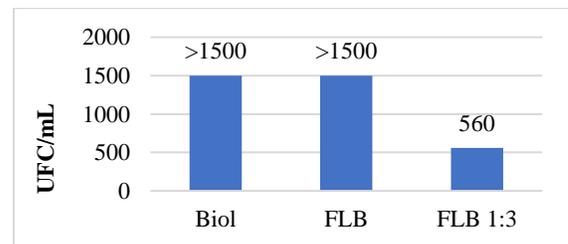


Figura 3. Concentración inicial de enterobacterias en el biol, en FLB y FLB 1:3

Diminución de la turbidez de la fase líquida del biol.

El biol dio una turbidez incontable para el rango del turbidímetro empleado como vemos en la Figura 4, la fase líquida obtuvo 935 NTU, un valor de turbidez excesivo para que la irradiación solar pueda hacer efecto en la inactivación de las enterobacterias. La fase líquida del biol diluida 1:3 tuvo una turbidez de 365 NTU. Estudios anteriores informan de una reducción

microbiana por medio de radiación solar hasta 300 NTU. A menor NTU, mayor penetrabilidad de la irradiación solar y mayor efectividad de la inactivación microbiana. La turbidez del digestato es producida por las partículas sólidas que se encuentran suspendidas en el producto (García, 2016).

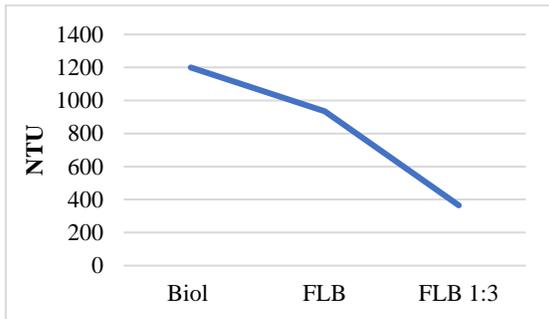


Figura 4. Disminución de la turbidez del biol

Prueba preliminar del efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico en la desinfección de la FLB 1:3

Las pruebas preliminares demostraron el efecto sinérgico que poseen la radiación solar y el oxígeno atmosférico para la desinfección de las FLB 1:3 luego de que cada tratamiento sea expuesto durante 24 horas a las condiciones dadas como se aprecia en la Figura 5. Se confirmó que, hay suficiente evidencia estadística para determinar con un 0,05 de significancia que, cada tratamiento tuvo un resultado distinto al otro, siendo el tratamiento combinado de la radiación solar con oxígeno atmosférico el más nocivo (Pérez, 2017).

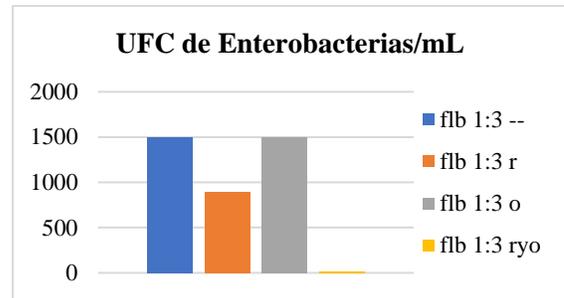


Figura 5. Concentración de Enterobacterias/mL luego del tratamiento preliminar

Caracterización de las condiciones climatológicas

Los muestreos se realizaron el 12 de diciembre de 2017, pero se tomaron datos meteorológicos hasta el 14 de diciembre de 2017, en el centro meteorológico de la UNALM. El día de experimentación presentó un tiempo soleado con baja nubosidad. El análisis microbiológico y la incubación fueron realizados en la misma universidad, en el laboratorio de fisicoquímica Q5. Las muestras fueron analizadas antes y después de su exposición al sol.

La radiación solar alcanzó su pico a las 13:00 horas con un valor de 884 W/m² mientras que la mayor temperatura se produjo a las 15:00 horas, con 24,6 °C como se muestra en la Figura 6. Según Claure (2006), para llegar a una inactivación de coliformes al 100 % en aguas residuales es necesario exponerlos a radiaciones de 5,6 KW/m² con temperaturas entre 24-27 °C.

