



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA

FACULTAD DE QUÍMICA

CINÉTICA DE LA DEGRADACIÓN ANAEROBIA
TERMOFÍLICA DE VINAZAS DE CAÑA

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

INGENIERÍA AMBIENTAL - AGUA

P R E S E N T A

I.Q. IVAN RENÉ RINCÓN ACELAS

TUTOR:

DRA. en ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN DOMÍNGUEZ
DE BAZÚA



2008

JURADO ASIGNADO:

Presidente: **Dr. NOYOLA ROBLES ADALBERTO**

Secretario: **Dra. FERNÁNDEZ VILLAGÓMEZ GEORGINA**

Vocal: **Dra. Dra. DURÁN DOMÍNGUEZ MA. DEL CARMEN**

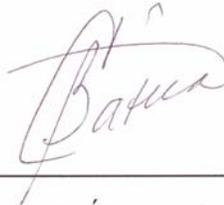
1er. Suplente: **Dra. MIJAYLOVA NACHEVA PETIA**

2do. Suplente: **Dra. CABIROL GILLES NATHALIE**

Lugar o lugares donde se realizó la tesis:

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM, LABORATORIOS 301-303, CONJUNTO E

TUTOR DE TESIS: _____



**DRA. en ING. MARÍA DEL CARMEN DURÁN
DOMÍNGUEZ DE BAZÚA**

SUSTENTANTE: _____



IQ IVÁN RENÉ RINCÓN ACELAS

VOTO APROBATORIO

DR. JOAN GENESCÁ LLONGUERAS
COORDINADOR DEL PROGRAMA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
P R E S E N T E

Por este medio comunicamos a usted que hemos leído la tesis intitulada

Cinética de la degradación anaerobia termofílica de vinazas de caña

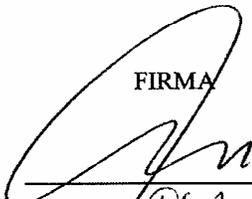
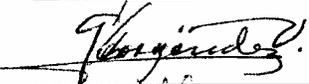
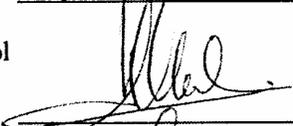
para obtener el grado de MAESTRO EN INGENIERÍA en el campo del conocimiento de Ingeniería Ambiental (AGUA), que presenta el alumno con número de cuenta 507450504, Ing. Químico

RINCÓN ACELAS IVÁN RENÉ

Consideramos que, de acuerdo con los requisitos, le otorgamos el voto asentado abajo.

Quedamos enterados(as) de que formaremos parte del jurado en la fecha y hora en que se nos comunicará posteriormente.

Atentamente,
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
 Ciudad Universitaria, D.F.

	FIRMA	FECHA	SÍ	NO
Presidente: Dr. Adalberto Noyola Robles		5/05/08	✓	_____
Vocal: Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa		18/Abril/2008	✓	_____
Secretario: Dra. Georgina Fernández V.		18/04/08	✓	_____
Primer Suplente: Dra. Nathalie Cabirol Gilles		12/05/08	✓	_____
Segundo Suplente: Dra. Petia Mijailova Nacheva c.c.p. SACC de Ingeniería Ambiental		02/05/2008	✓	_____

DEDICATORIA

A Dios por darme la vida, la salud física y mental, y con todo en conjunto tener la capacidad de alcanzar esta meta.



A Aydeé y Gonzalo, mis padres, que me apoyaron desde el día en que propuse esta idea y han estado junto a mí paso a paso, brindándome su amor, sabiduría y buenos consejos, permitiéndome crecer como persona, constituyéndose en el bastión del cual provienen mis fuerzas y todo el amor necesario para dedicar a ellos mis logros.



A Lucero mi amor lindo, gracias por todo el amor, cariño, apoyo y colaboración recibida durante las etapas que hemos llevado a lo largo de la realización de mi maestría. Su corazón ha impulsado el mío cada vez que desfallece y cada acto de ternura llena mi alma de la energía necesaria para seguir luchando y sus palabras me indican siempre el camino correcto.



A Melvin, mi hermano, por su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida



A mi hermoso país, Colombia por darme los valores necesarios para afrontar y superar este nuevo reto en mi formación académica y personal.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (*CONACYT*) de México por la beca de posgrado asignada al autor de esta investigación durante el período de enero de 2007 a julio de 2008.

A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa por la dirección de esta investigación y, el apoyo académico y científico durante los dos años de actividades en el laboratorio E de la Facultad de Química.

Al personal técnico, académico, de laboratorio y servicios generales del laboratorio E de la Facultad de Química.

Al Dr. Adalberto Noyola Robles, por su participación en el comité tutorial y de la misma forma por las facilidades para la realización de las pruebas en el laboratorio del grupo de investigación de bioprocesos ambientales en el Edificio 5 del Instituto de Ingeniería.

A la Ing. Margarita Cisneros por toda la colaboración y consejos recibidos durante la realización de las pruebas cinéticas y por todas las cosas que favorecieron la consecución de las metas de esta investigación.

A la Dra. Pettia Mijaylova Nacheva y su benéfica curiosidad científica conduciendo esta investigación por el camino correcto siendo parte del comité tutorial y un valioso apoyo moral y académico.

Al Dr. Simón González Martínez por escuchar, entender y aconsejar en cada una de las situaciones presentadas a lo largo de este período de aprendizaje, cosas que siempre se esperan de un amigo sincero.

Al Dr. Salvador Sánchez y la M en I María del Refugio González por su atenta colaboración académica en esta investigación y por el aporte de los lodos anaerobios para la adaptación de los reactores.

