



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

MÁSTER EN PRODUCCIÓN ANIMAL

Optimización de la medición de emisiones de NH₃ de purines por el método de trampas ácidas húmedas *in vitro*

Trabajo fin de Máster
Valencia, Septiembre 2014

Walter Orestes Antezana Julián

Director:
Salvador Calvet Sanz

Agradecimientos

El presente trabajo se ha desarrollado con la financiación del Ministerio de Ciencia e Innovación, mediante el Proyecto de Investigación AGL2011-30023-C03 y de la Generalitat Valenciana a través de las Ayudas Complementarias para proyectos de I+D (ACOMP/2013/118).

Mi agradecimiento y gratitud a los Doctores Salvador Calvet, Fernando Estellés, Alba Cerizuelo, María Cambra, Pablo Ferrer y Milagros Borrás por compartir sus conocimientos y experiencias.

A todos los profesores de la Maestría de Producción Animal de la UPV, por sus enseñanzas.

A mis compañeros y amigos del Máster de Producción Animal Oier, Carlos, Diego, Pepe, Miriam, María Amparo, Viviana, Julio, Renato y Cristian por compartir esta experiencia y por su amistad.

A mi amada esposa Rocío y a los motores de mi vida mis hijos María fe y Sebastián por comprenderme y apoyarme incondicionalmente en esta aventura.

A mis viejitos Camilo y Maruja y mis hermanos Rocío y Marco por su aliento constante para seguir en mis objetivos.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Perú, por la oportunidad brindada para continuar con mis estudios de posgrado.

A mi pitu.

RESUMEN

Las emisiones de amoníaco (NH_3) en la ganadería porcina suponen una contribución importante a la eutrofización y acidificación del medio. Para poder establecer formas de reducción es necesario disponer de protocolos de medida estandarizados. Uno de los métodos que requieren estandarización son los ensayos *in vitro* en que el amoníaco emitido por una muestra en condiciones controladas es retenido en un medio ácido que es posteriormente valorado. Los objetivos fueron (i) determinar la variación de la emisión de NH_3 entre réplicas de una misma muestra; (ii) caracterizar las relaciones entre las emisiones parciales (uno o varios días de medida) y acumuladas; (iii) evaluar el efecto de la disminución de la frecuencia de medición de las emisiones de NH_3 sobre la precisión de los resultados parciales de 48 horas y acumulados a 15 días; y (iv) evaluar la eficiencia de captura del NH_3 de las trampas ácidas y sus relaciones con el pH de la disolución colectada y la concentración de NH_3 capturado. Para cumplir estos objetivos se utilizaron un total de 167 muestras de purín de las cuales se determinaron las emisiones de NH_3 *in vitro* durante 15 días. La variación de la emisión de NH_3 acumulada en 15 días entre réplicas de una misma muestra de purín fue 6.29%. Si se consideran las emisiones diarias en vez de las acumuladas, las variaciones entre réplicas fluctuaron entre 9.44% y 16.52%. Se observó una correlación positiva entre las emisiones de NH_3 parciales (medidas a 1 o varios días) y acumuladas a 15 días. De otro lado se observó que en la mayor parte de muestras la emisión es relativamente constante durante los 15 días de estudio, si bien cada muestra de purín evidencia su propia dinámica de emisión. En cualquier caso, se observa que el proceso de emisión de NH_3 continúa más allá de los 15 días. Referente a la reducción en la frecuencia de medición de NH_3 , esta no afectó significativamente a la precisión de las estimaciones para periodos de 48 horas y 15 días ($P > 0.7$), por lo que se podría reducir el número de medidas sin afectar a la precisión de los resultados. Respecto a la eficiencia de captura de NH_3 , la primera trampa ácida retuvo en promedio el 99.9% del total retenido entre las dos trampas. Esta eficiencia no se vio afectada por la concentración de amoníaco en el aire muestreado ni por la frecuencia de reemplazo de la disolución ácida (1 o 2 días). Sin embargo se evidenció una relación directa entre el pH y la cantidad de NH_3 atrapada en las disoluciones. Puede concluirse que la metodología analizada en este estudio es adecuada para medir las emisiones potenciales de NH_3 , pudiéndose reducir la frecuencia de cambio de ácido.

Palabras clave: amoníaco; emisiones; borboteadores; protocolo de medición; eficiencia; purín.

ABSTRACT

Ammonia (NH_3) emissions from pig production contribute relevantly to acidification and eutrophication of the environment. In order to reduce these emissions it is necessary to use standardized measurement protocols. One of the methods requiring standardization is in vitro measurement of potential NH_3 emissions. In this method, the emission from an emitting source under controlled conditions is trapped in an acidic solution to be later analyzed. The objectives of this study were (i) to determine the variation of the emission of NH_3 between replicates of the same sample; (ii) to characterize relationships between partial (one or few days of measurements) and cumulative emissions; (iii) to analyze the effect of varying the frequency of replacement of the acidic solution of the impingers on the precision of the results of emissions; and (iv) to evaluate the capture efficiency of the acid traps NH_3 and its relationship with the collected solution pH and the concentration of NH_3 . For this study, a total of 167 pig slurry samples were used, from which emissions were measured during 15 days. The variation of NH_3 emission accumulated during 15 days, among replicates of the same sample, was 6.29%. For daily periods, variations between replicates ranged between 9.44% and 16.52%. A positive correlation was observed between partial NH_3 emissions (one or few days) and accumulated to 15 days. On the other hand it was observed that in most samples emission tended to be relatively constant in time. However, despite different emission dynamics were observed, in all samples the NH_3 emission process continued beyond 15 days. Reducing NH_3 measurement frequency (1 to 2 days) did not significantly affect the accuracy of estimates for periods of 48 hours and 15 days ($P > 0.7$), which could reduce the number of measurements without affecting the precision of the results. Regarding NH_3 capture efficiency by this method, the first acid trap retained on average 99.9% of total ammonia retained in the system. This efficiency was affected neither by the concentration of ammonia in the incoming air nor by the frequency of replacing of the acidic solution (1 or 2 days), However, a direct relationship was found between the pH and the amount of NH_3 trapped in the solutions.

Keywords: ammonia; emissions; impingers; protocol; measuring; efficiency; slurry.