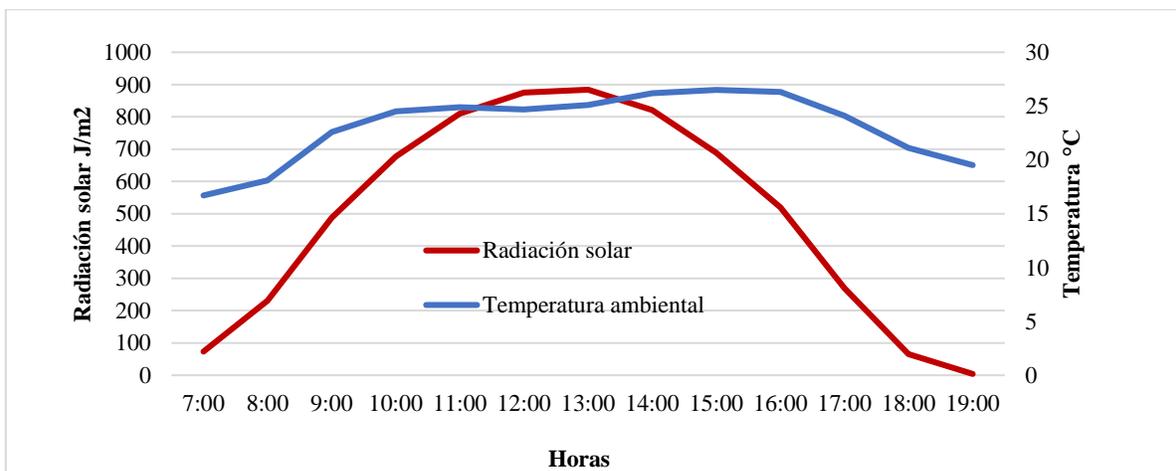


Figura 6. Temperatura atmosférica y radiación solar

Determinación fisicoquímica de la FLB 1:3 posterior al tratamiento

La temperatura del digestato fue en aumento hasta llegar a los 48 grados. La capacidad de retener el calor y superar la temperatura ambiental se debe a que el capacitador funciona como un invernadero, permitiendo el ingreso de la radiación infrarroja de determinada longitud de onda, que será absorbida por el digestato. Posteriormente, como cualquier cuerpo, el digestato emanará calor en forma de radiación infrarroja. Debido a la que la radiación emanada posea una mayor longitud de onda que la que ingresó, esta no pudo salir del capacitador.

Meierhofe y Wegelin (2003) presenta estudios donde que demuestran que el uso de platina para concentrar la radiación solar en el capacitador y cubrirlo de negro con la finalidad de retener mejor el

calor en el sistema, permite obtener temperaturas de hasta 65 grados en aguas, para su desinfección solar.

No todos los plásticos permiten el paso de la radiación UV. Luzi et al., (2016), en la guía de SODIS, recomiendan como captador solar el uso de plástico PET u otro plástico previamente aprobado por algún otro estudio, ya que; la gran mayoría de plásticos, debido a su propia naturaleza o por el hecho de poseer aditivos para no deteriorarse, evitan el paso de la radiación UV. También se recomienda que el líquido a desinfectar no posea una profundidad mayor a 10 cm. El pH se mantuvo en el tiempo como se observa en la Figura 7, lo que significó estabilidad en el proceso y que el amonio no se evaporó.