Al futuro Ingeniero Químico Juan Luis Ríos por tener una mano de apoyo siempre que la necesitaba en el laboratorio 303.

A todos mis compañeros de lucha del laboratorio 301: Amalia, Leonardo, Sandra, Liliana y Sergio Adrián por tener una voz de aliento en el momento preciso.

A México por recibirme en su seno y permitirme crecer en el campo personal y académico.

ÍNDICE

	<i>Pág.</i>
RESUMEN	15
ABSTRACT	16
 CAPÍTULO 1	
1. PROBLEMÁTICA	17
1.1 Proceso de producción de azúcar a partir de caña de azúcar	19
1.1.1 Proceso de producción de azúcar cruda	23
1.1.2 Proceso de refinación de azúcar	25
1.2 Proceso de producción de alcohol etílico	25
1.3 Planteamiento del problema	27
1.4 Objetivo	31
1.5 Metas	31
 CAPÍTULO 2	
2. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ANTECEDENTES	32
2.1 Degradación anaerobia	32
2.2 Ventajas y desventajas de los tratamientos anaerobios	32
2.3 Microbiología de la degradación anaerobia	33
2.4 Proceso de la degradación anaerobia	35
2.4.1 Hidrólisis	36
2.4.2 Acidogénesis	37
2.4.3 Acetogénesis	37
2.4.4 Metanogénesis	38
2.5 Factores que influyen en la degradación anaerobia	38
2.5.1 Agitación	39
2.5.2 Contenido de nutrientes	39
2.5.3 Valor de pH y alcalinidad	39
2.5.4 Temperatura	40
2.5.5 Tóxicos e inhibidores	42
2.6 Tecnologías del tratamiento anaerobio	43
2.7 Cinética microbiana	46
2.7.1 Cinética de crecimiento	47

2.7.2	Mantenimiento	47
2.7.3	Metabolismo endógeno	48
2.7.4	Muerte de los microorganismos	48
2.8	Modelos cinéticos para la degradación anaerobia	48
2.9.1	Modelo de Monod	48
2.8.2	Modelos alternativos	49
2.9	Modelos de inhibición	50
2.9.1	Modelo de inhibición propuesto por Haldane	51
2.9.2	Modelo de inhibición del tipo no competitivo	51
2.9.3	Modelo de inhibición del pH	51
2.10	Cálculos de los parámetros cinéticos	52
2.11	Aplicación de la ecuación de Arrhenius	54
2.12	Antecedentes de tratamientos anaerobios empleando reactores UASB	58
2.13	Vinazas	63
2.14	Actividad metanogénica específica	64

CAPÍTULO 3

3.	MATERIALES Y METODOLOGÍAS ANALÍTICAS	69
3.1	Características de las vinazas a utilizar	69
3.1.1	Valor de pH, sólidos totales y volátiles	69
3.1.2	Demanda química de oxígeno (DQO)	69
3.1.3	Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	70
3.1.4	Conductividad eléctrica	70
3.1.5	Cloruros	70
3.1.6	Sulfuros	70
3.1.7	Sulfatos	70
3.1.8	Determinación de N, C, H y S	71
3.1.9	Nitrógeno amoniacal (N-NH ₄)	71
3.1.10	Determinación de elementos y metales por espectroscopia de emisión de plasma	71
3.2	Reactores anaerobios de lecho de lodos (<i>UASB</i> , en inglés)	71
3.3	Estabilización de los reactores anaerobios de lecho de lodos	76
3.4	Parámetros de seguimiento de los reactores anaerobios de lecho de lodos	77
3.4.1	Alcalinidad	78
3.4.2	Medición de la producción de metano (CH ₄) (sistema Mariotte)	79
3.5	Evaluación del efecto de la temperatura basado en la ecuación de Arrhenius	79
3.6	Pruebas cinéticas	81
3.7	Pruebas estadísticas	81

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	82
4.1 Caracterización de las vinazas utilizadas	82
4.2 Seguimiento y operación de los reactores	83
4.2.1 Determinación de la actividad metanogénica específica de los lodos anaerobios empleados	83
4.2.2 Seguimiento operacional del sistema intermitente en el período de enero a mayo de 2007	84
4.2.3 Seguimiento operacional del sistema intermitente de inoculación y arranque con el nuevo lodo anaerobio	86
4.2.4 Seguimiento operacional del sistema en continuo en el período de mayo a diciembre de 2007	87
4.3 Cálculo de la energía de activación basado en la ecuación de Arrhenius	97
4.3.1 Determinación de sólidos suspendidos volátiles de los lodos anaerobios.	97
4.3.2 Volumen de sustrato utilizando en las pruebas de actividad metanogénica específica (AME) a las temperaturas de operación.	98
4.3.3 Determinación de la actividad metanogénica específica de los lodos anaerobios	98
4.3.4 Determinación de las constantes de rapidez de reacción	99
4.3.5 Obtención de la energía de activación basado en la ecuación de Arrhenius	100
4.4 Evaluación de las constantes cinéticas empleando la ecuación de Monod	101
CAPÍTULO 5	
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	105
5.1 Conclusiones	105
5.2 Recomendaciones	106
APÉNDICES	107
A. Principales metodologías empleadas en la caracterización de vinazas	107
A1. Demanda química de oxígeno (DQO)	107
A2. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	110
A3. Determinación de cloruros	111
A4. Determinación de sulfuros	113
A5. Determinación de sulfatos	115
B. Parámetros instrumentales utilizados en la determinación de elementos en las vinazas utilizadas	117
C. Actividad metanogénica específica	119
C1. Medio de cultivo y soluciones anaerobias	119

