



ORIGINAL ARTICLE | ARTÍCULO ORIGINAL

Environmental Impact Caused by Effluents of Biogas Factories of Small and Medium Scale

Impacto ambiental provocado por efluentes de instalaciones de biogás de pequeña y mediana escala

Dr.C. Carlos M. Martínez-Hernández^I, Ing. Yosiel Francesena-López^{II}, Dr.MV. Yaser García-López^I, M.Sc. Nilda Rosa Martínez-Flores^{III}

^I Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas (UCLV), Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

^{II} Ministerio de la Agricultura (MINAG), Delegación provincial de Sancti Spiritus, Cuba.

^{III} Centro Provincial de Higiene y Epidemiología. Carretera a Camajuaní No. 99. Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

ABSTRACT. The work was carried out with the objective of determining the properties of the effluents (digestate) as biofertilizers, as well as the possibility of their decontamination. The effluents were taken, in three anaerobic digesters of fixed dome located in the central region of Cuba. To carry out this investigation the following aspects were determined: the physical-chemical and microbiological characteristics of the influents and effluents, the study of different polluting loads, the use of secondary and tertiary filters (bio-filters), as well as their effect like biofertilizers, in dependence of different degrees of water dilution (50, 75 and 90%). As conclusions, the authors reached the following criteria: the microbial load can be reduced by using secondary and tertiary filters (<1000 NMP/100 mL). The analysis of effluents like bio-stimulants showed a positive effect when they are diluted in 90% with water (80% germination). The removal of DQO, showed positive effects when secondary and tertiary filters are applied (8 - 69, 69% of removal), however, in some cases, it does not fulfill the Cuban norm yet (NC-27:1999).

Keywords: Effluents, percentage germination; removal.

RESUMEN. El trabajo se realizó con el objetivo de determinar las propiedades de los efluentes (digestatos) como biofertilizantes; así como la posibilidad de la descontaminación de los mismos. Los efluentes fueron tomados, en tres digestores anaerobios de cúpula fija ubicados en la región central del país. Para llevar a cabo esta investigación se determinaron los siguientes aspectos: las características físico-químicas y microbiológicas de los afluentes y efluentes, el estudio de diferentes cargas contaminantes, la utilización de filtros secundarios y terciarios (biofiltros); así como su efecto como biofertilizante, en dependencia de diferentes grados de dilución en agua (50, 75 y 90%). Como conclusiones se arriban a los siguientes criterios: la carga microbiana puede ser reducida utilizando filtros secundarios y terciarios (<1000 NMP/100 mL). El análisis de los efluentes como bioestimulantes mostró un efecto positivo cuando los mismos son diluidos en un 90% con agua (80% germinación). La remoción de DQO, mostro efectos positivos cuando se aplican filtros secundarios y terciarios (8-69,69% de remoción), sin embargo en algunos casos aun no cumple con la Norma Cubana de vertimientos (NC-27:1999).

Palabras clave: Efluentes, porcentaje, germinación, remoción.

INTRODUCTION

The porcine branch in Cuba began to be developed to a quick and growing rhythm, starting from 1969 with the creation of the National Porcine Enterprise (Figueroa, 1994). According to MINAG reports, in 2009, pork meat sales from the cooperative and private sector to the state meant 70% of the total national production.

INTRODUCCIÓN

La rama porcina en Cuba comenzó a desarrollarse a un ritmo acelerado y creciente a partir de 1969 con la creación del Combinado Porcino Nacional (Figueroa *et al.*, 1994). Según informes del MINAG, en 2009 las ventas de carne porcina al Estado por el sector cooperativo y campesino significaron el 70% de lo producido nacionalmente.

Some of the environmental impacts of this production are air pollution, loss of biodiversity, water pollution due to direct dumping of contaminating untreated wastes towards water bodies used for irrigation or consumption. The emissions to the environment generated by a porcine farm can be originated in the own farm, or during the storage, treatment or application of the purín (pig manure). They can be direct emissions to the soil, to underground and superficial waters, as manure; or emissions to the air, as gases, scents, powder or noise. The most important emissions are those related with nitrogen (N) and phosphorus (P). They provoke the phenomenon of eutrophication or nutrient enrichment of water. It causes a quick growth of algae or aquatic superior plants, producing negative dysfunctions in the balance of biological populations living in the aquatic environment and in water quality. They also provoke the phenomenon of acidification of soils and waters and those pH variations affect the ecosystem. (Espejo & Garcia, 2010)

Together with the invigoration of laws related to residual water dumping, it is necessary that all human environmentally degrading activities establish efficient decontamination systems. In Cuba, unfortunately, there is a little advance in decontaminating systems for porcine wastewaters. Firstly, it is necessary to promote the development of technologies to improve the quality of the discharges, adapted to the domestic socioeconomic context. (Quintero *et al.*, 2002).

Most of the biological processes used have focused on organic matter removal (anaerobic digesters and anaerobic ponds). These porcine wastewater treatments have been mainly biological and very little chemical (Escalante, 2002).

The handling of these wastewaters has been a problem since long time ago due to the great investments necessary in treatment plants for water decontamination before its pouring into a superficial source. Because of that, it has been necessary to investigate innovative techniques to treat these wastes at low costs, like the treatment with aquatic plants (Barba, 2002). The species of "Hyacinth of water" (*Eichhornia crassipes*) and the lentil of water (*Lemna minor*) have been used before for the decontamination or reduction of pollutant levels in the water (Arenas *et al.*, 2011).

A logical solution is treating the effluents with a passive type technology that needs very little technical intervention. The bio-filtration process on organic support may be one of these solutions (Garzon *et al.*, 2012).

Regarding the previously mentioned, the great current dissemination of biogas facilities of small format to productive scale in the central provinces of Cuba and keeping in mind the few studies published on the use and final disposition of effluents (digestate) in these facilities, it is necessary to undertake an exhaustive study of this thematic.

Based on all aforementioned, the object of study of this investigation is centered in the (digestate) small-scale anaerobic digesters effluents and the most utilized technologies in the central region of Cuba.

The general objective was to determine the pollution grade of the effluents (digestate), as well as their qualities like biofertilizers. Study case: biodigesters effluents that use fixed dome technologies.

Algunos de los impactos ambientales de esta producción son: contaminación del aire, la pérdida de la biodiversidad de especies, la contaminación del agua por vertimientos directo al medio sin tratamiento adecuado hacia cuerpos receptores de cuencas de ríos, presas que son utilizadas para regadíos o el consumo.

Las emisiones al medio ambiente generadas por una granja de porcino se pueden originar en la propia granja, o bien durante el almacenamiento, tratamiento o aplicación del purín. Pueden ser emisiones directas al suelo, aguas subterráneas y superficiales, básicamente en forma de purín; o emisiones al aire, en forma de gases, olores, polvo o ruido. Las emisiones más importantes son las relacionadas con el nitrógeno (N) y el fósforo (P), que fomentan especialmente los fenómenos de: 1) eutrofización o enriquecimiento de nutrientes en el agua (el aumento de la concentración de compuestos de nitrógeno y fósforo provoca un crecimiento acelerado de las algas o las plantas acuáticas superiores, causando trastornos negativos en el equilibrio de las poblaciones biológicas presentes en el medio acuático y en la propia calidad del agua); y 2) acidificación de suelos y aguas (la reacción ácida de los distintos compuestos producen variaciones del pH que afectan al ecosistema en general) (Espejo y García, 2010).

Los procesos biológicos utilizados en su mayoría se han enfocado en la remoción de materia orgánica (digestores anaerobios, lagunas anaerobias y facultativas). Utilizando para el tratamiento de las aguas residuales porcinas en su gran parte procesos biológicos y muy poco los químicos (Escalante y Paat, 2002).