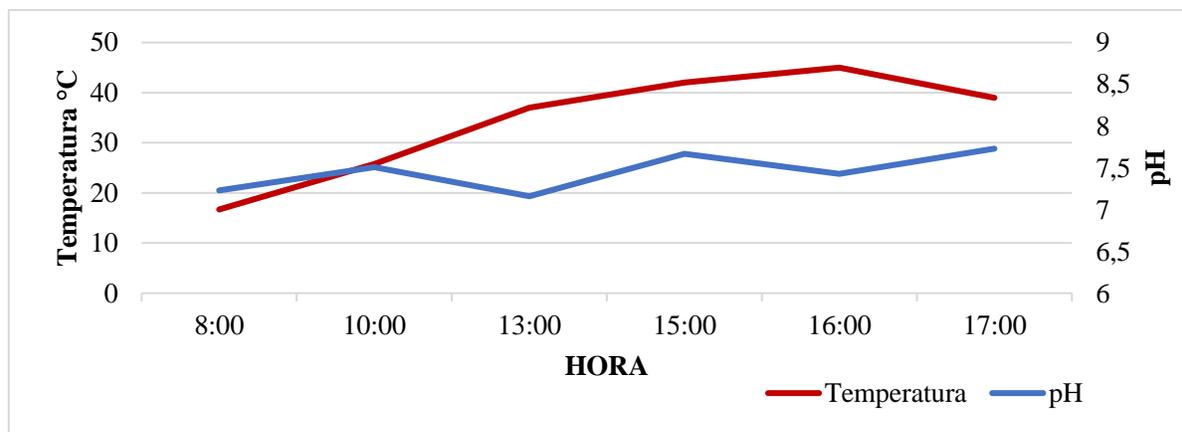


Figura 7. Caracterización fisicoquímica del biol durante el proceso de desinfección solar

Cinética de la desinfección de enterobacterias respecto del tiempo de exposición, y cinética de desinfección de enterobacterias respecto al calor acumulado

El presente estudio mostró el efecto de fotoactividad que ejerce la exposición de la fase líquida del biol a la radiación solar. Luego de ocho horas, la concentración de Enterobacteriaceas se redujo dos logaritmos, llegando al límite de detección inferior del análisis de detección como se aprecia en la Figura 8. Las pruebas de reconstitución bacteriana dieron negativo. Diversos estudios muestran la inactividad de coliformes, Salmonella, Enterococcus y demás bacterias de importancia sanitaria. El efecto biocida depende principalmente

de tres parámetros: el tiempo de exposición solar, los niveles de NTU del líquido a desinfectar y la temperatura. Reportes de varios estudios informan que, el principal efecto de la radiación solar es la generación de especies reactivas del oxígeno (ROS) los cuales oxidan la cadena de ADN, produciendo dímeros de timina que afectan la función de las proteínas y desestabilizan la membrana (Helali, 2012). Baatout et al. (2005) menciona que, el principal efecto de las temperaturas altas (30 °C-50 °C) es producido por una desestabilización de la membrana, afectando sus funciones (actividad respiratoria, el transporte, barrera de permeabilidad, etcétera). El efecto sinérgico de la radiación solar y el aumento de la temperatura producen un aumento

de la generación de superóxidos en el citosol y mayores efectos sobre las enzimas catalasa y superoxidasa dismutasa (Castro-Alfárez et al., 2017). En la Tabla 2 se muestran los valores obtenidos en este estudio para la relación entre las diferentes horas del día y la radiación. Sin embargo, al juntarse las temperaturas elevadas y la radiación

solar se produce un efecto sinérgico en la inactivación microbiana, siendo el principal sitio de acción la función de la enzima superoxidasa dismutasa, evitando que la bacteria pueda protegerse de los ROS generados por la radiación solar y las temperaturas altas (Castro-Alfárez et al., 2017).