Contenido

1. Introducción	1
2. Materiales y métodos	3
2.1 Las trampas ácidas para la medición de emisión in vitro de NH ₃	3
2.2 Estudio de la variabilidad entre réplicas	4
2.3 Relaciones entre las emisiones parciales y acumuladas.....	4
2.4 Evaluación de la disminución de la frecuencia de medición sobre la precisión de los resultados	4
2.5 Eficiencia de captura de NH ₃ de las trampas ácidas	5
2.6 Análisis de Datos.....	5
4. Resultados y discusiones.....	7
3.1 Variación de la emisión de NH ₃ entre réplicas.	7
3.3 Efecto de la variación de la frecuencia de medición en la precisión	10
3.4 Eficiencia de captura del NH ₃ de las trampas ácidas y relaciones entre el pH de la solución colectada y la concentración de amoníaco en el aire	11
5. Conclusiones	14
6. Bibliografía.....	15

Índice de Figuras

Figura 1. Diagrama del sistema utilizado para la medición de las emisiones de amoniaco <i>in vitro</i>	3
Figura 2. Emisión de NH ₃ (%) de muestras de purines de cerdo en función al tiempo. (Izquierda: tendencia lineal de todos los datos del ensayo; Derecha: evolución temporal de algunas muestras seleccionadas a modo de ejemplo).....	9
Figura 3. Pérdida de la eficiencia (%) de la captura de NH ₃ en trampas ácidas en función a la concentración de NH ₃ en el aire.....	12
Figura 4. Relación entre el pH de la solución colectada de borbotadores y el contenido de NH ₃	13

Índice de tablas

Tabla 1. Distribución de las mediciones de NH ₃ en réplicas con dos frecuencias en de medición, para periodos de 48 horas y 15 días.....	5
Tabla 2. Variación (CV) entre réplicas de la emisión de NH ₃ parciales y acumuladas, por el método de la cámara dinámica con trampas ácidas.	7
Tabla 3. Índice de correlación entre las emisiones de NH ₃ acumuladas parciales y la emisión potencial (15 días) de purines de cerdo <i>in vitro</i>	8
Tabla 4. Modelos de regresión lineal para la emisión potencial de NH ₃ /15 días de purines de cerdo <i>in vitro</i>	9
Tabla 5. Variación (CV), de la emisión de NH ₃ <i>in vitro</i> , entre réplicas con diferente frecuencia de medición.	10
Tabla 6. Eficiencia de captura de NH ₃ (%) con trampas ácidas in vitro.....	11
Tabla 7. Resultados del pH y concentración de NH ₃ (mg/0.1 L de disolución ácida colectada de las trampas ácidas.....	12

1. INTRODUCCION

La Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación FAO (2011), reconoce que las emisiones atmosféricas de amoníaco (NH_3), óxido nitroso (N_2O) y metano (CH_4) asociadas con los desechos animales son un problema mundial e impactan negativamente sobre el medio ambiente. En la actualidad se vienen desarrollando diversas opciones de mitigación de las emisiones que permitan la sostenibilidad de la producción animal. Como tal se requieren resultados precisos en las mediciones de las emisiones de NH_3 resultantes.

Con la finalidad de poder comparar las emisiones de la producción animal, en las últimas décadas se han desarrollado ensayos de emisiones de NH_3 *in vitro* de purines provenientes del uso controlado de materias primas, niveles de nutrientes y aditivos en la alimentación animal. El método más usual para medir las emisiones de NH_3 en estos ensayos ha sido el de trampas ácidas húmedas (impingers). Este método se basa en el principio de, a partir de un contenedor de purín, hacer fluir de manera forzada y controlada, el aire en contacto con los purines, pasándolo por una disolución ácida que atrapa el amoníaco mediante una reacción de neutralización (ácido – base) para su posterior valoración (APHA, 2005 y Derikx and Aarnink, 1993).

Para la determinación de las emisiones de NH_3 *in vitro* se han usado frecuentemente dos réplicas por cada muestra de purín y se reporta como resultado la emisión promedio de estas réplicas por unidad de tiempo (Derikx and Aarnink, 1993 y Pereira et al., 2012). Sin embargo, los parámetros del estudio (cantidad de muestra, dimensiones de los recipientes del purín, caudal de aire, concentración y tipo de ácido, etc.) han variado entre estudios. La cantidad de muestra de purín utilizada en los ensayos de emisiones fue variable encontrándose estudios con cantidades de 25 mL (Otto et al., 2003), 1 kg (O'Shea et al., 2009), 2 kg (Canh et al., 1988 a,b,c y d, Mroz et al., 2000, O'Connell et al., 2006, Lynch et al., 2007, O'Shea et al., 2010 y Galassi et al., 2010 entre otros) y 5.7 kg de purín (Portejoie et al., 2004). Las muestras de purín han sido contenidas en recipientes de diferentes capacidades, que van desde 1 hasta 6 litros, mantenidos a temperaturas constantes controladas.

Habitualmente se utilizan dos trampas ácidas en serie con el objetivo de asegurar que se captura la totalidad de NH_3 emitido. De esta forma, si la primera trampa fuese ineficiente, la segunda trampa capturaría el amoníaco no atrapado en la primera. Por otra parte, la ausencia de amoníaco capturado por la segunda trampa es garantía de un buen funcionamiento del sistema. La cantidad de ácido en solución contenida en las trampas ha sido variable desde 20 mL (Le et al., 2009) hasta 150 mL de disolución ácida (Pereira et al., 2012), en diferentes concentraciones molares de 0.02 M a 1M. En todos los casos las concentraciones utilizadas son teóricamente suficientes para atrapar el amoníaco de las muestras de purín analizadas.

En cuanto al tiempo de medición de las emisiones de purines, este ha sido variable dependiendo principalmente del objetivo del estudio. Se tiene reportes de ensayos con una duración de solo 90 minutos (Le et al., 2009), pero la mayoría han cuantificado las emisión de NH_3 a los 10 días (O'Connell et al., 2005, O'Shea et al., 2007, Hernández et al., 2011, entre otros) y algunos han llegado hasta los 14 y 16 días (Galassi et al., 2010 y Jarret et al. 2011, respectivamente))

La frecuencia de remplazo de la disolución ácida de captura de los borboteadores ha sido variable, por ejemplo Galassi et al. (2010) reporta 14 días de medición en los cuales el primer borboteador fue reemplazado diariamente y el segundo cada siete días. Otros autores como O'Connell et al. (2005 y 2006), Lynch et al. (2007), O'Shea et al. (2009) y Hernández et al. (2011), reportan 10 días de medición en las que el primer borboteador fue reemplazado a las 48, 96, 144, 192 y 240 horas y el segundo fue reemplazado a las 96 y 240 horas.. En cuanto a los caudales del flujo de aire de extracción variaron desde 1 L/minuto hasta 5 L/minuto, Ndegwa y Vaddella (2009) y Portejoie et al. (2004), respectivamente.