El manejo de estas aguas residuales ha sido desde tiempo atrás un problema debido a las grandes inversiones que deben de realizarse en plantas de tratamiento con el fin de depurar esta agua antes de su vertimiento a una fuente superficial. De allí ha surgido la necesidad de investigar técnicas innovadoras para el tratamiento de estos desechos, a bajos costos, como es el caso del tratamiento con plantas acuáticas (Barba, 2002). Las especies de "Jacinto de agua" (*Eichhornia crassipes*) y la lenteja de agua (*Lemna minor*) se han usado previamente para la descontaminación o reducción de los niveles de contaminantes en el agua (Arenas *et al.*, 2011).

Una solución lógica es la de tratar los efluentes con tecnologías de tipo pasivo que necesitan muy poca intervención técnica. El proceso de biofiltración sobre medio de soporte orgánico representa una de estas soluciones (Garzón *et al.*, 2012).

Ante la problemática expuesta en el trabajo y debido a la gran diseminación actual de instalaciones de biogás de pequeño formato a escala productiva en las provincias centrales de Cuba, y teniendo en cuenta los pocos estudios publicados sobre el uso y disposición final de los efluentes (digestatos) de estas instalaciones, se hace necesario acometer un estudio exhaustivo de esta temática.

Por todo lo antes mencionado el objeto de estudio de esta investigación se centra en los efluentes (digestatos) que salen de los digestores anaerobios de pequeña escala y de las diferentes tecnologías más utilizados en la región central de Cuba.

Por esta razón, en este trabajo se plantea el siguiente objetivo general:

Objetivo general:

Determinar el grado de inocuidad de los efluentes (digestatos); así como sus cualidades como biofertilizantes. Estudio de caso: efluentes de biodigestores que emplean tecnologías de cúpula fija.

METHODS

The work was carried out using biodigesters of different technologies located in the private sector of Sancti Spíritus and Villa Clara provinces, between November 2015 and May 2016.

A qualitative diagnosis of the analyzed biodigesters was performed taking into account the technology type, the substrates of the anaerobic digestion, as well as other observed characteristics (Table 1). It was carried out by means of direct observation in the place and the interview with the biodigesters operator and his relatives.

MÉTODOS

El trabajo se realizó utilizando biodigestores de diferentes tecnologías ubicados en el sector privado de las provincias de Sancti Spíritus y Villa Clara, en el período comprendido entre los meses de noviembre 2015 y mayo del 2016.

Se realizó un diagnóstico cualitativo de los biodigestores analizados donde se tuvo en cuenta el tipo de tecnología, el sustrato de la digestión anaerobia; así como otras características observadas. (Tabla 1). Esto se realizó mediante la observación directa en el lugar y la entrevista con el operador del biodigestor y sus familiares.

TABLE 1. Biodigesters Selected for the Study
TABLA 1. Biodigestores elegidos para el estudio

Biodigesters Operator	Geographical Location	Technology Type	Substrate	Volume of the Reactor
Jorge Toboso	Manacas	Fixed dome	Pig manure	12 m ³
CPA "13 de Marzo"	Cabaiguan	Fixed dome	Pig manure	12 m ³
Áriel Domínguez	Manacas	Fixed dome	Pig manure	12 m ³

Descriptions of the Secondary Filters and the Experimental Pools (Bio Filter) to Small Scale for the Valuation of Effluents

For the construction of the secondary filters, plastic bottles of 1500 mL of capacity were used. They were cut on the bottom and stuffed with a volume of 500 cm³ of zeolite, 500 cm³ of washed sand of construction and 500 cm³ of construction rubble. The covers of the bottles were punctured to allow the drainage of the effluents poured in the different experimental variants to evaluate. The pools of the bio filter were built by clipping plastic containers of 5 gallons of capacity, leaving an active volume of 850 mL. Three secondary filters and four pools (bio filters) were made.

Diagnosis of the Current State of Anaerobic Biodigesters of Different Technologies Installed on a Small Scale

Samples of the influent and the effluents were taken of each biodigesters and they were put in flasks previously washed with 3% sodium hypochlorite. For each biodigesters, three biological samples were taken. Later on, the samples were homogenized by agitation and stored at 4°C.

These samples were characterized according to the following parameters: Total Solid, Volatile Solid, pH, Chemical Oxygen Demands (DQO) and Biological Oxygen Demand (DBO) according to Standard Method (1995). In the case of effluents analysis, they will be analyzed in the primary filter (to the exit of the biodigester) and later on to the secondary filters (filter of gravel, sand and zeolite) and third (bio filter that uses *Lemna minor* plant).

Physical-Chemical and Microbiological Characteristics of the Influent and Effluents of the Studied Biodigesters. Determination of pH in Influent and Effluents

pH samples were taken to the exit of each biodigester and after going by the secondary and tertiary filters, respectively,

Descripción de los filtros secundarios y las piscinas experimentales (biofiltro) a pequeña escala para la valoración de los efluentes

Para la construcción de los filtros secundarios se utilizaron botellas plásticas de 1500 mL de capacidad. Las mismas fueron cortadas por su parte inferior y rellenas con un volumen de 500 cm³ de zeolita, 500 cm³ de arena lavada de construcción y 500 cm³ de gravilla de construcción. Las tapas de las botellas fueron barrenadas para permitir el drenaje de los efluentes vertidos en las diferentes variantes experimentales a evaluar. Las piscinas del biofiltro fueron construidas recortando envases plásticos de 5 galones de capacidad, dejando un volumen activo de 850 mL. Se realizaron tres filtros secundarios y cuatro piscinas (biofiltros).

Diagnostico del estado actual de biodigestores anaerobios de diferentes tecnologías instalados a pequeña escala

De cada biodigester se tomaran muestras de los afluentes y los efluentes en frascos previamente lavados con hipoclorito de sodio al 3%. Por cada biodigester se tomaron tres muestras biológicas. Posteriormente las muestras fueron homogenizadas por agitación y almacenadas a 4°C.

Estas muestras fueron caracterizadas según los parámetros: solidos totales, solidos volátiles, pH, demanda química de oxígeno (DQO) y Demanda biológica de oxígeno (DBO) según los (Clesceri *et al.*, 1999). En el caso del análisis de los efluentes estos serán analizados en el filtro primario (a la salida del biodigestor) y posterior a su paso por los filtros secundario (filtro de grava, arena y zeolita) y terciario (biofiltro que utiliza la planta, *lemna minor*).

Características físico-químicas y microbiológicas de los afluentes y efluentes de los biodigestores objeto de estudio. Determinación del pH en los afluentes y los efluentes

Se tomaron muestras de pH a la salida de cada biodigestor y después de pasar por los filtros secundarios y terciarios, res-

using sample takers for these; as well as a pH meter, model 780 Metrohm, Swiss mode. The samples were transported to the laboratory for the determination of the aforementioned parameter. They took three repetitions of pH for biodigester analyzed in each of the levels analyzed.

Determination of the Pathogen Microbial Load in Influent and Effluents

Influent and effluent were collected in plastic bottles of 1500 mL, and they were taken quickly to the microbiology laboratory of the Provincial Center of Hygiene and Epidemiology of Santa Clara, Villa Clara, where total coliforms, thermo tolerant coliforms and *Pseudomonas aeruginosa* were determined. In this case, later analyses are repeated after their passing through primary, secondary and tertiary filters (bio filter), once stabilized the load and with a residence hydraulic time similar of 21 days. Three flows or different loads from effluents (100, 200 and 300 mL) will be object of evaluation. With the values obtained, it is analyzed if the effluents fulfill the established norms NC-27:1999 and NC-1095:2015.