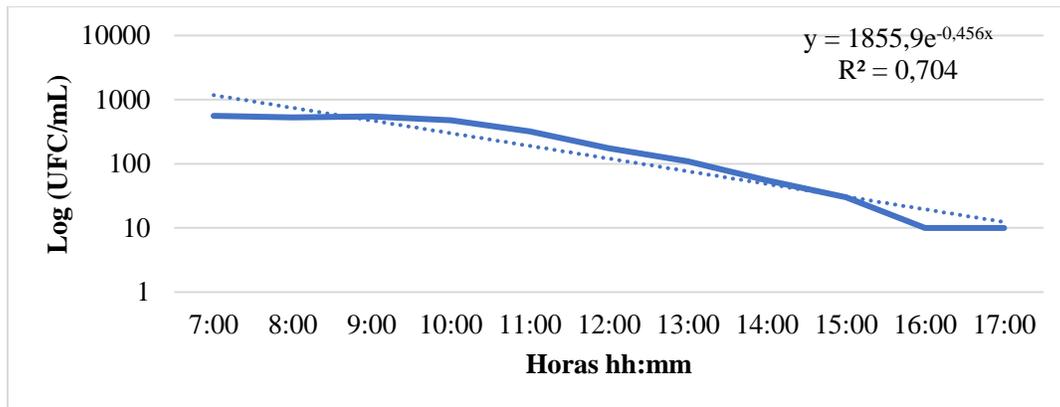


Figura 8. Número de UFC de enterobacterias por ml de biol vs. horas de tratamiento

Ya que la radiación solar no es un parámetro constante en este experimento, se buscó cuantificarlo de modo que se pueda replicar dichas condiciones y compararlo con otros trabajos de una manera más adecuada.

$$Q_{sol n} = \sum_n I_{sol n-1} * \frac{A_r}{V_t} (t_n - t_{n-1})$$

Modelamiento cinético de la desinfección solar de enterobacterias, determinación de los parámetros y formación de la ecuación de la curva. Los datos cinéticos de inactivación celular

mostrados en la Figura 9 se ajustaron estadísticamente con el modelo log-lineal de la ecuación modificada de Watson-Chick.

De este ajuste se obtienen los parámetros lineales de inactivación $k = 0,009$, $a = 0,4$ y $b = -1,74$. También se puede apreciar una mejor comprensión de la relación entre las variables asociadas, para así poder comparar los resultados frente a otros estudios con los mismos parámetros experimentales y que se ajusten al mismo modelo.

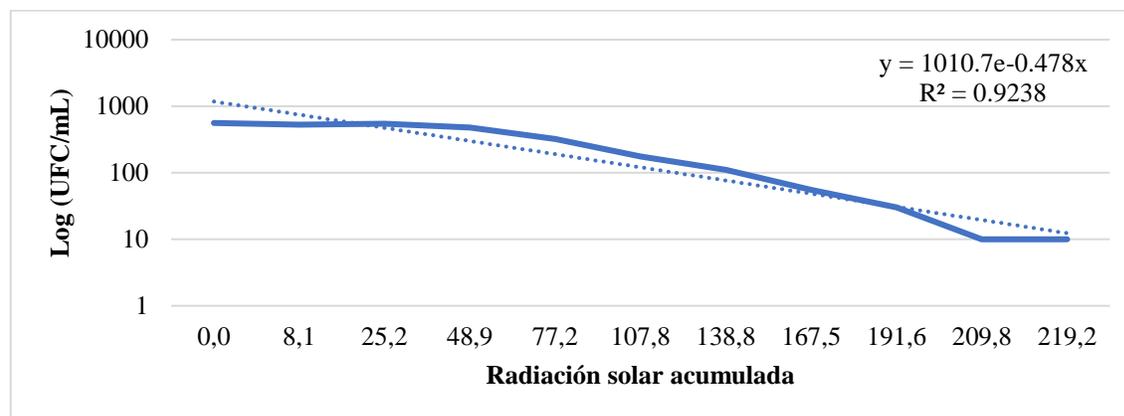


Figura 9. Logaritmo del número de UFC de enterobacterias por ml de biol respecto de la radiación solar acumulada por litro de biol.

Los modelos de inactivación suelen presentar segmentos no lineales al inicio y al final del proceso. La primera región no lineal se denomina hombro, y es un segmento de la curva donde no hay una disminución de la concentración microbiana, indicando que el proceso de desinfección no ha comenzado. La segunda región no lineal suele estar al final y se le denomina cola, es la región donde se alcanzó el máximo punto de desinfección y pese a transcurrir el proceso de desinfección, la concentración microbiana no cambiará más. En la Figura 10, se pueden observar 3 regiones (1 lineal y 2 no-lineales). Dicho comportamiento de la curva puede estar influenciado tanto por las especies microbianas que interactúan en el proceso como los componentes químicos del digestato.