A pesar de que existen bastantes estudios de emisión de NH_3 *in vitro*, en ellos no se reporta información respecto a la variación de las emisiones calculadas de NH_3 entre réplicas de las muestras para periodos cortos o acumulados totales. Esta información sería de gran interés para optimizar el método y en términos de coste y robustez de los resultados.

Ndegwa y Vaddella (2009) examinaron la eficiencia de una trampa de ácido con diferentes concentraciones de amoníaco en el aire, diferentes cantidades y profundidades de ácido sulfúrico y diferentes caudales de flujo de extracción del aire. En este estudio se concluye que la eficiencia de las trampas ácidas disminuye con la cantidad de amoníaco que se atrapó en ellas. Aun cuando la capacidad estequiométrica de la trampa ácida excede la capacidad máxima de saturación o equilibrio, la eficiencia absoluta de las trampas no aumenta significativamente con el incremento de la cantidad de la solución de ácido: Estos investigadores reportan que el aumento de la profundidad del ácido en aproximadamente tres veces (110 a 310 mm), usando una botella de menor diámetro, aumenta la de eficiencia absoluta en un promedio del 8% y la eficiencia de la trampa se incrementa significativamente con la disminución de la tasa de flujo de aire de 1,0 a 0,5 L/min (en un promedio de 4%).

En este contexto este estudio tiene como objetivo analizar la metodología de medición de las emisiones de NH_3 *in vitro*. En concreto, este estudio pretende (i) determinar la variación de la emisión de NH_3 entre réplicas de una misma muestra; (ii) caracterizar las relaciones entre las emisiones parciales y acumuladas; (iii) evaluar el efecto de la disminución de la frecuencia de medición de las emisiones de NH_3 sobre la precisión de los resultados parciales de 48 horas y acumulados a 15 días; y (iv) evaluar la eficiencia de captura del NH_3 de las trampas ácidas y su relación con pH de la solución colectada y la concentración de NH_3 capturado. El presente estudio busca dar respuestas a estas inquietudes para optimizar esta metodología de medición.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Las trampas ácidas para la medición de emisión in vitro de NH₃

Para estimar las emisiones in vitro de NH₃ a partir de purines se utilizó un sistema de cámara dinámica y trampas ácidas húmedas similar a la empleada por Ndegwa y Vaddella (2009) y Pereira et al. (2012). El sistema consistió en el almacenamiento de purín en un contenedor cerrado del cual se extrae aire a un caudal fijo (1,2 L/min) que se hace pasar a través de dos frascos borboteadores con ácido en serie (Figura 1). Una bomba de vacío fuerza la extracción de aire a través de los borboteadores, y éstos retienen el amoníaco emitido por el purín.

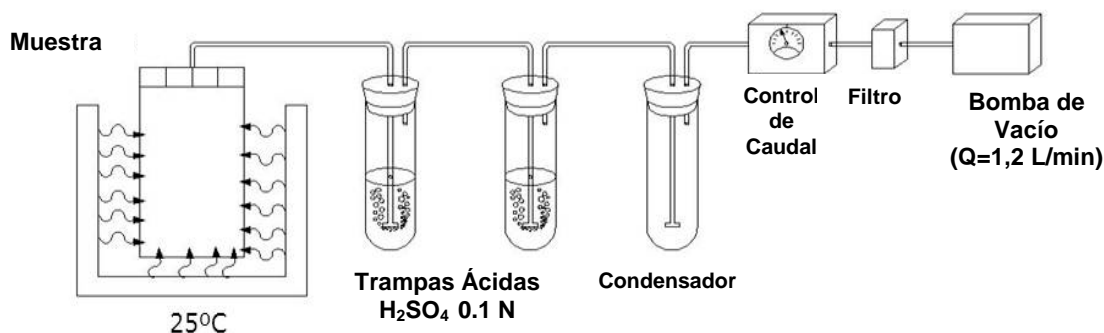


Figura 1. Diagrama del sistema utilizado para la medición de las emisiones de amoníaco *in vitro*

En este sistema se analizó cada muestra por duplicado, utilizando un contenedor de plástico cerrado, de 1 L de volumen. El recipiente se mantuvo herméticamente cerrado excepto por dos orificios, uno de entrada de aire limpio y otro de salida a través de un tubo de polietileno de 8 mm de diámetro interior. Al final de la línea de salida de aire se colocó una bomba de aspiración modelo ZA.32 9210003 (DVP, Taiwan) con capacidad de aspiración de 32 L/min en flujo libre. Este montaje permite 8 líneas con caudal constante de aproximadamente 1,2 L/min. Cada una de las líneas extrajo aire de forma continua de cada recipiente de purín, haciéndolo pasar a través de dos frascos borboteadores con una disolución de 100 mL de ácido sulfúrico 0,1N. En esta disolución quedó retenido el amoníaco para su cuantificación. Tras los frascos se situó un filtro de aire modelo 7037001 (DVP, Italia) para proteger la bomba de aspiración. El caudal se verificó y reguló diariamente mediante un medidor de caudal modelo Rota (Yokogawa, Alemania). Las condiciones de temperatura de los ensayos se mantuvieron constantes en 24°C mediante un baño de agua termostático modelo Precistern (J. Selecta p, España).

La concentración de nitrógeno amoniacal de la solución de las trampas ácidas de los borboteadores (solución de cloruro de amonio resultante) se midió siguiendo el procedimiento 4500 de APHA (2005).

2.2 Estudio de la variabilidad entre réplicas

Para estudiar la variabilidad entre réplicas se utilizaron 79 muestras de purines de cerdo de granjas porcinas comerciales de cuatro orientaciones productivas (lechones, cerdos de engorde, cerdas en lactación, y cerdas gestantes) de dos zonas de España (centro y este). Se recogió purín de las fosas de las granjas seleccionadas. Para obtener una muestra representativa, se tomaron 5 sub muestras por cada fosa, las cuales fueron integradas y mezcladas en un bidón de 15L. Las muestras se colocaron en un recipiente sellado, mantenidos en neveras portátiles a 5 °C y se trasladaron al laboratorio del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal (ICTA) de la UPV. De cada muestra se tomaron dos réplicas de 0,5 L, se le agregaron 50 ml de agua destilada, cada réplica fue montada en el sistema de cámara dinámica y trampas ácidas descrito anteriormente.