Calculation of Biomass Growth and Productivity Biomass Selected Lentil of Water (*Lemna minor*) in the Bio Filter

For the calculation of the selected biomass growth and productivity three plastic ponds were used moistened with 50 mL of distilled water, in which three different experimental variants will be carried out, which are described next:

- 1st variant: to add colonies of *Lemna minor* (9.37 g) and 100 mL of pig effluent collected to the exit of the biodigester, later to their step for the secondary filter;
- 2th variant: to add colonies of *Lemna minor* (9.37 g) and 200 mL of pig effluent collected to the exit of the biodigester, later to their step for the secondary filter;
- 3th variant: to add colonies of *Lemna minor* (9.37 g) and 300 mL of pig effluent collected to the exit of the biodigester, later to their step for the secondary filter.
- Control: to add colonies of *Lemna minor* (9.37 g) and 300 mL of common water (captured in an artisan well).

In all variants object of investigation, the initial polluting load was diluted in the same proportion (1:1) with common water. Later on, to counteract the natural perspiration of water that took place in the plastic pools, product of the photosynthesis activity of *Lemna minor* plants, 320 mL of well water were added every week in each of them. After a hydraulic residence time of 21 days in the bio filters, micro algae (*Lemna minor*) were collected and weighed in an analytic scale Denver Instrument, model IF-234. The area of proliferation of them was also observed in the respective plastic ponds. These tests were carried out under semi-controlled conditions at laboratory level (local of laboratory), where temperature and environmental pressure were daily measured. In each experimental variant evaluated triplicate tests were carried out.

pectivamente, utilizando tomas muestras para estos efectos; asi como un pH metro, modelo 780 Metrohm, Swiss mode. Las muestras se transportaron al laboratorio para la determinación del parámetro mencionado. Se tomaron tres repeticiones del pH por biodigestor analizado en cada uno de los niveles analizados.

Determinación de la carga microbiana patógena en los afluentes y los efluentes

Se colectaron los afluentes y efluentes en pomos plásticos de 1500 mL, y se llevaron rápidamente al laboratorio de microbiología del Centro Provincial de Higiene y Epidemiología de Santa Clara, Villa Clara, donde se determinarían coliformes totales, coliformes termo tolerantes y pseudomonas aeruginosas. En este caso se repiten los análisis posteriores a su paso por los filtros primarios, secundarios y terciarios (biofiltro), una vez estabilizada la carga y con un tiempo de residencia hidráulica igual a 21 días. Serán objeto de evaluación tres flujos o cargas diferentes de efluentes (100, 200 y 300 mL). Con los valores obtenidos se analiza si los efluentes cumplen con las normas establecidas, NC 27: 1999 y NC 1095: 2015

Calculo del crecimiento y productividad de la biomasa seleccionada lenteja de agua (*Lemna minor*) en el biofiltro

Para el cálculo del crecimiento y productividad de la biomasa seleccionada se utilizaron tres lagunas plásticas humedecidas con 50 mL de agua destilada, en las cuales se procederá a realizar tres variantes experimentales diferentes, las cuales se describen a continuación:

- 1^{ra} variante: agregar colonias de *lemna minor* (9,37 g) y 100 mL de efluente porcino colectado a la salida del biodigestor, posterior a su paso por el filtro secundario;
- 2^{da} variante: agregar colonias de *lemna minor* (9,37 g) y 200 mL de efluente porcino colectado a la salida del biodigestor, posterior a su paso por el filtro secundario;
- 3^{ra} variante: agregar colonias de *lemna minor* (9,37 g) y 300 mL de efluente porcino colectado a la salida del biodigestor, posterior a su paso por el filtro secundario.
- Control: agregar colonias de *lemna minor* (9,37 g) y 300 mL de agua común (captada de un pozo artesano).

En todas las variantes objeto de investigación, la carga contaminante inicial será diluida en la misma proporción (1:1) con agua común. Posteriormente para contrarrestar la evo transpiración natural de agua que se producirán en las piscinas plásticas, producto de la actividad fotosintética de las plantas de *lemna minor* se agregará cada semana 320 mL de agua de pozo en cada una de ellas; transcurridos un tiempo de residencia hidráulica de 21 días en los biofiltros, se colectaran las micro algas (*lemna minor*) y se pesaran en una balanza analítica Denver Instrument, modelo SI-234. Además se observará el área de proliferación de estas en las respectivas lagunas plásticas. Estas pruebas se realizaran en condiciones semi-controladas a nivel de laboratorio (local de laboratorio), donde se tiene previsto monitorear temperatura y presión ambiental diariamente. En cada una de las variantes experimentales a evaluar se realizaran las pruebas por triplicado.

Calculation of the Flow in Influent and Effluents

The calculation of effluents entrance flow for each biogas factory varies depending on the type of animal excrete used as substrate for the biodigesters work, of the number of available animals as well as of the biogas necessities to obtain in the installation. One of the methodologies for their determination is based on the calculation of volumetric flow. For that, it is necessary to know the volume of effluents delivered per unit of time (L/s).

Quantitative Production of Effluents Flow (Digestate) in the Pig Facility of UCLV

The practical determination of effluents flow in this study was carried out in the piggery farms belonging to "Marta Abreu" Central University of Las Villas. The possible effluents were calculated depending on the volumetric flow to be measured to the exit of the chutes of the two piggery farms in operation, which tribute them toward an oxidation pond they possess. For the above-mentioned, using a plastic test tube and a chronometer, the volumetric flow of the piggery farm effluents were determined by using the following expression 1.

$$Q = V/t, \text{ L/s.} \quad (1)$$

Where:

Q - Effluents expense, L/s;

V - Effluents volume measured in the test tube, L;

t - Time to fill the test tube, s.

Determination of the Characteristics of the Effluents Obtained in Each Biodigesters. Properties as Bio Stimulants

Three month-stagnant effluents were taken. These were evaluated with different degrees of dilution in water (50%, 75% and 90%). Next, 50 mL of the differently diluted effluent were poured into three 100 mL of capacity beakers and in each of these beakers 15 seeds of black beans (*Phaseolus vulgaris* L, variety BAT-304) registered seed with a well-known germination percent (80 % germination), were added. Beakers with their contents were left to rest during four hours under these conditions. Later on, these seeds soaked in the effluents in the respective magentas, to a reason of five seeds per magenta, were sowed. Three magentas by dilution (treatment) were used. Parallel to it, the same methodology was performed, but using common water for the absolute control. It was also proved with a standard control (constituted by three fertilized magentas) with nitrogen, phosphorus and potassium (N, P, K), in equivalent dose to the one utilized at production level (600 kg/ha). A complete formula of N-P-K (8-24-16) was used. The utilized magentas for the seed had 400 g of soil capacity, previously humidified with a field capacity of 80% of humidity. Finally, the magentas were placed under semi-controlled conditions where they received natural illumination. The variables of pressure and room temperature were monitored. After two weeks, the germination

Cálculo del flujo o caudal de afluentes y efluentes

El cálculo del caudal de entrada de efluentes para cada instalación de biogás varía en dependencia del tipo de excretas de animal utilizadas como sustrato para el trabajo del biodigestor; del número de animales disponibles; así como de las necesidades de biogás a obtener en la instalación. Una de las metodologías para su determinación se basa en el cálculo del flujo a caudal volumétrico. Para lo cual es necesario conocer el volumen de los efluentes que se entrega en la unidad de tiempo (L/s).

Producción cuantitativa del flujo de efluentes (digestato) en el plantel porcino de la UCLV

La determinación práctica del flujo de los efluentes en este estudio, se realizara en el plantel porcino de la Universidad Central "Marta Abreu" de las Villas. Se calculara los posibles efluentes en dependencia del flujo volumétrico a medir a la salida de las canaletas de las dos naves en explotación, las cuales tributan estos hacia una laguna de oxidación que posee el plantel porcino. Para lo anterior, apoyados con una probeta plástica y un cronometro, se determinara el flujo volumétrico de los efluentes del plantel porcino. Mediante la expresión (1).

$$Q = V/t, \text{ L/s} \quad (1)$$

donde:

Q- gasto de efluentes, L/s;

V- volumen de efluentes medidos en la probeta, L;

t- tiempo de llenado de la probeta, s.