El comportamiento lineal refleja una relación directa entre la dosis de radiación solar acumulada y la inactivación celular.

Existen diversas teorías para explicar la formación de las regiones no-lineales (hombro y cola) (Bevilacqua et al., 2015):

La formación de hombros en la gráfica puede deberse a:

- La presencia de algún grupo de bacteria resistente al tratamiento.
- Grupo de bacterias que contrarresten los efectos letales.
- El medio protege, hasta cierta medida, a las bacterias.
- Se requiere de la acumulación de lesiones para que el agente letal pueda empezar a inactivar a las bacterias.

La formación de cola en la gráfica de puede deber a:

- Subpoblación bacteriana resistente a la inactivación.
- Población inaccesible al tratamiento
- Población bacteriana no llega a recibir la cantidad de dosis letal.

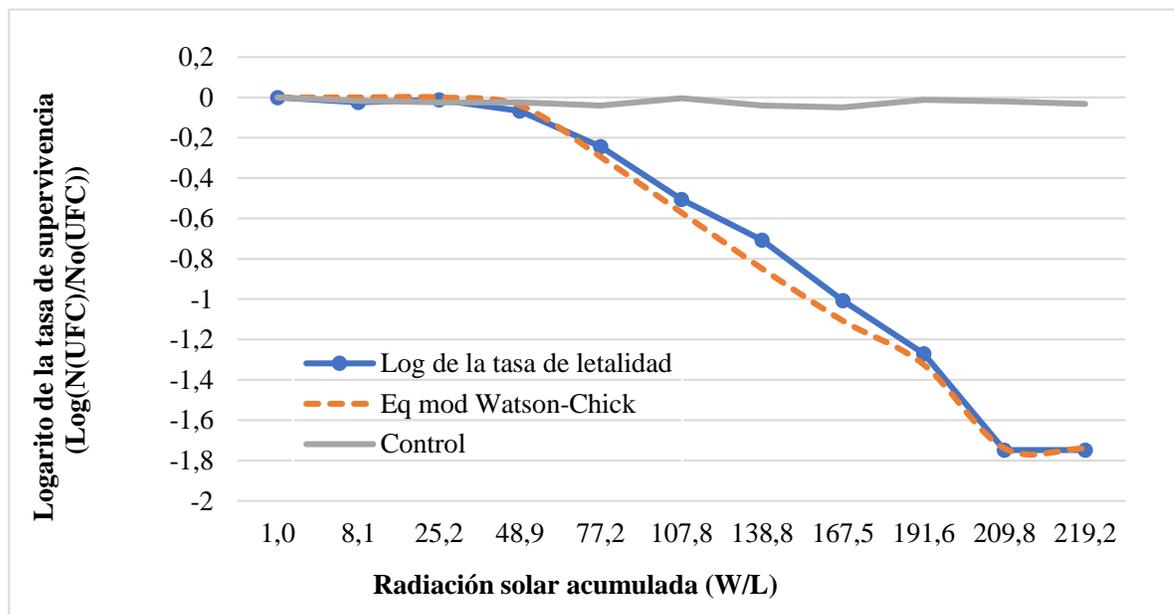


Figura 10. Cinética microbiana de desinfección solar y grupo control

Las enterobacterias son un grupo extenso de microorganismos, los cuales poseen un metabolismo distinto. La formación de hombro y de cola se puede deber a las distintas dosis que se requiere para cada

especie bacteriana presente en el digestato. Por otro lado, también se puede asumir que, la formación de hombro se debe a la necesidad de lesiones acumuladas para que el tratamiento pueda llegar a ser letal, ya que, para que se

forme la cantidad necesaria de ROS, por efecto del sinergismo entre las temperaturas ligeramente altas, la radiación solar y el oxígeno atmosférico, debe ocurrir una serie de procesos químicos tanto en el digestato como dentro de cada célula (Castro-Alfárez et al., 2017). El comportamiento lineal refleja una relación directa entre la dosis de radiación solar acumulada y la inactivación celular.