Para este estudio el ácido de los borboteadores fue reemplazado y analizado cada 24 horas (Hernández et al., 2011, Pereira et al., 2011). Se obtuvieron las emisiones parciales acumulativas cada 24 horas, durante 15 días.

2.3 Relaciones entre las emisiones parciales y acumuladas

Para establecer las relaciones entre las emisiones parciales y las emisiones acumuladas se utilizaron los datos de las emisiones parciales (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15 días) y acumuladas a los 15 días de 48 muestras de purines de cerdo. Se establecieron regresiones lineales para las correlaciones parciales con $R > 0.9$. Las emisiones de NH_3 parciales fueron expresadas porcentualmente en relación a la emisión total a 15 días, estos datos fueron sometidos a un análisis de regresión.

2.4 Evaluación de la disminución de la frecuencia de medición sobre la precisión de los resultados

Para evaluar el efecto de la disminución de la frecuencia de medición de las emisiones de NH_3 sobre la precisión de los resultados parciales de 48 horas y acumulados a 15 días se montaron 16 muestras de purín, cada una con dos réplicas. A cada réplica se le aplicó una frecuencia de medición de las emisiones de NH_3 : Frecuente (F) cada 24 horas y Menos Frecuente (MF) cada 48 horas, como se observa en Tabla 1.

Para la comparación de variación de la emisión de NH_3 entre réplicas con diferente frecuencia de medición se sumaron las dos mediciones parciales de 24 horas de la réplica medida frecuentemente para compararla con su correspondiente réplica medida menos frecuentemente. Se alternó la frecuencia de medición en cada una de las réplicas.

Tabla 1. Distribución de las mediciones de NH₃ en réplicas con dos frecuencias en de medición, para periodos de 48 horas y 15 días.

Réplica	Día de medición														
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	F	F	MF		F	F	MF		F	F	MF		F	F	F
2	MF		F	F	MF		F	F	MF		F	F	MF		F
Emisiones Parciales (48 horas)	1		2		3		4		5		6		7		

F: Frecuente

MF: Menos Frecuente

2.5 Eficiencia de captura de NH₃ de las trampas ácidas

Para evaluar la eficiencia de las trampas ácidas en la medición del NH₃ se utilizaron 88 muestras de purín reconstituido procedente de ensayos de digestibilidad en porcino de cebo. En estas muestras se tomaron medidas diarias de la emisión de NH₃ del primer al quinto día y a partir de este cada 48 horas hasta el día 11.

Se calculó la eficiencia de captura del primer borboteador como la relación entre la cantidad de NH₃ capturada en el mismo y la emisión total (NH₃ capturado en el primer borboteador más NH₃ capturado en el segundo borboteador), conforme a la siguiente fórmula:

con un nivel de $\alpha = 0,05$. El coeficiente de variación porcentual CV entre réplicas fue calculado a partir del promedio de cada par de réplicas. Para la emisión acumulada a 15 días este fue calculado en base a la emisión promedio total de cada par de réplicas.

Las relaciones entre las emisiones parciales y acumuladas a 15 días de NH_3 fueron analizadas a partir de la base de datos generados de la medición de emisiones de NH_3 in vitro cada 24 horas para un periodo total de 15 días (estudio 1). Se realizó un análisis de correlación y de regresión lineal entre las emisiones acumuladas parciales (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15 días) y la emisión acumulada total a los 15 días. Las emisiones parciales fueron expresadas porcentualmente para comparar la evolución porcentual de las emisiones en función del tiempo.

Para determinar el efecto de la frecuencia de reemplazo de la disolución ácida de los borboteadores en la precisión de las mediciones, los resultados apareados fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias (SAS Institute, 2008) con un nivel de $\alpha = 0,05$. El coeficiente de variación porcentual CV entre réplicas fue calculado a partir del promedio de cada par de réplicas para periodos de 48 horas y de 15 días.

Para evaluar la eficiencia de captura del NH_3 por el método de trampas ácidas, los resultados de las 88 muestras fueron sometidos a un análisis de regresión entre la eficiencia de captura y la concentración de NH_3 del aire. Para analizar las relaciones entre el pH y la concentración de NH_3 se realizaron regresiones entre el pH de la disolución y la concentración de NH_3 de la muestra.

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1 Variación de la emisión de NH₃ entre réplicas.

La variación de las emisiones de NH₃ entre réplicas de muestras de purines de cerdo medidas cada 24 horas durante 15 días se presenta en el Tabla 2. Se ha incluido en la tabla el coeficiente de variación día a día al evolucionar la muestra de purín (y por tanto su emisión) durante el transcurso del ensayo.

Tabla 2. Variación (CV) entre réplicas de la emisión de NH₃ parciales y acumuladas, por el método de la cámara dinámica con trampas ácidas.

Día de medición	Coeficiente de Variación entre réplicas (CV)			Emisión NH ₃ mg/24 h/L de purín
	Promedio	Mínimo	Máximo	
1	9,59	0,14	50,98	188,2
2	9,44	0,08	36,02	149,2
3	16,52	0,14	89,04	134,4
4	14,26	0,00	70,77	132,0
5	14,58	0,22	83,04	106,0
6	10,42	0,81	42,14	117,8
7	15,43	0,89	61,15	127,8
8	11,73	0,20	64,52	138,8
9	13,21	0,55	59,78	129,8
10	10,29	0,36	33,47	136,6
11	10,81	0,00	51,26	124,4
12	12,11	0,39	46,44	115,6
13	14,31	0,43	61,44	106,0
14	12,62	0,42	74,51	116,4
15	12,68	0,15	83,89	105,8
Emisión acumulada 15 días	6,29	0,28	28,89	1949,0

n: 705

La variación (CV) entre réplicas de muestras de purín a lo largo de 15 días no es homogénea, esta fluctúa entre 9.44% y 16.52%. Cuando comparamos como varían las réplicas en los diferentes días de evaluación observamos que en los dos primeros días la variación entre réplicas fue menor al resto de días. A su vez, las emisiones de NH₃ registradas para estos días fueron las más altas (en promedio 188.2 y 149.2 mg de NH₃, respectivamente) del registro de 15 días. A partir del tercer día la variación entre réplicas se incrementa y la emisión de NH₃ disminuye, aunque esta tendencia no es homogénea. Esto podría sugerirnos que la variación entre réplicas es menor cuando los valores de emisión son mayores y viceversa. Por otra parte, existe un número reducido de muestras con un elevado grado de variación entre réplicas.