Determinación de las características de los efluentes obtenidos en cada biodigestor. Propiedades como bioestimulantes

Se toman los efluentes pacificados durante tres meses. Estos serán evaluados con diferentes grados de dilución en agua (50%, 75% y 90%). A continuación se vierten 50 mL del efluente con el grado de dilución objeto de investigación en tres beaker de 100 mL de capacidad y en cada uno de estos beaker se añaden 15 semillas de frijol negro (*Phaseola vulgaris* L, variedad BAT-304) semilla registrada con un porcentaje de germinación conocido (80% de germinación), dejándose reposar durante cuatro horas en estas condiciones. Posteriormente serán sembradas estas semillas imbuidas en los efluentes en las respectivas magentas a razón de 5 semillas por magenta, serán utilizadas un total de 3 magentas por dilución (tratamiento). Paralelo a ello, se ejecuta la misma metodología pero utilizando agua común para el control absoluto, también se probara con un control estándar (constituido por 3 magentas fertilizadas) con nitrógeno, fosforo y potasio (N, P, K), en dosis equivalentes a las utilizadas a nivel de producción (600 kg/ha). Se utilizara una formula completa de N-P-K (8-24-16). Las magentas utilizadas para la siembra tienen 400 g de capacidad de suelo enraizado, previamente humedecido con una capacidad de campo de 80% de humedad. Finalmente se colocaran las magentas en condiciones semi-controladas donde recibirán iluminación natural, serán monitoreadas las variables de presión y temperatura ambiente. Al cabo de dos semanas se determinará

percent was determined in the valued treatments and in the controls according to the investigated degree of dilution.

Microbiologic Analysis of Soil

The effect of the studied effluents on the microbiology of the soil was determined. On that purpose, 1g soil samples (brown with carbonate) were taken from each of the valued magentas in their different treatments. Later on, soil microbiology tests (mushrooms, bacteria and actinomycetes) were carried out, three replicas were investigated per treatment. For the above-mentioned, the protocols and procedures established in specialized laboratory, according to Mayea *et al.* (2004), were carried out.

Statistical Analysis

For statistical analyses of the investigation results, 8.0. Statgraphics professional statistical package was used.

RESULTS AND DISCUSSION

Diagnosis Results of the Current State of Anaerobic Biodigesters with Different Technologies Installed to Small Scale

The results of the diagnosis of the biodigesters sample valued showed that they are only used for cooking, two of them present a regular constructive state and only in one of them, a secondary filtrate is carried out; however, none of these has a tertiary filtrate of the effluents (digestate). These results coincide with that reported by Sosa (2015). See Table 2.

el por ciento de germinación en los tratamientos evaluados y en los controles de acuerdo al grado de dilución investigado.

Análisis microbiológico del suelo

Se determinó el efecto que provoca sobre la microbiología del suelo, de los efluentes objeto de investigación. Para ello, se tomaron muestras de suelo (pardos con carbonato) en cada una de las magentas evaluadas (1g) en sus diferentes tratamientos, posteriormente se realizaron pruebas microbiológicas de suelo (hongos, bacterias y actinomicetos), fueron investigadas tres réplicas por tratamiento. Para lo anterior, se siguieron los protocolos y procedimientos establecidos en laboratorio especializado para tales efectos de acuerdo con Mayea *et al.* (2004).

Análisis estadístico

Para los análisis estadísticos de los resultados de las investigaciones se procederá a utilizar el paquete estadístico profesional Statistica, 8.0 (StatSoft, 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados del diagnóstico del estado actual de biodigestores anaerobios de diferentes tecnologías instalados a pequeña escala

Los resultados del diagnóstico de las instalaciones evaluadas muestra que estas solo se utilizan para la cocción, de ellas 2 presentan un estado constructivo regular y solo en una de ellas se realiza un filtrado secundario, sin embargo en ninguna de estas existe un filtrado terciario de los efluentes (digestatos). Estos resultados coinciden con lo reportado por (Sosa, 2015). Tabla 2.

TABLE 2. Qualitative Analysis of Each Biodigesters
TABLA 2. Análisis cualitativo de cada biodigestor

Biodigestor Operator	Technology Type	Substrate	Constructive condition of the plant	Biogas End Use	Other observations
CPA "13 de Marzo"	Fixed dome	Pig manure	Good	Food cooking	The effluents (digestate) are filtered (secondary and tertiary) to an oxidation pond
Jorge Toboso	Fixed dome	Pig manure	Regular	Food cooking	The effluents (digestate) are spill to an oxidation pond
Ángel Domínguez	Fixed dome	Pig manure	Regular	Food cooking	The effluents (digestate) are spill to an oxidation pond

Results of the Chemical and Microbiological Characterization of the Influent and Effluents of the Biodigesters

Results of pH Values in the Influent and the Effluents

The results of pH in the influents (7.52-8.34) and the effluents (8.07-8.56) coincide with the results obtained by other investigators (Negrin & Jiménez, 2012) and they are in the established range for this substrates type (pig manure). See Table 3.

Resultados de la caracterización química y microbiológica de los afluentes y efluentes de los biodigestores objeto de estudio

Resultados de la determinación del pH en los afluentes y los efluentes

Los resultados del pH en los afluentes (7,52-8,34) y los efluentes (8,07-8,56), coinciden con los resultados obtenidos por otros investigadores (Negrin y Jiménez, 2012) y están en el rango establecido para este tipo de sustrato (excreta porcina). Tabla 3.

TABLE 3. pH Analysis of Influent and Effluents
TABLA 3. Análisis pH afluente y efluentes

Biodigester	pH Values		Biomass
	Influent	Effluents	
Jorge Toboso	8,3	8,9	Pig manure
CPA "13 de Marzo"	7,52	8,07	Pig manure
Ariel Dominguez	7,77	8,56	Pig manure

Results of the Microbial Pathogen Load in Influent and Effluents

The results of the microbial load (total coliforms, thermo tolerant coliforms and *Pseudomonas aeruginosas*) at the inlet and exit of the analyzed biodigesters (primary filtrate), show low contamination, below that specified in the Cuban norm, which is in contradiction with previous scientific works made by Sosa (2015) and Martinez *et al.* (2014). See Table 4.

The obtained results to the exit of the secondary and tertiary filters showed that this system is able to lower more the polluting load until values very below the permissible limits fixed by Cuban norm. However, in the biodigesters located in Ariel Domínguez's farm, there is a contradiction when the effluents (digestate), in total coliforms and in thermo tolerant coliforms, leave more polluted than when they enter, which is not common in this type of installation. Nevertheless, in the other two biodigesters ("Jorge Toboso" and "13 de Marzo"), this phenomenon is not presented and it can be affirmed that the bio filters, show the effectiveness of the system and it allows to predict its positive effect, of being used in our biogas facilities. The load of 100 mL, it could not be evaluated by reagent lacks in the laboratory. See Table 5.

Results of the Growth and Productivity of the Biomass Selected Lentil of Water (*Lemna minor*) in the Bio Filter

The results referred to the growth and productivity of the biomass selected as sanitary bio filter (*Lemna minor*) showed that they are unable to grow and reproduce under these severe conditions of contamination. They were loads of 100, 200 and 300 mL of effluents diluted in proportion 1:1 with water in the experimental pool, in which, a maximum of 600 mL (effluent + water) was managed as active volume. This result can be caused by factors like water in the pool does not circulate, the investigated polluting loads are very severe with relationship to the quantity of *Lemna minor* evaluated (9.37 g), the photosensitivity of *Lemna minor* is very high, which makes that, in occasions, the pools keep very little water, propitiating cells and plant tissue senescence or death. Maybe these plants need a more diluted polluting load. There was also lack of an electro-mechanical system of air feeding (oxygenation). Future works should evaluate these queries.