C2. Procedimiento de preparación de medios	<i>121</i>
C3. Procedimiento de inoculación	<i>123</i>
D. Obtención de la rapidez de reacción de la metanogénesis para las temperaturas de 45,55 y 65°C a nivel de viales en el tratamiento anaerobio de vinazas	<i>124</i>
D1. Modelo de ajuste de datos por mínimos cuadrados	<i>124</i>
D2. Obtención de K_H utilizando la herramienta “solver” de Excel	<i>126</i>
E. Tablas de cálculos para la obtención de las constantes cinéticas k y K_s	<i>128</i>
F. Análisis estadístico	<i>130</i>
F1. Análisis estadístico de los resultados de los principales parámetros de caracterización de las vinazas empleadas en esta investigación.	<i>130</i>
F2. Análisis gráfico estadístico de las pruebas por triplicado de los resultados de DQO en los reactores a 45, 55 y 65 °C durante el período de adaptación.	<i>135</i>
F3. Análisis gráfico estadístico de los resultados obtenidos para la medición del metano producido en el sistema Mariotte y el valor teórico calculado a partir de la DQO removida.	<i>137</i>
F4. Análisis estadístico de los resultados obtenidos para la medición de AME con dos sustratos diferentes (Vinazas y Ácido acético)	<i>137</i>
F5. Análisis gráfico estadístico de las pruebas por triplicado de los resultados de DQO en los reactores a 45, 55 y 65 °C empleados para la determinación de las constantes cinéticas.	<i>138</i>
G. Tratamiento de residuos peligrosos generados al realizar la prueba de demanda química de oxígeno (DQO)	<i>140</i>
BIBLIOGRAFÍA	<i>141</i>

LISTA DE FIGURAS

		<i>Pág.</i>
Figura 1.1	Producción mundial de azúcar (1996 – 2005)	18
Figura 1.2	Productos obtenidos del procesamiento de la caña de azúcar	23
Figura 1.3	Procesos simultáneos de producción de azúcar y alcohol	28
Figura 1.4	Ubicación geográfica de la agroindustria cañera de México	29
Figura 2.1	Fases microbiológicas de la digestión o degradación anaerobia	35
Figura 2.2	Etapas de la digestión o degradación anaerobia	36
Figura 2.3	Cálculo de los parámetros cinéticos k y K_s	53
Figura 2.4	Cálculo de la energía de activación	55
Figura 2.5	Relación entre las energías de activación y el calor de reacción	56
Figura 3.1	Generación de vinazas en un ingenio azucarero mexicano con destilación de alcohol	69
Figura 3.2	Metodología de medición de conductividad eléctrica	70
Figura 3.3	Reactores anaerobios para condiciones termofílicas (configuración parcial)	73
Figura 3.4	Reactores anaerobios para condiciones termofílicas	73
Figura 3.5	Apariencia de los lodos para adaptación	74
Figura 3.6	Configuración inicial del sistema intermitente de adaptación del	74
Figura 3.7	Configuración del sistema intermitente de adaptación del lodo con alimentación de vinazas al 50%	75
Figura 3.8	Reactores en proceso de limpieza e inoculación	79
Figura 3.9	Sistema de medición de metano por Mariotte	79
Figura 3.10	Sólidos suspendidos volátiles proveniente de un reactor anaerobio	80
Figura 3.11	Cromatógrafo de gases Fisher Gas Partitioner Model 1200 empleado en las pruebas de actividad metanogénica	81
Figura 4.1	Valor de pH de los reactores en la etapa con 70% de vinazas, 3g de NaHCO_3/L y 30% agua de la llave	84
Figura 4.2	Valor de pH y temperatura en R1	88
Figura 4.3	Valor de pH y temperatura en R2	88
Figura 4.4	Valor de pH y temperatura en R3	89
Figura 4.5	Porcentajes de remoción de DQO	90

Figura 4.6	Alcalinidad y factor alfa en R1	91
Figura 4.7	Alcalinidad y factor alfa en R2	91
Figura 4.8	Alcalinidad y factor alfa en R3	92
Figura 4.9	Sulfuros a la salida de los reactores	93
Figura 4.10	Efecto de la dilución en la constante de rapidez de metanogénesis en el tratamiento anaerobio de vinazas	100
Figura 4.11	Linealización de la ecuación de Arrhenius para obtener la energía de activación <i>Ea</i>	101
Figura 4.12	Determinación gráfica de las constantes cinéticas	103
Figura F.1	Gráfico de medias para el valor de pH de los dos lotes de vinazas empleados	130
Figura F.2	Gráfico de medias para el valor de DBO de los dos lotes de vinazas empleados	131
Figura F.3	Gráfico de medias para el valor de DQO de los dos lotes de vinazas empleados	132
Figura F.4	Gráfico de medias para el valor de sólidos de los dos lotes de vinazas empleados	133
Figura F.5	Gráfico de medias para el valor de cloruros y sulfuros de los dos lotes de vinazas empleados	134
Figura F.6	Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicados para la DQO en la vinaza de alimentación	135
Figura F.7	Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicados para la DQO en la corriente de salida de R1(45°C)	135
Figura F.8	Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicados para la DQO en la corriente de salida de R2(55°C)	136
Figura F.9	Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicados para la DQO en la corriente de salida de R3(65°C)	136
Figura F.10	Gráfico de medias para el valor de producción de metano teórico y medido experimentalmente por el sistema Mariotte	137
Figura F.11	Gráfico de medias para el valor de p de AME con dos sustratos diferentes (Vinazas y Ácido acético)	137
Figura F.12	Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicados para la DQO para R1 en determinación de constantes cinéticas	138
Figura F.13	Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicados para la DQO para R2 en determinación de constantes cinéticas	138
Figura F.14	Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicados para la DQO para R3 en determinación de constantes cinéticas	139