Para el presente estudio se utilizó una modificación de la ecuación de Watson-Chick, la cual contempló la presencia de una fase de latencia tipo hombro y una fase terminal tipo cola.

$$\text{Log} \left(\frac{N}{N_0} \right) = 0, \quad Q_{SOL} \leq Q_1 a - k \times Q, \quad Q_{SOL} \geq Q_1 b$$

Donde a y k son parámetros de ajuste de la región lineal del modelo de la ecuación modificada de Watson-Chick que observamos en la tabla 3 y b es el logaritmo de la tasa de letalidad máxima a la que se llegó con el tratamiento.

Tabla 3. Parámetros de la cinética de fotoinactivación de enterobacterias en biol

Parámetro	Coef. R ²			
	K	a	b	
	0.009	0.4	-1.74	0.99

La diferencia más significativa se dio con los tratamientos comparados con el tratamiento de “ryo”, comprobando el efecto sinérgico de la radiación solar y el oxígeno atmosférico.

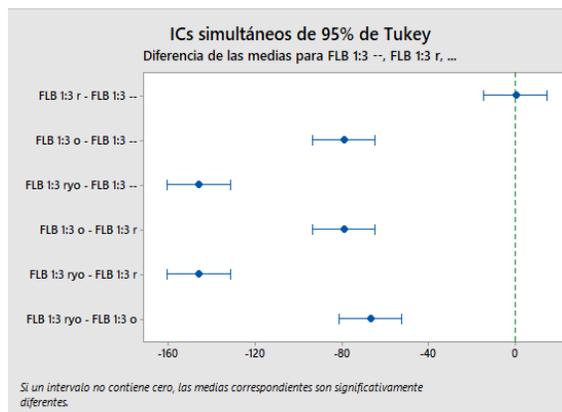


Figura 11. Comparaciones en parejas de Tukey – agrupación de información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95 %

4. CONCLUSIONES

Al separar las fases del biol se obtuvo un volumen de la fase líquida del 56 por ciento con respecto del volumen total, por lo tanto, la separación de las fases por medio de sedimentación y una posterior filtración al vacío con una membrana de 5 micras de diámetro de poro no es eficiente. La fase líquida del biol contuvo un 36 y 49 por ciento del nitrógeno y fósforo total, por ello es de esperar que la mala separación de las fases haya producido una atípica repartición de los nutrientes. El pH de la fase líquida se mantuvo estable en todo el proceso de reducción de la turbidez y la carga enterobacteriana se redujo a 560 UFC/mL en la FLB 1:3, La separación de las fases disminuyó en gran medida la turbidez del biol. Pese a que el proceso de separación no fue del todo eficiente, se llegó a remover la cantidad de sólidos necesarios para que con una dilución posterior de la fase líquida del biol de 1:3 con agua destilada alcanzara la cantidad de NTU necesarias para un proceso óptimo de fotoinactivación solar de las enterobacterias nativas. Se demostró que, el oxígeno a nivel atmosférico, por sí solo no inactiva a las Enterobacterias nativas del biol. Además, la radiación solar sin presencia de oxígeno no produce una inactivación relevante. Por otro lado, al exponer al biol al oxígeno de la atmósfera y a la radiación solar se obtuvo un alto nivel de desinfección. Se presume que estos factores ambientales interactúan de manera sinérgica, promoviendo la formación de especies reactivas del oxígeno en biol, inactivando a las enterobacterias nativas. Se demostró por medio de la estación meteorológica Davis que, las condiciones atmosféricas eran las indicadas para que se pudiera realizar la desinfección solar de Enterobacterias en el biol. De manera satisfactoria, con una temperatura máxima de 28 °C y una radiación máxima de 884 W/m².