Resultados de la determinación de la carga microbiana patógena en los afluentes y los efluentes

Los resultados de la carga microbiana (coliformes totales, coliformes termo tolerantes y pseudomonas aeruginosas) a la entrada y salida de los biodigestores analizados (filtrado primario), muestra una baja contaminación, por debajo de lo estipulado en la norma cubana, lo cual está en contradicción con trabajos anteriores efectuados por Martínez *et al.* (2014) y Sosa (2015). Tabla 4.

En el caso de los resultados obtenidos a la salida de los filtros secundarios y terciarios mostró que este sistema es capaz de bajar en mayor medida la carga contaminante hasta valores muy por debajo de los límites permisibles que fija la norma cubana, sin embargo en el biodigestor ubicado en la finca de Ariel Domínguez, se presenta una contradicción cuando los efluentes (digestato) tanto en los coliformes totales como en los coliformes termo tolerantes salen más contaminados que cuando entran, lo cual no es común en este tipo de instalación. Sin embargo, en los otros dos biodigestores (Jorge Toboso y 13 de Marzo), este fenómeno no se presenta y se puede afirmar que el biofiltro, muestra la efectividad del sistema y permite predecir su efecto positivo, de ser utilizado en nuestras instalaciones de biogás. La carga de 100 mL, no pudo ser evaluada por carencias de reactivo en el laboratorio. Tabla 5.

Resultados del crecimiento y productividad de la biomasa seleccionada lenteja de agua (*Lemna minor*) en el biofiltro

Los resultados referidos al crecimiento y productividad de la biomasa seleccionado como biofiltro sanitario (*Lemna minor*), mostraron que las mismas son incapaces de crecer y reproducirse bajo estas condiciones severas de contaminación (cargas de 100, 200 y 300 mL) de efluentes diluidos en proporción 1:1 con agua, en las piscinas experimentales en las cuales se manejaron como volumen activo un máximo de 600 mL (efluente + agua). Este resultado puede estar motivado por los siguientes factores: el agua en las piscina no circula; las cargas contaminantes investigadas son muy severas con relación a la cantidad de *Lemna minor* (9,37 g) evaluada; la actividad fotosintética de la *Lemna minor* es muy elevada, lo cual hace que en ocasiones las piscinas se queden con muy poca agua, propiciando que las células y tejidos de la planta necrosen y se produzca la senescencia de las misma; quizás estas plantas necesiten que la carga contaminante tenga una mayor grado de dilución en agua; carencia de un sistema electro-mecánico de alimentación de aire (oxigenación). Estas interrogantes tendrán que ser evaluadas en próximos trabajos.

Results of the Quantitative Production of the Effluents Flow (Digestate) in the Pig Facility at UCLV

The obtained results from expression 1 were 0.018 L/s of effluents for 24 pigs (3 reproducers and 21 feed). That mensuration was carried out outside of the cleaning time of the installation. That indicator does not show the effective quantity of effluents going to the oxidation pond. For these calculations, the quantity and duration of the actual daily cleanings should be kept in mind. These results are lightly in contradiction with those outlined by Martinez (2015), which state that the flow of water used in the cleaning of pig facilities is in the order of 0.0019 L/s as average.

Results of the Properties of the Effluents like Bio Stimulating

The results referred to the use of the effluents (digestate) as bio stimulating (biofertilizers) show that the pig effluents pacified during three months and diluted in 90% with water, reach the biggest germination percent (80%). These results are above the ones reached with the dilutions of 50% and 75% in all the valued treatments, as well as with regard to the absolute and standard controls, respectively. Similar results using cattle bio solids (caw effluents) coming from biodigesters have been reached by Negrin & Jimenez (2012). See Table 6.

Resultados de la producción cuantitativa del flujo de efluentes (digestato) en el plantel porcino de la UCLV

Una vez determinado los cálculos por la expresión (1). Los resultados obtenidos fueron 0,018 l/s de efluentes para una cantidad de cerdos de 24 (tres reproductoras y 21 ceba). Se debe destacar que esta medición se realizó fuera del horario de limpieza de la instalación. Por tal motivo es un indicador que no muestra la cantidad efectiva de efluentes que se dirigen a la laguna de oxidación. Para estos cálculos se debe tener en cuenta: la cantidad y duración de las limpiezas efectuadas diariamente. Estos resultados están ligeramente en contradicción con los planteados por Martínez (2015), donde se plantea que el flujo de agua utilizado en la limpieza de instalaciones porcinas está en el orden de los 0,0019 l/s como promedio.

Resultados de las propiedades de los efluentes como bioestimulantes

Los resultados referidos a la utilización de los efluentes (digestatos) como bioestimulantes (biofertilizantes) muestran que los efluentes porcinos pacificados durante tres meses y diluidos en 90% con agua, alcanzan los mayores porcentos de germinación (80%), estando por encima de los resultados alcanzados con las diluciones de 50% y 75% en todos los tratamientos evaluados; así como con respecto a los controles absoluto y estándar respectivamente. Resultados semejantes utilizando biosólidos pecuarios (efluentes vacunos) procedentes de biodigestores han sido alcanzados por Negrin y Jiménez (2012). Tabla 6.

TABLE 4. Microbiologic Analysis of Influent and Effluents to Exit of the Biodigesters Analyzed
TABLA 4. Análisis microbiológico de los afluentes y efluentes a la salida del biodigestor analizado

Biodigesters	Biomass	Total Coliforms (NMP/100 mL)		Thermo Tolerant Coliforms(NMP/100 mL)		Pseudomonas areuginosas (NMP/100 mL)			NC-27.1999	
		Influents	Effluents	Influents	Effluents	Influents	Effluents	Effluents	Effluents	Effluents
Jorge Toboso	Pig manure	79	17	4.5	<1.8	<1.8	<1.8	< 1000	< 200	< 1 600
CPA"131 Marzo"	Pig manure	11	7.8	<1.8	<1.8	<1.8	<1.8	< 1000	< 200	< 1 600
Ariel Domínguez	Pig manure	49	7.8	2.0	<1.8	<1.8	<1.8	< 1000	< 200	< 1 600

TABLE 5. Microbiologic Analysis of the Effluents with Different Pollutants Loads and After Its Pass Through the Bio Filter
TABLA 5. Análisis microbiológico de los efluentes con diferentes cargas contaminantes y posterior a su paso por el biofiltro

Biodigesters	Biomass	Total Coliforms (NMP/100 mL)		Thermo Tolerant Coliforms (NMP/100 mL)		Pseudomonas areuginosas (NMP/100 mL)			NC-27.1999	
		Influents	Effluents	Influents	Effluents	Influents	Effluents	Effluents	Effluents	Effluents
Jorge Toboso	Pig manure (80 m L)	79	6,8	4.5	<1.8	<1.8	<1.8	< 1000	< 200	< 1 600
CPA"131 Marzo"	Pig manure (80 m L)	11	8	<1.8	2	<1.8	<1.8	< 1000	< 200	< 1 600