Para el caso de los resultados de las emisiones acumuladas en 15 días se obtiene una variación entre réplicas de 6,29%, esta variación es menor a la observada en las mediciones diarias, debido principalmente a que este dato se obtiene de la sumatoria de

los 15 datos parciales correspondientes. Por otra parte, es de esperar que en periodos cortos (diarios) la actividad de los procesos microbiológicos particulares de cada réplica influyan más en la variación, mientras que en periodos largos, la homogeneidad de las características físico químicas entre réplicas haga que la variación entre estas sea menor.

En general, la variación entre réplicas de purines se debe en parte al error muestral estadístico propio de toda réplica. A esto se le sumarían factores de variación que no son controlados por el método como son las características intrínsecas microbiológicas de los purines. Esto haría suponer que en cada réplica de purín se desarrollan procesos singulares de fermentación bacteriana, que pueden no ser homogéneos. Por tanto, el uso de dos réplicas en el montaje de procesos de medición de emisiones de NH₃ *in vitro* estaría justificado.

3.2 Relaciones entre las emisiones parciales acumuladas

Las correlaciones entre las emisiones parciales de NH₃ y la emisión potencial de NH₃ a los 15 días de purines de cerdo fueron altamente significativas (<0.0001), como se muestra en el Tabla 3.

Tabla 3. Índice de correlación entre las emisiones de NH₃ acumuladas parciales y la emisión potencial (15 días) de purines de cerdo *in vitro*.

Emisión de NH ₃ acumulada días	2	3	4	5	6	7	8	9	10	15
1	0,96	0,91	0,85	0,83	0,81	0,79	0,77	0,76	0,75	0,73
2	1	0,97	0,95	0,92	0,9	0,89	0,87	0,87	0,86	0,84
3		1	0,99	0,98	0,96	0,95	0,93	0,92	0,91	0,88
4			1	0,99	0,99	0,99	0,97	0,96	0,95	0,90
5				1	0,99	0,99	0,98	0,97	0,96	0,91
6					1	0,99	0,99	0,98	0,96	0,92
7						1	0,99	0,99	0,98	0,94
8							1	0,99	0,99	0,96
9								1	0,99	0,97
10									1	0,98
15										1

n: 48

En la Tabla 3 se observa que los coeficientes de correlación entre la emisión acumulada a los 4 días con las emisiones acumuladas a los 5, 6, 7, 8, 9 y 10 días son mayores a 0,9. También se evidencia que la correlación entre medidas sucesivas, a partir del cuarto día de medición es muy alta, por ejemplo la emisión acumulada del día 4 con la emisión del día 5, 6, 7, 8, 9 hasta el 15 tienen un índice de correlación superior a 0,9. Esto podría sugerir la necesidad de medir las emisiones parciales diarias de NH₃, hasta al menos el cuarto día, pudiéndose alternar a partir de entonces.

La regresión entre las emisiones parciales de NH₃ acumuladas a los 6, 7, 8, 9 y 10 días con la emisión acumulada total de NH₃ a 15 días (Tabla 4) generaron modelos lineales

con coeficientes de determinación (R^2) altos. Con estos modelos se podría estimar la emisión de NH_3 potencial de los purines a 15 días, a partir de resultados acumulados parciales.

Tabla 4. Modelos de regresión lineal para la emisión potencial de NH_3 /15 días de purines de cerdo *in vitro*.

X (Emisión acumulada parcial de mg NH_3)	Modelo de regresión lineal Y: Emisión Potencial de NH_3 /15 días	R^2
4 días	$Y = 131.36761 + 2.75237 X$	0.816
5 días	$Y = 100.39455 + 2.42754 X$	0.832
6 días	$Y = 81.18217 + 2.12916 X$	0.839
7 días	$Y = 54.81159 + 1.89959 X$	0.885
8 días	$Y = 26.57500 + 1.71074 X$	0.921
9 días	$Y = 17.20517 + 1.54466 X$	0.944
10 días	$Y = 7.97230 + 1.40365 X$	0.967

Al representar porcentualmente la emisión potencial *in vitro* de NH_3 en función al tiempo de almacenamiento del purín (Figura 2, derecha), tomando como punto de partida la emisión inicial (0%) en el inicio de la prueba y 100% para la emisión acumulada a los 15 días, se observa que los datos se ajustan a una función lineal $Y=6,9238X$ donde “Y” es la emisión porcentual de amoniaco y “X” es el tiempo transcurrido en días (con un coeficiente de determinación alto R^2 : 0,969).

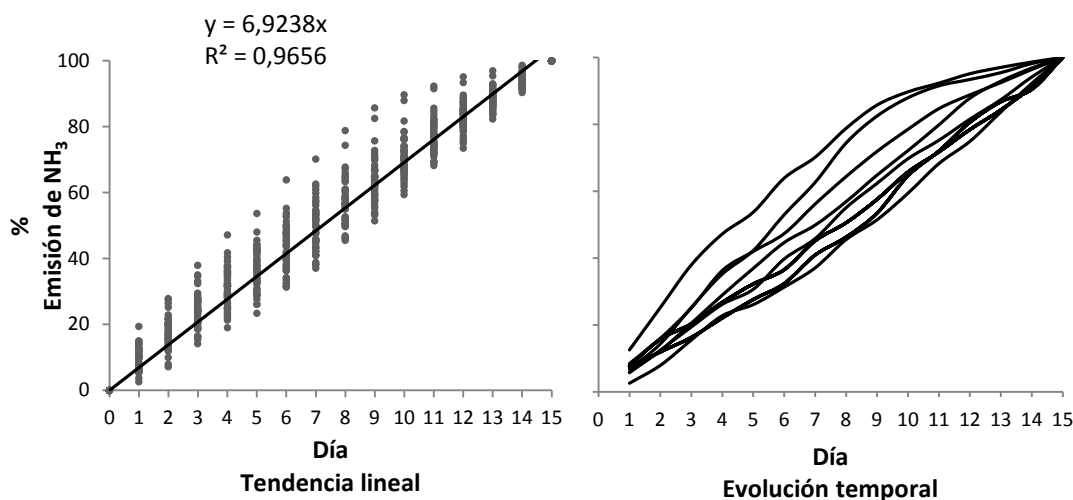


Figura 2. Emisión de NH_3 (%) de muestras de purines de cerdo en función al tiempo. (Izquierda: tendencia lineal de todos los datos del ensayo; Derecha: evolución temporal de algunas muestras seleccionadas a modo de ejemplo)

Cuando observamos la evolución particular de cada muestra (Figura 2, derecha) se evidencia que cada una tiene su propia dinámica de emisión, algunas emiten de manera prácticamente constante, mientras que otras muestran una tasa de emisión más elevada al principio, que se reduce paulatinamente en función al tiempo. Sin embargo, al día 15 todas las muestras registraron emisiones de considerables cantidades de NH₃ (105 mg/24 h/L) Esto nos confirma que los procesos de emisión de NH₃ continuarían por algún tiempo más, por lo que sería importante caracterizar la dinámica de las emisión en periodos de tiempo mayores a los del presente estudio.