El tratamiento de desinfección solar no demostró afectar las propiedades fisicoquímicas características del biol, manteniendo estable su pH y sin sobrepasar las temperaturas de 60 °C. A las condiciones expuestas, el biol pudo ser sanitizado con éxito para su uso como abono agrícola. El efecto de letalidad empezó al recibir 48 J/L de calor acumulado, siguiendo una cinética de fotoinactivación microbiana de primer orden y alcanzado el límite de detección al recibir 209 W/l de calor acumulado, la cinética de inactivación se ajustó al modelo modificado de Watson-Chick representando 3

regiones 1 lineal y 2 no-lineales (hombro y cola) y Con el fin de calcular el valor óptimo de los parámetros cinéticos de la región lineal se usó el programa *Excel-Solver* y se calculó el coeficiente R de correlación para determinar el grado de ajuste de los datos con la ecuación cinética los parámetros de inactivación son $k = 0,009$, $a = 0,4$ y $b = -1,74$ donde a y k representa ajustes del parámetro lineal y b el logaritmo de la tasa de letalidad máxima que se alcanzó en el tratamiento.

Conflictos de intereses

Los autores firmantes del presente trabajo de investigación declaran no tener ningún potencial conflicto de interés personal o económico con otras personas u organizaciones que puedan influir indebidamente con el presente manuscrito.

Contribuciones de los autores

Preparación y ejecución: ISBF, FHAO; Desarrollo de la metodología: ISBF, FHAO; Concepción y diseño: ISBF, FHAO; Edición del artículo: ISBF, FHAO; Supervisión del estudio ISBF, FHAO.

5. REFERENCIAS

- Avery, L., Yongabi, K., Tumsweige, V., Strachan, N., & Goude, P. (2014). Potential for Pathogen reduction in anaerobic digestion and biogas generation in Sub-Saharan Africa. *Biomass and Bioenergy*, 30, 1-13. https://www.researchgate.net/publication/260994304_Potential_for_Pathogen_reduction_in_anaerobic_digestion_and_biogas_generation_in_Sub-Saharan_Africa
- Bevilacqua, A., Speranza, B., Sinigaglia, M., & Corbo, M. R. (2015). A Focus on the Death Kinetics in Predictive Microbiology: Benefits and Limits of the Most Important Models and Some Tools Dealing with Their Application in Foods. *Foods* (Basel, Switzerland), 4(4), 565-580. <https://doi.org/10.3390/foods4040565>
- British Standards Institution [BSI]. (2014). Specification for whole digestate, separated liquor and separated fibre derived from the anaerobic digestion of source-segregated biodegradable materials. <https://www.iso.org/member/2064.html>
- Cañote, V. (2012). *Determinación y comparación de la producción de biogás de mezclas de estiércol de vacuno y porcino* (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Castro-Alfárez, M., Polo-López, M., Marugán, J. & Fernández-Ibáñez, P. (2017). Mechanistic modeling of UV and mild-heat synergistic effect on solar water disinfection. *Chemical Engineering Journal*, 316, 111-120.
- Claure, M. (2006). *Validación del Método SODIS como alternativa para la Desinfección del Agua en la Ciudad de Catacamas, Departamento de Olancho* (tesis de pregrado). <http://hdl.handle.net/11036/5685>
- Dominguez, A. (2020). *Gestión de residuos SANDACH en una industria cárnica* (trabajo de fin de grado). Universidad de la Laguna, Islas Canarias, España.
- Drosig, B., Werner F., Seadi, T., Madsen, M., & Linke, B. (2015). *Nutrient Recovery by Biogas Digestate Processing*. http://task37.ieabioenergy.com/files/daten-redaktion/download/Technical%20Brochures/NUTRIENT_RECOVERY_RZ_web1.pdf
- García, M. (mayo, 2016). Estrategias tecnológicas para el tratamiento de las deyecciones ganaderas. En Escuela Politécnica Superior Universidad de Zaragoza. *Soluciones técnicas para los purines en el sector porcino*. Simposio llevado a cabo en el XXVII Jornadas de Ciencia y Tecnología, Zaragoza, España.
- Helali, S. (2012). Aplicación de fotocatalisis para la degradación de contaminantes químicos y bacteriológicos en agua mediante catalizadores irradiados por fotones de luz natural o artificial (UV-A / UV-B) (tesis doctoral). Escuela de Doctorado en Química del Instituto Nacional de Ciencias Aplicadas Lyon, Villeurbanne, Francia.
- INACAL (2020) Resolución Directoral N° 016-2020-INACAL/DN. (5 de noviembre de 2020). Normas Técnicas Peruanas en su versión 2020 sobre fertilizantes. *Diario el Peruano*. Año XXXVII - N° 15715. <http://dataonline.gacetajuridica.com.pe/gaceta/admin/elperuano/5112020/NL20201105.pdf>
- Lukehurst C., Frost P., & Seadi T. (2010). Utilisation of digestate from biogas plants as biofertiliser. https://www.researchgate.net/profile/Peter-Frost-7/publication/228367700_Utilisation_of_digestate_from_biogas_plants_as_biofertiliser/links/00b7d52ca7ca1f381a000000/Utilisation-of-digestate-from-biogas-plants-as-biofertiliser.pdf