LISTA DE TABLAS

	<i>Pág.</i>
Tabla 1.1. Cifras de la producción mundial de azúcar	18
Tabla 2.1. Constantes de los modelos cinéticos	50
Tabla 2.2. Constantes cinéticas de degradación anaerobia mesofilica de compuestos orgánicos	53
Tabla 2.3. Energía de activación para sistemas anaerobios	57
Tabla 2.4. Constantes de velocidad de metanogénesis K_H	58
Tabla 2.5. Evolución histórica del uso de los reactores UASB I	59
Tabla 2.6. Evolución histórica del uso de los reactores UASB II	60
Tabla 2.7. Evolución histórica del uso de los reactores UASB III	60
Tabla 2.8. Evolución histórica del uso de los reactores UASB IV	61
Tabla 2.9. Parámetros cinéticos de los lodos de los reactores de 1.6 L evaluados con vinazas en viales	62
Tabla 2.10 Rapidez de reacciones obtenidas para la producción de CH ₄ y H ₂ S en pruebas en viales	62
Tabla 2.11 Energías de activación obtenidas para la producción de CH ₄ y H ₂ S en pruebas en viales	63
Tabla 2.12 Características físico-químicas de la vinaza	64
Tabla 2.13 Caracterización de las vinazas alrededor del mundo	65
Tabla 2.14 Caracterización de vinazas incluyendo metales	66
Tabla 2.15 Actividad metanogénica específica de Cabirol et al (2003)	68
Tabla 3.1. Parámetros de seguimiento	78
Tabla 4.1. Caracterización de las vinazas	82
Tabla 4.2. Determinación de elementos y metales en las vinazas utilizadas	82
Tabla 4.3. Actividad metanogénica específica para los lodos floculentos y granular	83
Tabla 4.4. Porcentaje de remoción de DQO en el período de enero a mayo de 2006	85

Tabla 4.5	Alcalinidad de los reactores anaerobios en el período de enero a mayo de 2006	85
Tabla 4.6	Factor (α) de los reactores anaerobios en el período de enero a mayo de 2006	86
Tabla 4.7	Datos generales de los lodos para adaptación	86
Tabla 4.8	Generación de metano en los sistemas intermitentes	87
Tabla 4.9	Porcentajes de remoción de DQO	90
Tabla 4.10	Valores promedio de sólidos en todas sus formas	93
Tabla 4.11	Volumen de metano medido por el sistema Mariotte y volumen teórico producido en base a la remoción de DQO en R1	94
Tabla 4.12	Volumen de metano medido por el sistema Mariotte y volumen teórico producido en base a la remoción de DQO en R2	95
Tabla 4.13	Volumen de metano medido por el sistema Mariotte y volumen teórico producido en base a la remoción de DQO en R3	96
Tabla 4.14	Desviaciones estándares de la producción de metano	97
Tabla 4.15	Sólidos suspendidos de los lodos anaerobios a las tres temperaturas de operación	98
Tabla 4.16	Volumen utilizado de sustrato a cada una de las tres temperaturas	98
Tabla 4.17	Actividad metanogénica específica para vinazas y ácido acético	98
Tabla 4.18	Constantes de rapidez de reacción para metanogénesis	99
Tabla 4.19	Comparación de constantes de rapidez de reacción para metanogénesis con esta investigación	99
Tabla 4.20	Datos empleados para la obtención gráfica de la energía de activación (E_a)	100
Tabla 4.21	Datos de DQO y sólidos empleados en el cálculo de K_s y k	102
Tabla 4.22	Datos empleados en la obtención de las constantes cinéticas K_s y k	102
Tabla 4.23	Constantes cinéticas K_s y k para la degradación de vinazas diluidas en un 50%	103
Tabla A1.1	Elaboración de la curva de calibración para DQO	109
Tabla B1.	Parámetros de análisis para determinar elementos en las vinazas	117
Tabla D2.1	Obtención de K_H por solver para la temperatura de 45°C	126
Tabla D2.2	Obtención de K_H por solver para la temperatura de 55°C	126

Tabla D2.3	Obtención de K_H por solver para la temperatura de 65°C	127
Tabla E1.	Datos del cálculo cinético de K_s y k para R1 (45°C)	128
Tabla E2.	Datos del cálculo cinético de K_s y k para R1 (55°C)	128
Tabla E3.	Datos del cálculo cinético de K_s y k para R1 (65°C)	129
Tabla F1.	Determinación del valor de pH para los lotes de vinazas empleados	130
Tabla F2.	Contraste múltiple de rango para pH según vinaza	130
Tabla F3.	Determinación de DBO para los lotes de vinazas empleados	131
Tabla F4.	Contraste múltiple de rango para DBO según vinaza	131
Tabla F5.	Determinación de DQO para los lotes de vinazas empleados	132
Tabla F6.	Contraste múltiple de rango para DQO según vinaza	132
Tabla F7.	Valores de sólidos obtenidos para las vinazas empleadas	133
Tabla F8.	Contraste múltiple de rango para sólidos según vinaza	133
Tabla F9.	Valores de cloruros y sulfuros obtenidos para las vinazas empleadas	134
Tabla F10.	Contraste múltiple de rango para cloruros y sulfuros según vinaza	134