Biodigesters	Biomass	Total Coliforms (NMP/100 mL)		Thermo Tolerant Coliforms (NMP/100 mL)		Pseudomonas areuginosas (NMP/100 mL)		NC-27. 1999		
		Influents	Effluents	Influents	Effluents	Influents	Effluents	Effluents	Effluents	Effluents
Ariel Domínguez	Pig manure (90 mL)	49	280	2.0	23	<1.8	<1.8	< 1000	< 200	< 1 600
Jorge Toboso	Pig manure (200 mL)	79	15	4.5	15	<1.8	ne	< 1000	< 200	< 1 600
CPA "13 de Marzo"	Pig manure (200 mL)	11	26	<1.8	26	<1.8	ne	< 1000	< 200	< 1 600
Ariel Domínguez	Pig manure (200 mL)	49	350	2.0	350	<1.8	ne	< 1000	< 200	< 1 600
Jorge Toboso	Pig manure (100 mL)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	< 1000	< 200	< 1 600
CPA "13 de Marzo"	Pig manure (100 mL)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	< 1000	< 200	< 1 600
Ariel Domínguez	Pig manure (100 mL)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	< 1000	< 200	< 1 600

ne- not evaluated

TABLE 6. Effluents Germination Analysis
 TABLA 6. Análisis del porcentaje de germinación con diferentes grados de dilución del efluente

Treatment (biodigesters)	Biomass	Effluents Diluted to 50%.			Effluents Diluted to 75%.			Effluents diluted to 90%.		
		Germination Percent (%)	Absolute Control (%)	Standard Control (%)	Germination Percent (%)	Absolute Control (%)	Standard Control (%)	Germination percent (%)	Absolute control (%)	Standard control (%)
Jorge Toboso	Pig manure	40	66,66	53	53	100	53	53	80	73
CPA "13 de Marzo"	Pig manure	3	66,66	53	66,66	100	53	100	80	73
Ariel Domínguez	Pig manure	3	66,66	53	40	100	53	100	80	73

Results with Regard to the Polluting Load (DQO) of the Valued Substrates

The results related with the polluting load to the exit of the biodigesters (primary filtrate), show that the polluting load (DQO) behaves below the norm only in the case of the biodigester installed in the property of Jorge Toboso (607,72 mg O₂/L), being in the other two cases, above the Cuban norm (NC-27: 1999). See Table 7.

Resultados con respecto a la carga contaminante (DQO) de los sustratos evaluados

Los resultados relacionados con la carga contaminante a la salida del biodigester (filtrado primario), muestran que la carga contaminante (DQO), solo se comporta por debajo de la norma en el caso del biodigester instalado en la finca de "Jorge Toboso" (607,72 mgO₂/L), estando en los otros dos casos por encima de la norma cubana NC 27: 1999. Tabla 7.

TABLE 7. Pollutants Loads (DQO) of the Valued Substrates to Inlet and Exit the Biodigesters
 TABLA 7. Carga contaminantes (DQO) de los sustratos evaluados a la entrada y salida el biodigester

Biodigesters	DQO (mgO ₂ /L)		DQO (mgO ₂ /L). N.C.27:1999
	Influents	Effluents	Effluents
Jorge Toboso	543,72	607,72	<700
CPA "13 de Marzo"	88,64	15653,60	<700
Ariel Domínguez	653,68	169,02	<700

The results referred to the high discharge pollutant load of the effluents (digestate) to the exit of the biodigesters coincide with other results obtained by other authors like Espinosa (2013) and Osa (2015).

The results related with the polluting load (DQO) of the valued substrates before different loads and later to the tertiary filtrate (bio filter) are presented in Table 8. There, it can be appreciated that, in the cases of flows of load between 300 mL and 200 mL, only in the case of the biodigester located in the CPA "13 de Marzo", this indicator is above that specified by the Cuban norm (NC-27: 1999). That shows that the bio filter using aquatic plants, such as *Lemna minor*, is a good solution for the decontamination of the effluents (digestate) coming from anaerobic biodigesters, since this system is able to achieve percentages of polluting load (DQO) removal in a range from 8% to 69%. The load of 100 mL could not be evaluated due to the reagent lacks in the laboratory.

Results with Regard to the Microbiologic Analysis of the Soil

In Table 9, the results obtained in the microbiologic analysis of the soil are appreciated. There mushrooms, bacteria and actinomycetes were object of investigation. Of the analysis of Table 3.9 it can be appreciated that in treatment 2 (Jorge Toboso), the maxima values of the present mushrooms appeared at 48 hours (21×10^5). However, at 72 hours, the biggest values ($22,33 \times 10^5$) are presented in treatment 4 ("13 de Marzo"). In the case of bacteria, the results show that, in the standard control, the biggest values ($1,33 \times 10^9$) are observed at 48 hours, decreasing that behavior at 72 hours.

With regard to the actinomycetes, the biggest values (41×10^5) are presented in treatment 6 (Ariel Domínguez), 10 days later, which shows a great variability in the behavior of the different treatments (2, 4 and 6) referred to the impact of effluents in the soil, related to the population of mushrooms, bacteria and actinomycetes. These results are preliminary and they can be useful for future investigations that demonstrate if these factors can cause an increment or decrement of soil fertility. On the other hand, it is well-known that the biggest constituents in the bio solids are represented by the oxidizable organic matter (MO), calcium (Ca), nitrogen (N) and phosphorous (P), conditioned by the high organic loads present in pig and cattle excretes mainly, related with the alimentary base of these species. (Negrin & Jiménez, 2012).

Results of the Statistical Analysis

The data of the germination percent obtained for different degrees of effluents dilution (digestate) for analyzed biodigesters, once transformed to \sin^{-1} of the square root of the proportion show that the effect that more impacts on it, is the degree of dilution. That can be appreciated in Table 10. Of the valued treatments, the best results are obtained in the case of treatments 4 (13 de Marzo) and 6 (Ariel Domínguez)

Los resultados referidos a la alta carga contaminante de los efluentes (digestato) a la salida de los biodigestores coinciden con otros resultados obtenidos por otros autores como Espinosa (2013) y Osa (2015).

Los resultados relacionados con la carga contaminante (DQO) de los sustratos evaluados ante diferentes cargas y posterior al filtrado terciario (biofiltro). Se presentan en la Tabla 8, de la misma se puede apreciar que en los casos de flujos de carga del orden de los 300 mL y 200 mL, solo en el caso del biodigester ubicado en la CPA "13 de Marzo", este indicador está por encima de lo estipulado por la norma cubana NC 27: 1999. Lo cual muestra que el biofiltro utilizando plantas acuáticas, tales como es el caso de la (*Lemna minor*) es una buena solución para la descontaminación de los efluentes (digestatos) procedentes de biodigestores anaerobios, ya que este sistema es capaz de lograr porcentos de remoción de la carga contaminante (DQO) en un rango de 8% hasta 69%. La carga de 100 mL, no pudo ser evaluada por carencias de reactivo en el laboratorio.

Resultados con respecto al análisis microbiológico del suelo

En la Tabla 9 se aprecian los resultados obtenidos en el análisis microbiológico del suelo, fueron objeto de investigación, hongos, bacterias y actinomicetos. Del análisis de la Tabla 9 se puede apreciar que en el tratamiento 2 (Jorge Toboso), se presentan los máximos valores de hongos presentes, a las 48 horas (21×10^5), sin embargo a las 72 horas, los mayores valores ($22,33 \times 10^5$), se presentan en el tratamiento 4 (13 de Marzo). En el caso de las bacterias, los resultados muestran que en el control estándar se observan los mayores valores ($1,33 \times 10^9$) a las 48 horas, reduciéndose ese comportamiento a las 72 horas.

Con respecto a los actinomicetos, los mayores valores (41×10^5) se presentan en el tratamiento 6 (Ariel Domínguez), a los 10 días de realizado, lo cual muestra una gran variabilidad en el comportamiento de los diferentes tratamientos (2, 4 y 6) referidos al impacto que provocan los efluentes en el suelo, relativo a la población de hongos, bacterias y actinomicetos. Estos resultados son preliminares y pueden servir para investigaciones futuras, donde se demuestre si estos factores pueden provocar un incremento o decremento de la fertilidad del suelo. Por otra parte, es conocido que los mayores constituyentes de los biosólidos están representados por la materia orgánica oxidable (MO), el calcio (Ca), el nitrógeno (N) y el fósforo (P), condicionado por la alta carga orgánica presente en las excretas del ganado porcino y vacuno principalmente, en relación con la base alimentaria de estas especies (Negrin y Jiménez, 2012).