- Luzi, S., Tobler, M., Suter, F., & Meierhofer, R. (2016). *SODIS manual Guidance on solar water disinfection*. Dübendorf- Switzerland: Eawag. https://www.sodis.ch/methode/anwendung/ausbildungsmaterial/dokumente_material/sodismanual_2016.pdf
- Martínez, C., & Francesena, Y. (2018). Tratamiento y utilización de efluentes instalaciones de biogás como abonos orgánicos, revisión y análisis. *Centro Agrícola*. 45(2), 83-92. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253-57852018000200012&script=sci_abstract&tlng=es
- Matthews, C. (2006). La ganadería amenaza el medio ambiente. *Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO] Sala de Prensa*. <http://www.fao.org/newsroom/es/news/2006/1000448/index.html>.
- Meador, D., Fisher, P., Harmon, P., Peres, N., Teplitski, M. & Guy, C. (2006) Survey of physical, chemical and Microvial water. Quality in Greenhouse and Nursery Irrigation water. *HortTechnology*, 22, 778-786. Doi. 10.1021273/HORTTECH.22.6.778.
- Meador, D., Fisher, P., & Teplitski, M. (2013). The use of petrifilms to quantify aerobic bacteria in irrigation water. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 125, 340-342.
- Meierhofer, R., & Wegelin, M. (2003). *Desinfección Solar del Agua*, Lima, Perú: Indeart S.A.C.
- Nwankwo, E.J., & Agunwamba, J. C. (2021). Effect of reactor characteristics on the seasonal effectiveness of solar disinfection: a factorial study. *Water SA*, 47(1), 113-122. doi:10.17159/wsa/2021.v47.i1.9451.
- Ossa-Carrasquilla, L. C., Correa-Ochoa, M. A., & Múnera-Porras, L. M. (2020). La paca biodigestora como estrategia de tratamiento de residuos orgánicos: una revisión bibliográfica. *Producción + Limpia*, 15 (2), 71-91. Epub 11 de agosto de 2021. doi: 10.22507/pml.v15n2a4
- Pérez L. (2017). *Solar technologies for urban wastewater treatment, reuse, and recovery of extracted resources*. http://www.futureenviro.com/pdf/articulos/2017-04/FuturENVIRO_Water_AbrilApril_PSACiemat.pdf
- Sahlström, L. (2003). A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants. *Bioresour Technol*, 87(2), 161-6. doi: 10.1016/s0960-8524(02)00168-2
- Vasquez, J., & Vargas, G. (2018). Aprovechamiento de lodos planta de tratamiento de aguas residuales municipio de Funza, como insumo de cultivo y mejoramiento del suelo (Tesis de pre-grado). Universidad Católica de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Vega C., Lili T., Vega C., Daniel A., Poveda A., & Fernando A. (2020). Evaluación de un digestado como fertilizante orgánico. *Idesia (Arica)*, 38(3), 87-96. doi: 10.4067/S0718-34292020000300087.
- Yuan, J. (2016). Evaluation of different indicator microorganism enumeration protocols for water quality monitoring [Tesis de Maestría, Universidad de Auburn]. <https://etd.auburn.edu/bitstream/handle/10415/5110/Thesis%20-%20Jing%20Yuan.pdf?sequence=2&isAllowed=y>