RESUMEN

La caña de azúcar constituye un renglón fuerte para la economía mexicana y de ésta se obtienen productos como el azúcar refinada y estándar. Este proceso genera a la par subproductos que en la mayoría de los casos no son reutilizables y entre ellos se tienen a las melazas, las cuales constituyen la materia prima de la industria destiladora para la generación de alcohol etílico utilizando procesos fermentativos. Para la concentración del etanol se utilizan las diferencias entre los puntos de ebullición del agua y del alcohol, empleando sistemas de torres de destilación en las cuales se genera un nuevo subproducto proveniente de las torres destiladoras. Esta corriente tiene una temperatura entre 85 y 88°C y es conocida como vinaza. El alto índice de generación de vinazas en la industria alcoholera y el alto impacto ambiental que éstas tienen han llevado a buscar alternativas de procesamiento de estos efluentes con el fin de obtener productos utilizables en cualquier campo, ya sea agrícola o de generación de energía. La presente investigación utiliza sistemas de depuración anaerobia para tratar las vinazas las cuales tienen una alta concentración de carga orgánica medida en demanda química de oxígeno soluble (DQO_s) alrededor de 60000 mg L⁻¹ y concentración de sulfatos de 8000 mg L⁻¹ y de esta manera llegar a obtener un modelamiento para la producción de metano mediante la utilización de reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente, RALLFA (*UASB*, por sus siglas en inglés); basados en la ecuación de Monod y el efecto de llevar a cabo la actividad metanogénica a tres temperaturas de operación (45, 55 y 65°C) fundamentado en la ecuación de Arrhenius. El trabajo fue dividido en cinco etapas: 1) Adaptación de lodo anaerobio proveniente de una empresa petroquímica en reactores del tipo RALLFA con volumen total de 2.7 L a vinazas diluidas al 50% con agua de la llave, una carga orgánica final de 7.5 kg DQO m⁻³ d⁻¹ y una concentración de DQO de 60000 mg L⁻¹ a las tres temperaturas de operación con un TRH de 7 días. Se obtuvieron remociones de DQO soluble en los tres reactores alrededor del 50% los valores alcanzados de alfa alcalinidad en períodos de estabilidad se encuentran cercanos a 0.2; 2) Realización de pruebas de actividad metanogénica específica con ácido acético para probar dos lodos anaerobios uno proveniente de la planta petroquímica y otro del reactor a 65°C; 3) Determinación de la actividad metanogénica específica con ácido acético y vinazas para evaluar los lodos anaerobios a las tres temperaturas de operación, dos ya estables (45 y 55°C) y uno en proceso de adaptación (65°C) usando vinazas diluidas al 50%; 4) Aplicación de la ecuación de Arrhenius a la metanogénesis en la biomasa de los reactores con vinazas diluidas en un 50% utilizando una reproducción del sistema a nivel de viales, basado en la técnica de actividad metanogénica específica empleada para condiciones óptimas de metanogénesis (35°C) a las condiciones de operación. Se obtuvieron valores para la velocidad de metanogénesis K_H de 0.033, 0.044 y 0.059 d⁻¹ y empleando un método gráfico se obtuvo una E_a de 25.1 kJ/kgmol; 5) Determinación de los parámetros cinéticos K_s y k , empleando el modelo cinético de Monod a las tres temperaturas de operación obteniendo los valores de k o tasa máxima de utilización de sustrato por unidad de masa de microorganismos (d⁻¹) y K_s o constante de velocidad media en gDQO L⁻¹ a 45°C de 0.101 y 113.8, a 55°C de 0.090 y 77.76 y, a 65°C de 0.048 y 51.57, respectivamente.

Palabras clave: Constantes cinéticas, degradación anaerobia termofílica, vinazas de caña

ABSTRACT

Sugarcane has a strong participation on the Mexican economy and from it products like standard and refined sugar are obtained. This process generates by-products than in most cases are not reusable. Among the reusable ones are molasses that constitute the raw material for ethyl alcohol production through fermentation and distillation using the differences between boiling points of water and alcohol in the distillation towers. A new by-product is generated from the distillation towers. This stream has relatively high temperatures, between 70 and 85°C, and it is called vinasses. These effluents are produced in high amounts and its environmental impact around ethyl alcohol factories has led to seek alternative processing systems in order to obtain products usable in any field, whether agricultural or for power generation. This research uses anaerobic purification systems to treat vinasses which have a high organic matter contents measured as chemical oxygen demand (DQOs), around 120000 mg L⁻¹ and sulfate concentration of 8000 mg L⁻¹, to obtain modeling kinetic constants for the production of methane using upflow anaerobic sludge blanket reactors, UASB (RALLFA, in Spanish), based on the Monod equation and the use of specific methanogenic activity (SMA) at three operating temperatures (45, 55, and 65°C) based on the Arrhenius equation. The investigation was divided into five stages: 1) Adaptation of anaerobic sludge from a petrochemical company in UASB reactors with total volume of 2.7 L, to using a 50% diluted inflow of vinasses, adjusting pH to 7 with sodium bicarbonate, with a hydraulic residence time of 7 days, and an organic load of 7.5 kg COD m⁻³d⁻¹ and a COD concentration of 60000 mg L⁻¹ that were performed at the three operating temperatures. Data indicate that a similar average removal is found independently of the temperature (around 46%) in a lapse of five months of continuous operation. Concerning alpha alkalinity values, steady stage conditions were taken when its values were around 0.22; 2) Tests of specific methanogenic activity with acetic acid to evaluate two anaerobic sludge samples, one adapted to diluted vinasses at 65°C and the other one fresh from a petrochemical plant, were carried out; 3) Tests of specific methanogenic activity with acetic and vinasses to evaluate anaerobic sludge from two of the reactors (45, 55°C) and from a reactor in process of stabilization at 65°C; 4) Implementation of the Arrhenius equation to methanogenesis in biomass process of adaptation to vinasse diluted by 50% using reproduction system on vials level, based on the technique used for specific methanogenic activity optimum methanogenesis (35°C) operating conditions. Data obtained for the rate of methanogenesis K_H were 0.033, 0.044, and 0.059 d⁻¹ for 45, 55, and 65°C. Using a graphical method, an E_a of 25.1 kJ kgmol⁻¹ was determined; 5) Determination of kinetic parameters K_s and k using Monod kinetic model at the three operating temperatures were calculated. The k values (maximum substrate utilization rate per unit microbial mass, d⁻¹) and K_s Monod biorate constant at half the maximum rate (g COD L⁻¹) at 45°C were 0.101 and 113.8, at 55°C were 0.090 and 77.76, and at 65°C were 0.048 and 51.57, respectively.