3.3 Efecto de la variación de la frecuencia de medición en la precisión

Los resultados de la variación entre réplicas medidas frecuentemente “F” (cada 24 horas) y menos frecuentemente “MF” (cada 48 horas) son presentados en la Tabla 5.

Tabla 5. Variación (CV), de la emisión de NH₃ *in vitro*, entre réplicas con diferente frecuencia de medición.

Periodo de medición	Frecuencia de medición de réplicas (R1 y R2)	CV% Entre Réplicas	Emisión NH ₃ (mg/L de purín) X ± S	ANOVA	F-test 0,05 LSD	n
48 h	R1: Frecuente R2: Menos Frecuente	8,31	269,70 ± 11,84 276,74 ± 6,72	P:0,686 ns	±23,6 ±25,4	105
15 días	R1: Frecuente* R2: Menos Frecuente**	5,89	1823,0 ± 35,94 1904,2 ± 40,94	P:0,7685 ns	±357,75 ±436,98	15

*La réplica 1 fue medida los días: 1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 14 y 15.

**La réplica 2 fue medida los días: 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12, 14 y 15.

Para periodos acumulados de 48 horas, la variación (CV) entre réplicas fue de 8,31% y para el caso de la emisión acumulada de NH₃ a 15 días, la variación (CV) entre réplicas fue de 5,89%. Los promedios de las emisiones de NH₃/L de purín de las réplicas medidas Frecuentemente (269,70 mg/48h y 1823,0 mg/15 días) son menores al de las réplicas medidas Menos Frecuentemente (276,74 mg/48h y 1904,2 mg/15días). Al análisis de varianza las diferencias entre las dos frecuencias de medición no fueron estadísticamente significativas tanto para el periodo de 48 horas (P=0,686) como para el periodo acumulado de 15 días (P=0,768), a la prueba de medias (LSD) no se encontraron diferencias estadísticas en ningún caso.

Por otro lado la variación entre réplicas fue menor para las mediciones acumuladas a 15 días (5,89%) frente a las obtenidas para periodos de 48 horas (8,31%). Esta variación entre réplicas es similar a la obtenida en el primer ensayo del presente 6,29% (Tabla 1), por lo que suponemos que la reducción de la frecuencia de medida del NH₃ para los periodos de 48 horas y 15 días no afecta la precisión de sus estimaciones, con una mayor certeza para periodos de medición de largo plazo.

Estos resultados nos sugieren la posibilidad de reducir la frecuencia de medición sin afectar la precisión de los resultados, lo que significaría un ahorro en recursos y medios en la ejecución de estos ensayos.

3.4 Eficiencia de captura del NH₃ de las trampas ácidas y relaciones entre el pH de la solución colectada y la concentración de amoníaco en el aire

Conforme a los resultados presentados en la Tabla 6, en promedio, la eficiencia de captura del sistema de trampas ácidas húmedas medido en el primer borboteador fue de 99,94%. Sin embargo, a pesar que la capacidad teórica de captura de la solución ácida utilizada quintuplicó el mayor valor capturado, hay una pérdida promedio de 0,06% del NH₃, que fue atrapado en el segundo borboteador.

Tabla 6. Eficiencia de captura de NH₃ (%) con trampas ácidas in vitro

	Eficiencia de Captura Primer Borboteador %	NH ₃ Total (mg)	NH ₃ Capturado (mg)	
			Primer Borboteador	Segundo Borboteador
Promedio	99,938	124,43	124,36	0,080
Desv. estándar	0,068	52,89	52,84	0,119
Máximo	100,0	335,61	335,45	2,321
Mínimo	99,173	25,35	25,34	0,0

n:713

Cuando observamos la representación de los resultados de la concentración de amoníaco en el aire y la eficiencia de captura de la trampa ácida (Figura 3) parece existir una tendencia a reducirse la eficiencia cuando las concentraciones de NH₃ retenido en la trampa se incrementan, aunque esta relación no fue estadísticamente significativa. Esta tendencia coincide con lo reportado por Ndegwa y Vaddella (2009), que indican que la eficiencia de las trampas disminuye con la cantidad de amoníaco que se captura, a pesar de que la capacidad estequiométrica de la trampa ácida exceda en gran medida el contenido de NH₃ de la muestra.

En el presente estudio se utilizaron 100 mL de H₂SO₄ 0,1N (0,05mol/L) en cada borboteador, como tal esta solución ácida tuvo una capacidad estequiométrica de atrapar 0,01 mol de amoníaco (0,17 g de NH₃). En las muestras estudiadas (Tabla 6) se obtuvo que la mayor concentración de amoníaco fue 335,6 mg de NH₃/L equivalente a 0,00196 mol de NH₃. Conforme a esto, la solución ácida de cada borboteador tuvo la capacidad de capturar 5,1 veces la mayor concentración evaluada. Por lo tanto para nuestro estudio, la saturación del ácido no fue un limitante en la eficiencia de la captura.

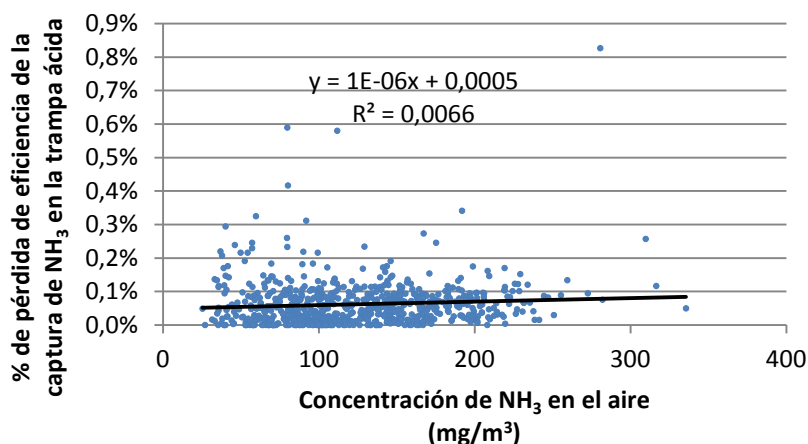


Figura 3. Pérdida de la eficiencia (%) de la captura de NH₃ en trampas ácidas en función a la concentración de NH₃ en el aire.