Resultados del análisis estadístico

Los datos del porcentaje de germinación obtenidos para diferentes grados de dilución de los efluentes (digestatos) por biodigester analizado, una vez transformados a \sin^{-1} de la raíz cuadrada de la proporción muestran que el efecto que más incide en la misma, es el grado de dilución. Esto se puede apreciar en la Tabla 10 También se debe destacar que de los tratamientos evaluados, los mejores resultados se obtienen en el caso de los

for dilutions of 90%, finding significant differences with the other treatments, except with regard to the absolute control (CABS) dilute to 50%. This can be appreciated in Table 10 (Duncan test) and 11 (Means values of Arcosin SQRT (proportion)).

tratamientos 4 (13 de Marzo) y 6 (Ariel Domínguez) para diluciones del 90%, encontrándose diferencias significativas con los demás tratamientos, excepto con respecto al control absoluto (CABS) diluido al 50%. Esto se puede apreciar en las Tablas 10 (Duncan test) y 11 (Medias del Arcoseno SQRT (proporción)).

TABLE 8. Substrates DQO before Different Loads and After the Tertiary Filtrate (Bio Filter)
TABLA 8. (DQO) de los sustratos evaluados ante diferentes cargas y posterior al filtrado terciario (biofiltro)

Biodigesters	Biomass	ST (%)		oTS (%)		DQO (mgO ₂ /L)		DQO (mgO ₂ /L). N.C.27:1999
		Influents	Effluents	Influents	Effluents	Influents	Effluents	Effluents
Jorge Toboso	Pig manure (80 m L)	1,59	0,24	47,53	84,94	607,72	42,36	<700
CPA"13 de Marzo"	Porcino (80 mL)	3,3	6,77	66,48	56,76	1565,30	1565,36	<700
Ariel Dominguez	Pig manure (80 m L)	3,5	0,53	71,08	52,71	169,02	681,9	<700
Jorge Toboso	Pig manure (200 mL)	1,59	0,24	47,53	84,94	2012,4	280,8	<700
CPA"13 de Marzo"	Pig manure (200 mL)	3,3	6,77	66,48	56,76	19188	1544,4	<700
Ariel Dominguez	Pig manure (200 mL)	3,5	0,53	71,08	52,71	4258,8	967,2	<700
Jorge Toboso	Pig manure (100 mL)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	
CPA"13 de Marzo"	Pig manure (100 mL)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	
Ariel Dominguez	Pig manure (100 mL)	ne	ne	ne	ne	ne	ne	

ne- not evaluated

TABLE 9. Microbiologic Soil Analysis
TABLA 9. Análisis microbiológico de suelo

Treatment	Mushrooms (48 h) x10 ⁵ (mean values)	Mushrooms (72 h) x10 ⁵ (mean values)	Bacterium (48 h) x10 ⁹ (mean values)	Bacterium (72 h) x10 ⁹ (mean values)	Actinomycetes (10 días) x10 ⁵ (mean values)
Jorge Toboso	21	7,3	1	0,66	29,66
CPA"13 de Marzo"	7,3	22,33	1	0,66	40,3
Ariel Dominguez	9,3	6,3	1	0,66	41
Absolute Control	12,3	1,3	0,3	0,66	3,66
Stand rd Control	17	12,3	1,3	0,3	3,3

TABLE 10. Duncan Test
 TABLA 10. Duncan test

Cell No.	Dilución (%)	Tratamientos	Arcsen.SQRT (proporción) Mean	1	2	3	4
7	75	T4	35.00936	****			
8	75	T6	35.00936	****			
3	50	T6	39.23152	****	****		
6	75	T2	39.23152	****	****		
1	50	T2	46.92283	****	****	****	
5	50	CSTD	47.29933	****	****	****	
11	90	T2	47.29933	****	****	****	
10	75	CSTD	47.29933	****	****	****	
9	75	CABS	55.36714	****	****	****	
2	50	T4	58.08694	****	****		
15	90	CSTD	59.21279	****	****		
14	90	CABS	66.15475			****	****
13	90	T6	84.26083				****
12	90	T4	84.26083				****
4	50	CABS	84.26083				****

TABLE 11. Mean Values of Arcosin SQRT (proportion)
 TABLA 11. Medias del Arcoseno SQRT (proporción)

Cell No.	Dilución (%)	Tratamientos	Arcsen.SQRT (proporción) Mean	Arcsen.SQRT (proporción) Std.Err.	Arcsen.SQRT (proporción) -95.00%	Arcsen.SQRT (proporción) +95.00%	N
1	50	T2	46.92283	6.357748	33.93857	59.90708	3
2	50	T4	58.08694	6.357748	45.10269	71.07120	3
3	50	T6	39.23152	6.357748	26.24727	52.21577	3
4	50	CABS	84.26083	6.357748	71.27658	97.24508	3
5	50	CSTD	47.29933	6.357748	34.31508	60.28358	3
6	75	T2	39.23152	6.357748	26.24727	52.21577	3
7	75	T4	35.00936	6.357748	22.02511	47.99362	3
8	75	T6	35.00936	6.357748	22.02511	47.99362	3
9	75	CABS	55.36714	6.357748	42.38289	68.35139	3
10	75	CSTD	47.29933	6.357748	34.31508	60.28358	3
11	90	T2	47.29933	6.357748	34.31508	60.28358	3
12	90	T4	84.26083	6.357748	71.27658	97.24508	3
13	90	T6	84.26083	6.357748	71.27658	97.24508	3
14	90	CABS	66.15475	6.357748	53.17050	79.13901	3
15	90	CSTD	59.21279	6.357748	46.22854	72.19705	3

Std.Error= 6,35

CONCLUSIONS

- In the analyzed biodigesters the microbial load (total coliforms, thermo tolerant coliforms and *Pseudomonas aeruginosas*) to the inlet and exit of the analyzed biodigesters (primary filtrate), shows a low contamination, below that

CONCLUSIONES

- En los biodigestores analizados la carga microbiana (coliformes totales, coliformes termo tolerantes y pseudomonas aeruginosas) a la entrada y salida de los biodigestores analizados (filtrado primario), muestra una baja contaminación,

specified in the Cuban norm, which is in contradiction with previous works made by Sosa (2015) and Martínez et al. (2014).

- The obtained results to the exit of the secondary and tertiary filters show that this system is able to reduce the polluting load values very below the permissible limits established by the Cuban norm (NC-27: 1999).
- The results referred to the growth and productivity of the biomass selected as sanitary bio filter (*Lemna minor*), showed that they are unable to grow and reproduce under these severe conditions of contamination (load of 100, 200 and 300 mL of effluents diluted in proportion 1:1 with water).
- The results referred to the use of effluents (digestate) as bio stimulant (bio fertilizers) show that pig effluents pacified during three months and diluted in 90% with water, reach the biggest germination percent (80%). It is above the results reached with the dilutions of 50% and 75% in all the valued treatments, with regard to the absolute and standard controls, respectively.
- The bio filter using aquatic plants, such as *Lemna minor* is a good solution for the decontamination of the effluents (digestate) coming from anaerobic biodigester, since this system is able to achieve percent of polluting load (DQO) removal in a range from 8% to 69%.
- Soil microbiologic analysis results, showed a great variability in the behavior of the different treatments (2, 4 and 6) referred to the impact of effluents on the soil, relative to the population of mushrooms, bacteria and actinomycetes. These results are preliminary and they can be good for future investigations, that demonstrate if these factors can cause an increment or decrement of soil fertility.

por debajo de lo estipulado en la norma cubana, lo cual está en contradicción con trabajos anteriores efectuados por (Sosa, 2015) y (Martínez *et al.*, 2014).