Key words: Kinetic constants, thermophilic anaerobic degradation, sugarcane vinasses

1. PROBLEMÁTICA

A través del tiempo, la agricultura ha sido una actividad de gran importancia estratégica para la autosuficiencia y riqueza de una nación. La agricultura industrial es aquella que por las magnitudes de producción provee de cantidades suficientes para obtener beneficios por encima de las cantidades mínimas necesarias para la subsistencia de una región o grupo de personas. Tal es el caso de la caña de azúcar que poco a poco ha llegado a convertirse en bastión fundamental para países en desarrollo.

La caña de azúcar es originaria de la India, especialmente del territorio conocido con el nombre de Bengala, situado entre la parte sur de los montes del Himalaya y al norte del golfo de Bengala en la desembocadura del Ganges.

El cultivo de la caña fue introducido primero en Persia, hacia el final del siglo V, por los árabes, en sus guerras de conquista y después en Egipto, Palestina y Siria. En Egipto la fabricación del azúcar se perfeccionó por los conocimientos químicos de los egipcios, que conocían aparatos para la filtración, destilación y cristalización y sabían clarificar los zumos de distintas planta; la ebullición y cristalización repetidas, que son procedimientos poco económicos, por las pérdidas de azúcar fueron substituidos por una operación en que se dejaba fluir el jarabe y por la eliminación lenta del residuo excedente por el agua. Se debe considerar a los egipcios como los descubridores de la refinación del azúcar y como maestros de los demás pueblos, incluso de los chinos.

Los árabes difundieron el cultivo de la caña por la costa norte de África, reinos hispano-árabes de Granada, Valencia y Murcia y, después, Sicilia.

En su segundo viaje a las Indias, Colón llevó caña de España a Santo Domingo, donde prosperó fácilmente. En 1518 existían ya 18 fábricas de zumo y, en 1535, contaban con instalaciones para su concentración. El cultivo de caña se extendió pronto de Santo Domingo a Cuba, México y más tarde a Perú. Hacia el año 1600 la producción de azúcar de caña de América tropical constituía la industria mayor del mundo en aquella época (Observatorio Agrocadenas Colombia, 2006).

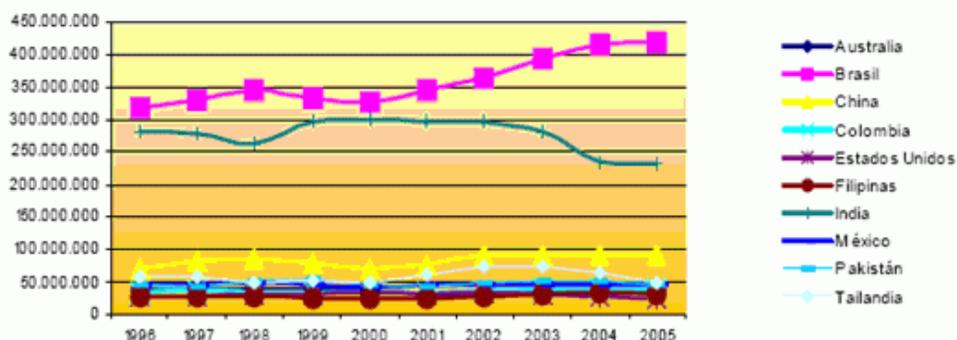
La producción de caña de azúcar a nivel mundial cuenta con tres países latinoamericanos posicionados en los 10 primeros lugares con un porcentaje de participación del 39.06% en el año 2005, distribuidos de la siguiente manera: En el primer lugar, Brasil con el 32.49%, en el sexto lugar México con el 3.49% y en el séptimo lugar Colombia con el 3.08%, lo cual muestra claramente la importancia de esta industria en su desarrollo económico (Observatorio Agrocadenas Colombia, 2006). La Figura 1.1 muestra la tendencia mundial de producción de azúcar y la Tabla 1.1 proporciona los estimados en cifras para cada los principales países del mundo y con especial énfasis en los países latinoamericanos, así como la participación de cada uno de ellos en el mercado mundial, estos datos están basados en cifras tomadas de la FAO (2006), que es la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.