Nuestros resultados nos hacen suponer que la eficiencia de la trampa ácida en la captura del NH₃ no depende exclusivamente de la capacidad estequiométrica de la solución ácida, sino que puede haber otros factores implicados, que no fueron medidos en este estudio, además de considerar la variación propia del error experimental. Probablemente, el análisis de muestras de aire muy concentradas en amoníaco puede provocar que el sistema de captura no tenga capacidad para realizar el intercambio de NH₃ del gas muestreado a la solución ácida.

Tabla 7. Resultados del pH y concentración de NH₃ (mg/0.1 L de disolución ácida colectada de las trampas ácidas.

Tipo de muestra	Concentración NH ₃ mg/0.1L de disolución ácida colectada			pH			
	Mínimo	Máximo	Promedio	Promedio	Mínimo	Máximo	n
	0	0,0065	0,001	1,054	1,02	1,13	10
Soluciones colectadas de las trampas ácidas	0,005	99,75	42,066	1,234	1,14	1,35	10
	36,7	92,25	71,305	1,408	1,38	1,43	10
	57,0	116,5	94,785	1,482	1,43	1,52	10
	73,8	134,0	108,83	1,623	1,56	1,69	10
	93,1	178,5	130,41	1,782	1,72	1,87	10
H ₂ SO ₄ 0.1N				0,957	0,95	0,96	3

El pH para las muestras evaluadas fluctuó entre 1,02 y 1,87 y la concentración de NH₃ de las soluciones evaluadas estuvo en el rango de 0 a 178,5 mg/L. En los resultados se observa que a pesar que la sonda de medición del NH₃ indica una concentración de 0,000 mg el pH de la solución indica valores mayores a 0.96, estos valores de pH son mayores al de la solución de H₂SO₄ 0.1N usada. Sería necesario profundizar en este aspecto, ya

que esto podría indicarnos un error experimental (instrumental) sobre la estimación del NH_3 .

Al representar los resultados del pH y la concentración de NH_3 de las muestra evaluadas (Figura 4) se observa una relación lineal positiva, altamente significativa ($P < 0.0001$) entre las dos variables. Esto nos indica que a mayor concentración de NH_3 capturado en la trampa ácida mayor será el valor del pH de la disolución.

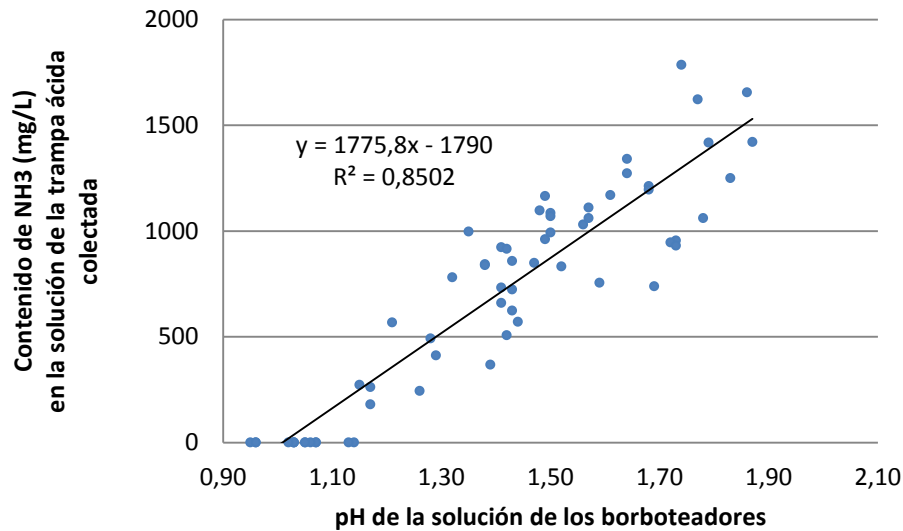


Figura 4. Relación entre el pH de la solución colectada de borboteadores y el contenido de NH_3 .

En consecuencia, para nuestro estudio, la eficiencia de captura del NH_3 de las trampas ácidas no mostró relaciones significativas con el pH de la solución colectada de los borboteadores por lo que tendríamos que tener en cuenta la posibilidad de evaluar otros factores como puede ser el tamaño de las burbujas y el tiempo de inmersión de las mismas en la solución ácida. Estos dos factores tienen que ver directamente con el flujo de aire y con el modelo de los borboteadores. Al respecto Ndegwa y Vaddella (2009) mencionan un efecto directo entre la disminución del el flujo de aire y la eficiencia de captura. El flujo de aire está directamente relacionado con el tamaño de la burbuja, con el tiempo de inmersión y con la velocidad de borboteo. Suponemos que las burbujas generadas en los borboteadores tienen un tiempo de inmersión en la disolución ácida, durante este tiempo se da el proceso de captura de NH_3 (formación de sales de amonio), a su vez cada burbuja tiene una superficie y como tal una capacidad de intercambio mayor o menor en función al tiempo de inmersión en la disolución. Aunque en este estudio no se detectaron problemas de captura de NH_3 , en otros estudios de muestras más concentradas puede ser importante estudiar el uso de diferentes modelos de borboteadores o cantidades de ácido, que permitan difuminar las burbujas de aire en la solución ácida, incrementando la superficie de intercambio y la eficiencia de captura de la trampa ácida.

5. CONCLUSIONES

Conforme a los resultados encontrados en el presente estudio, concluimos:

- La variación entre réplicas en la medición de emisiones de amoníaco de purines de cerdo por el método de trampas ácidas fue de 6,29% para las medidas acumuladas en 15 días, para periodos diarios las variaciones entre réplicas fluctuaron entre 9,44% y 16,52%.
- Existe una correlación positiva entre las emisiones de NH_3 parciales y acumuladas. Cada muestra de purín evidencia su propia dinámica de emisión de NH_3 , observándose mayormente una tendencia lineal entre la emisión de NH_3 y el tiempo.
- Los purines después de 15 días de control *in vitro* siguen emitiendo alrededor de 105 mg de NH_3 /L de purín
- La disminución de la frecuencia de medición de NH_3 no afecta a la media de las estimaciones para periodos acumulados de 48 horas y 15 días
- La eficiencia de captura de NH_3 por el método de trampas ácidas es mayor a 99,9%, esta eficiencia no se ve afectada por la concentración de amoníaco en el aire ni por la frecuencia de reemplazo de la solución ácida, sin embargo existe una relación directa entre el pH y la cantidad de NH_3 atrapada en las soluciones.