- Los resultados obtenidos a la salida de los filtros secundarios y terciarios muestran que este sistema es capaz de bajar en mayor medida la carga contaminante hasta valores muy por debajo de los límites permisibles que fija la norma cubana (NC-27: 1999).
- Los resultados referidos al crecimiento y productividad de la biomasa seleccionado como biofiltro sanitario (*Lemna minor*), mostraron que las mismas son incapaces de crecer y reproducirse bajo estas condiciones severas de contaminación (cargas de 100, 200 y 300 mL) de efluentes diluidos en proporción 1:1 con agua.
- Los resultados referidos a la utilización de los efluentes (digestatos) como bioestimulantes (biofertilizantes) muestran que los efluentes porcinos pacificados durante tres meses y diluidos en 90% con agua, alcanzan los mayores porcentos de germinación (80%), estando por encima de los resultados alcanzados con las diluciones de 50% y 75% en todos los tratamientos evaluados; así como con respecto a los controles absoluto y estándar respectivamente.
- El biofiltro utilizando plantas acuáticas, tales como es el caso de la (*Lemna minor*) es una buena solución para la descontaminación de los efluentes (digestatos) procedentes de biodigestores anaerobios, ya que este sistema es capaz de lograr porcentos de remoción de la carga contaminante (DQO) en un rango de 8% hasta 69%.
- Los resultados referidos al análisis microbiológico del suelo, mostró una gran variabilidad en el comportamiento de los diferentes tratamientos (2, 4 y 6) referidos al impacto que provocan los efluentes en el suelo, relativo a la población de hongos, bacterias y actinomicetos. Estos resultados son preliminares y pueden servir para investigaciones futuras, donde se demuestre si estos factores pueden provocar un incremento o decremento de la fertilidad del suelo.

REFERENCIAS / REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARENAS, A.D.; LUÉ-MERÚ, M.; TORRES, G.: "Evaluación de la planta *Lemna minor* como biorremediadora de aguas contaminadas con mercurio", *Avances en Ciencias e Ingeniería*, 2(3): 1-11, 2011, ISSN: 0718-8706.
- BARBA, L.E.: *Fito remediación en el tratamiento de aguas residuales con metales pesados*, [en línea], Ed. Universidad del Valle, Cali, Colombia, 16 p., 2002, Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaar/e/fulltext/gestion/fitore.pdf>, [Consulta: 20 de enero de 2016].
- CLESCERI, L.S.; GREENBERG, A.E.; EATON, A.D.; FRANSON, M.A.H. (eds.): *Standard methods for the examination of water and wastewater*, [en línea], Ed. American Public Health Association - American Water Works Association - Water Environment Federation, USA, 19 p., 1999, ISBN: 0-87553-235-7, Disponible en: https://www.mwa.co.th/download/file_upload/SMWW_10900end.pdf, [Consulta: 26 de septiembre de 2016].
- ESCALANTE, V.E.; PAAT, J. de los A.: *Tratamiento de efluentes de una granja porcícola en el estado de Campeche*, [en línea], Ed. Universidad Autónoma de Campeche, Morelos, México, 6 p., 2002, Disponible en: <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/mexico26/ii-034.pdf>, [Consulta: 20 de enero de 2016].
- ESPEJO, C.; GARCÍA, R.: "Tratamiento de purines de ganado porcino en España para minimizar la contaminación de suelos y su impacto ambiental", [en línea], En: *Congreso Internacional sobre Desertificación «ICOD 2009»*, Ed. Universidad de Murcia, Murcia, España, pp. 673-676, 2010, Disponible en: <http://congresos.um.es/icod/icod2009/paper/view/5391/5181>, [Consulta: 20 de enero de 2016].
- ESPINOSA, N.: *Evaluación integral de la producción de biogás en la finca agropecuaria «San Antonio»*, Universidad Central de Las Villas «Marta Abreu», Trabajo de Diploma, Villa Clara, Cuba, 123 p., 2013.
- FIGUEROA, Y.V.; CRIOLLOS, C.Y.C.D.C.; DIÉGUEZ, S.F.; PÉREZ, J.L.E.I.; DEL TORO, P.Y.; ARIAS, T.; MORALES, F.D.Y.G.; PINEDA, A.; DEL RÍO, J.; PÉREZ, R.C.Y.A.: "El Instituto De Investigaciones Porcinas, Su Aporte A La Porcicultura Cubana Y Los Nuevos Desafíos Para El Futuro. Vilda Figueroa. Efecto De La Sustitución Del Maíz Por Miel Rica De Caña De Azúcar En El Balance De Energía Y Nitrógeno De Cerdos En Crecimiento. Carmen María Mederos", *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 1(1): 67, 1994, ISSN: 1026-9053.

- MARTÍNEZ, C.; MARAÑÓN, E.; CUPULL, R.; DELGADO, V.: "Studies at the biogas plant called «Niña Bonita»", En: *VI Edición de la Conferencia Científica Internacional sobre Desarrollo Agropecuario y Sostenibilidad «Agrocentro 2014»*, Ed. Universidad Central de Las Villas «Marta Abreu», Villa Clara, Cuba, p. 8, 2014, ISBN: 978-959-250-973-3.
- MARTÍNEZ, C.M.: *Instalaciones y equipos especializados en la producción avícola y porcina. En su: Instalaciones agropecuarias. Fundamentos y elementos de cálculo*, Ed. Félix Varela, La Habana, Cuba, 360 p., 2015, ISBN: 978-959-250-643-5.
- MAYEA, S.; NOVO, R.; BOADA, I.; SILVEIRA, E.; SORIA, M.; MORALES, Y.; VALIÑO, A.: *Microbiología agrícola*, Ed. Félix Varela, La Habana, Cuba, 284 p., 2004, ISBN: 959-258-749-3.
- NEGRIN, B.A.; JIMÉNEZ, P.Y.: "Evaluación del efecto agronómico del biosólido procedente de una planta de tratamiento por digestión anaerobia de residuales pecuarios en el cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L)", *Cultivos Tropicales*, 33(2): 13-19, junio de 2012, ISSN: 0258-5936.
- OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN: *Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y al alcantarillado. Especificaciones*, no. NC 27, La Habana, Cuba, p. 11, 1999.
- OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN: *Microbiología del agua. Detección y enumeración de coliformes. Técnicas del número más probable (NMP)*, no. NC 1095, La Habana, Cuba, p. 23, 2015.
- SOSA, C.M.: *Parámetros de control y monitoreo del proceso en digestores anaerobios de pequeña escala y diferentes tecnologías*, Universidad Central de Las Villas «Marta Abreu», Trabajo de Diploma, Santa Clara, Cuba, 80 p., 2015.
- STATSOFT: *STATISTICA (data analysis software system)*, [en línea], (Versión 8.0), [Windows], Ed. StatSoft, Inc., US, 2007, Disponible en: http://www.advanceduninstaller.com/STATISTICA-8_0_725_0-CS-8f88bacd1d2fadeea33a8c7bb4efc714-application.htm.

Received: 30/01/2017.

Approved: 11/09/2017.

Carlos M. Martínez-Hernández, Prof. Titular, Universidad Central de Las Villas "Marta Abreu"(UCLV), Carretera a Camajuani km.5.5. CP: 54830, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. Tel: 53-42-281692. Fax: 53-42-281608. E-mail: carlosmh@uclv.edu.cu

Yosiel Francesena-López, E-mail: carlosmh@uclv.edu.cu

Yaser García-López, E-mail: carlosmh@uclv.edu.cu

Nilda Rosa Martínez-Flores, E-mail: carlosmh@uclv.edu.cu

Note: the mention of commercial equipment marks, instruments or specific materials obeys identification purposes, there is not any promotional commitment related to them, neither for the authors nor for the editor.