Tabla 1.1 Cifras de la producción mundial de azúcar

Ord.	Pais	1996	1997	1998	1999	2000
1	Brasil	317.105.984	331.612.672	345.254.976	333.848.000	327.704.992
2	India	261.100.000	277.560.000	262.090.000	295.729.984	299.230.016
3	China	71.260.196	83.012.389	87.203.679	78.108.146	69.298.730
4	Tailandia	57.699.000	59.508.000	50.331.568	52.813.000	49.563.000
5	Pakistán	45.229.700	41.998.400	53.104.200	55.191.100	46.332.600
6	México	45.080.648	45.219.512	48.895.256	46.880.000	44.100.000
7	Colombia	35.000.000	36.000.000	34.000.000	32.300.000	32.750.000
8	Australia	37.436.000	39.938.000	41.064.000	39.699.000	38.164.688
9	Filipinas	26.592.000	26.813.000	26.287.000	23.780.088	24.491.000
10	Estados Unidos	26.727.000	28.751.000	31.486.000	32.022.700	32.762.070
13	Argentina	17.600.000	19.450.000	19.400.000	16.700.000	16.000.000
17	Cuba	41.300.000	38.900.000	32.800.000	34.000.000	36.400.000
18	Venezuela, RB de	6.423.820	6.428.960	7.157.950	7.308.830	7.563.080
19	Perú	6.700.000	7.500.000	6.300.000	6.900.000	7.750.000
23	Ecuador	6.700.000	5.000.000	7.000.000	5.562.309	5.402.380
29	Bolivia	3.927.832	3.445.583	3.502.102	3.695.811	3.601.748
34	Paraguay	2.736.000	2.795.000	2.800.000	2.872.271	2.244.900
75	Uruguay	190.200	208.240	167.228	137.800	149.500

Ord.	Pais	2001	2002	2003	2004	2005	Particip.*	Tasa cr.
1	Brasil	345.942.016	363.720.992	396.012.000	416.256.000	420.120.992	32,49%	3,10%
2	India	295.600.000	297.208.000	281.600.000	236.180.000	232.320.000	17,96%	-1,51%
3	China	77.965.653	92.202.611	91.930.479	90.979.000	92.130.000	7,12%	2,32%
4	Tailandia	60.013.000	74.258.000	74.259.000	64.973.804	49.572.000	3,83%	1,46%
5	Pakistán	43.606.300	48.041.600	52.055.800	53.419.000	47.244.100	3,65%	0,91%
6	México	47.250.000	45.635.300	45.126.500	45.126.500	45.126.500	3,49%	-0,25%
7	Colombia	33.400.000	35.800.000	39.000.000	40.020.000	39.849.240	3,08%	1,77%
8	Australia	31.228.000	32.260.000	36.995.000	36.993.000	38.246.000	2,96%	-1,02%
9	Filipinas	24.961.700	27.202.900	30.000.000	32.500.000	31.000.000	2,40%	2,31%
10	Estados Unidos	31.376.800	32.253.140	30.714.550	26.320.150	25.803.960	2,00%	-0,65%
13	Argentina	16.200.000	19.250.000	19.250.000	19.300.000	19.300.000	1,49%	0,71%
17	Cuba	32.100.000	34.700.000	22.100.000	24.000.000	12.500.000	0,97%	-9,80%
18	Venezuela, RB de	7.899.580	8.525.820	9.950.078	8.814.248	8.800.000	0,68%	4,36%
19	Perú	8.000.000	9.100.000	9.650.000	9.680.000	7.100.000	0,55%	3,21%
23	Ecuador	5.653.940	5.669.900	4.623.025	6.590.111	5.656.608	0,44%	-0,95%
29	Bolivia	3.859.310	4.735.098	4.872.080	4.800.000	4.800.000	0,37%	3,99%
34	Paraguay	2.396.180	3.209.832	3.260.475	3.637.000	3.820.020	0,30%	3,64%
75	Uruguay	176.500	187.700	116.200	181.500	181.500	0,01%	-1,28%

Fuente: Observatorio Agrociencias Colombia, 2006



Fuente: Observatorio Agrociencias Colombia, 2006

Figura 1.1. Producción mundial de azúcar (1996-2005)

Más de cien países producen azúcar a nivel mundial, 74% de la cual es hecha a partir de caña de azúcar, principalmente en zonas tropicales entre los Trópicos de Cáncer y

Capricornio, con un creciente aumento de la producción a partir de remolacha en el hemisferio norte (Casanova, 2005).

A la par de la producción de azúcar se generan otros productos como las melazas que contienen una gran cantidad de azúcares invertidos (glucosa y fructosa) y que son utilizados para la producción de etanol y CO₂ en un proceso que genera grandes cantidades de aguas residuales conocidas como vinazas (Manuelita, 2008).

Plinio Nastari, director de la consultora internacional Datagro de Brasil señala que, en la actualidad, el 46% del etanol que se elabora en el mundo se obtiene del azúcar y el 54% restante de granos, como el maíz. La cifra estimada de la producción mundial de etanol para el presente año ronda los 49700 millones de litros y, de acuerdo con datos de las consultoras internacionales Datagro y Fo-Licht, los principales productores son Estados Unidos con el 36.3%; Brasil con 35.6%; China el 8.5% e India que ronda los 3.8%, siendo Brasil es el mayor productor y exportador mundial de etanol elaborado a base de caña de azúcar (Datagro, 2006).

A continuación se presenta una descripción de los procesos productivos del azúcar y del etanol, la cual conducirá a encontrar el entorno en el que se presenta la generación de las vinazas como aguas residuales, entendiendo su alto impacto ambiental y la necesidad de buscar usos para ella que permitan obtener productos reutilizables en cualquier ámbito (Cordovés-Herrera y Valdés-Jiménez, 2006). Esta investigación se enfocará a la generación de biogás de alto contenido energético a través del tratamiento con reactores anaerobios.