6. BIBLIOGRAFIA

APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21st ed. Baltimore, Md.: Centennial Edition.

Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Verstegen, M.W.A., Schrama, J.W., 1998 a. Influence of dietary factors on the pH and ammonia emission of slurry from growing finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 76: 1123-1130

Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Mroz, Z., Jongbloed, A.W., Schrama, J.W., Verstegen, M.W.A., 1998 b. Influence of electrolyte balance and acidifying calcium salts in the diet of growing-finishing pigs on urinary pH, slurry pH and ammonia volatilization from slurry. *Livest. Sci.* 56: 1-13.

Canh, T.T., Sutton, A.L., Aarnink, A.J.A., Verstegen, M.W.A., Schrama, J.W., Bakker, G.C.M., 1998 c. Dietary carbohydrates alter the faecal composition and pH and ammonia emission from slurry of growing pigs. *J. Anim. Sci.* 76: 1887-1895.

Canh, T.T., Aarnink, A.J.A., Schutte, J.B., Sutton, A.L., Langhout, D.J., Verstegen, M.W.A., Schrama, J.W., 1998 d. Dietary protein affects nitrogen excretion and ammonia emission from slurry of growing-finishing pigs. *Livest. Sci.* 56: 181-191.

Derikx, P. J. L.; Aarnink, A. J. A., 1993: Reduction of ammonia emission from slurry by application of liquid top layers. Verstegen, M. W. A., Den Hartog, L. A., Van Kempen, G. J. M., Meltz, J. H. M. European Association For Animal Production Publication; Nitrogen Flow In Pig Production And Environmental Consequences: 344-349

FAO 2011. Livestoc and envieroment, in: <http://www.fao.org/ag/againfo/programmes/es/lead/toolbox/homepage.htm>. Consultado el 10 de agosto de 2014.

Galassi, G., Colombini, S., Malagutti, L., Groveto, G.M., Rapetti, L., 2010. Effects of high fibre and low protein diets on performance, digestibility, nitrogen excretion and ammonia emission in the heavy pig. *Anim. Feed Sci. Techn.* 161: 140148.

Hernández, F., Martínez, S., López, C., Megías, M. D., López, M. and Madrid, J. 2011. Effect of dietary crude protein levels in a commercial range, on the nitrogen balance, ammonia emission and pollutant characteristics of slurry in fattening pigs *Animal. The Animal Consortium* 5:8, pp 1290–1298.

Jarret, G., Martinez, J. and Dourmad, J. 2011. Effect of biofuel co-products in pig diets on the excretory patterns of N and C and on the subsequent ammonia and methane emissions from pig effluent. *Animal* 5(04), 622-631.

Le P.D., Aarnink A.J.A, Jongbloed A.W. 2009. Odour and ammonia emission from pig manure as affected by dietary crude protein level, *Livestock Science* 121 pg. 267–274

Lynch M.B., Sweeney T., Callan J.J., O'Doherty J.V. 2007. The effect of dietary barley level on volatile fatty acid concentration and manure ammonia emissions in finishing pigs. *Livestock Science* 109 pg. 236–239.

Mroz Z., Moeser A. J., Vreman K Van Diepen., J. T. M., Van Kempen T., Canh T. T., and Jongbloed A. W. 2000. Effects of dietary carbohydrates and buffering capacity on nutrient digestibility and manure characteristics in finishing pigs. *J. Anim. Sci.* 2000. 78:3096–3106

Ndegwa, P. M., Vaddella, V. K., Hristov, A. N., & Joo, H. S. 2009. Measuring concentrations of ammonia in ambient air or exhaust air stream using acid traps. *Journal of Environmental Quality*, 38: 647-653.

O'Connell, J.M., Sweeney, T., Callan, J. J. and O'Doherty, J. V. 2005. The effect of cereal type and exogenous enzyme supplementation in pig diets on nutrient digestibility, intestinal microflora, volatile fatty acid concentration and manure ammonia emissions from finisher pigs. *Animal Science*, 81: 357-364

O'Connell, J.M., Callan, J.J., O'Doherty, J.V. 2006. The effect of dietary crude protein level, cereal type and exogenous enzyme supplementation on nutrient digestibility, nitrogen excretion, faecal volatile fatty acid concentration and ammonia emissions from pigs. *Animal Feed Science and Technology* 127 pg. 73–88

O'Shea C.J., Lynch B., Lynch M.B., Callan J.J., O'Doherty J.V., 2009. Ammonia emissions and dry matter of separated pig manure fractions as affected by crude protein concentration and sugar beet pulp inclusion of finishing pig diets. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 131: 154–160.

O' Shea, C. J., Sweeney, T., Lynch, M. B., Gahan, D. A., Callan, J. J., and O' Doherty, J. V. 2010. Effect of β -glucans contained in barley- and oat-based diets and exogenous enzyme supplementation on gastrointestinal fermentation of finisher pigs and subsequent manure odor and ammonia emissions. *Journal Animal Science* SCI 2010, 88:1411-1420.

Otto, E. R., Yokoyama, M., Hengemuehle, S., Von Bermuth, R. D., Van Kempen, T., and Trottier, N. L. 2003. Ammonia, volatile fatty acids, phenolics, and odor offensiveness in manure from growing pigs fed diets reduced in protein concentration. *Journal Animal Science* 2003, 81:1754-1763.

Pereira, J., Fanguero, D., Misselbrook., T., Chadwick, D.R., Coutinho, J. and Trindade, H. (2011). Ammonia and greenhouse gas emissions from slatted and solid floors in dairy cattle houses: A scale model study. *Biosystems Engineering*, 109(2), 148-157.

Pereira, J., Misselbrook., T., Chadwick, D.R., Coutinho, J. and Trindade, H. (2012). Effects of temperature and dairy cattle excreta characteristics on potential ammonia and greenhouse gas emissions from housing: A laboratory study. *Biosystems Engineering*, 112(2), 138-150.

Portejoie, S., Dourmad, J.Y., Martinez, J., Lebreton, Y., 2004. Effect of lowering dietary crude protein on nitrogen excretion, manure composition and ammonia emission from fattening pigs. *Livest. Sci.* 91: 45-55.

SAS. 2008. SAS/STAT User's Guide. (Release 9.2). SAS Inst. Inc., Cary NC, USA.