1.1 Proceso de producción de azúcar a partir de la caña de azúcar

La caña de azúcar es una gramínea perenne con fácil adaptación a climas tropicales y temperaturas superiores a 20°C, dependiendo de la variedad la planta puede llegar a medir entre 3 y 5 m de altura, y de cada siembra inicial se puede llegar a obtener 6 cosechas. El procesamiento de la caña de azúcar en los ingenios permite obtener diversos productos, bagazo, cachaza, jarabe, miel final, azúcar crudo, blanco y refinado. Adicionalmente, la caña de azúcar también puede ser empleada en la producción de panela, la cual se obtiene mediante el uso de tecnologías agrícolas e industriales más rudimentarias que las empleadas en la producción de azúcar (Figura 1.2).

1.1.1 Proceso de producción de azúcar cruda

a) Preparación de suelos, cosecha y recolección

En esta primera parte llevada a cabo fuera de los ingenios, el primer factor a tener en cuenta es la preparación del suelo en el cual se realiza la siembra, tratando de utilizar suelos franco arcillosos de buen drenaje. El control integrado de las plagas y un óptimo tiempo de maduración llevado a cabo con el control de grados Brix del jugo al interior de los tallos de la caña, conducen a resultados favorables en cuanto a rendimiento y

productividad se refiere. Una vez cortada la caña es transportada a los ingenios para su procesamiento.

b) Recepción y preparación de la caña

La caña que llega a la fábrica se pesa en las básculas y luego se descarga sobre las mesas de alimentación, con grúas tipo hilo. Luego, se dispone directamente en las mesas lavadoras para dirigirla al conductor que alimenta las picadoras.

La caña lavada se transporta por un sistema de conductores hacia las picadoras, que son máquinas colocadas encima de estos, accionados por turbinas de vapor provistas de cuchillas que giran con velocidades entre 600 y 720 rpm, bajo las cuales se pasa la caña (Incauca, 2008).

c) Molienda

La caña es sometida a un proceso de preparación que consiste en romper o desfibrar las celdas de los tallos por medio de picadoras. Luego, unas bandas transportadoras la conducen a los molinos, donde se realiza el proceso de extracción de la sacarosa, consistente en exprimir y lavar el colchón de bagazo en una serie de molinos.

El bagazo sale del último molino hacia las calderas, para usarlo como combustible o al depósito de bagazo, de donde se despacha para usarlo como materia prima en la elaboración de papel (Manuelita, 2006).

d) Clarificación

El jugo proveniente de los molinos, una vez pesado en las básculas es ácido y turbio. Pasa al tanque de alcalinización, donde se reduce su grado de acidez y se evita la inversión de la sacarosa, mediante la adición de una lechada de cal.

El jugo alcalinizado se bombea a los calentadores, donde se eleva su temperatura hasta un nivel cercano al punto de ebullición para coagular albúminas y algunas grasas, ceras y gomas y luego pasa a los clarificadores continuos, diseñados para remover las impurezas tanto solubles como insolubles, en tanto que el jugo claro que sobrenada es extraído por la parte superior. Los sólidos decantados pasan a los filtros rotatorios al vacío, los cuales están recubiertos con finas mallas metálicas que dejan pasar el jugo, pero retienen la cachaza, nombre dado a los sólidos precipitados en el clarificador, que puede ser usada como abono en la plantación de caña.

En algunos casos existe un sistema conocido como sulfitación, para lograr una disminución de pardeamientos u oscurecimiento enzimático del jugo por inactivación de las enzimas que lo provocan, quemando azufre en presencia de aire y mezclando el SO₂ resultante con el jugo o guarapo en una torre en cascada a contracorriente (Jiménez-Ambriz et al., 1995). A

esta azúcar se le conoce como estándar o morena, ya que no es sujeta a proceso de refinación.

e) Evaporación

Operación en la que se concentra el jugo, de 12 a 15°Brix, hasta la obtención de un jarabe de 60-65°Brix, aproximadamente. Los grados Brix se refieren al contenido de sólidos totales en el jugo o porcentaje de sólidos solubles totales contenidos en una muestra de jugos (Incauca, 2008).

La evaporación de efecto múltiple es el medio principal que se utiliza para economizar el consumo de energía. El vapor procedente de una fuente exterior se condensa en el elemento calentador del primer efecto. El vapor desprendido del jugo en este evaporador se conduce al elemento calentador del segundo efecto, condensándose y cediendo su calor al jugo.

Esto se puede repetir para muchos efectos. Se emplean uno o dos evaporadores adicionales a los cuales se les crea vacío suficiente, de tal manera que se logren disminuir los puntos de ebullición de los jugos en cada evaporador. En este paso se le extrae el 75% del contenido de agua al jugo, para obtener el jarabe o meladura (Manuelita, 2006).

f) Clarificación secundaria

Durante la evaporación, las sales disueltas en el jugo se precipitan y quedan en parte en suspensión en el jugo enturbiándolo. La meladura se somete a una segunda clarificación por flotación con ácido fosfórico, cal, agentes floculantes y aire para separarle la espuma que contiene los sólidos que no son azúcares y que no se eliminaron en la clarificación inicial de jugo alcalinado. Este paso del proceso es realizado en la obtención de azúcar blanco; cuando no se efectúa, se produce el llamado “azúcar crudo” (Incauca, 2006).

g) Cristalización

La sacarosa contenida en la meladura cristaliza llevándola hasta el nivel metaestable de sobresaturación por evaporación al vacío en evaporadores de simple efecto (tachos). La sobresaturación se logra por evaporación o enfriamiento (Incauca, 2006).

El azúcar de sobresaturación forma cristales (del sistema monoclinico) y el azúcar no cristizable (junto con alguna cantidad de sacarosa) se constituyen en un fluido viscoso y oscuro denominado miel. El material resultante que contiene líquido (miel) y cristales (azúcar) se denomina masa cocida con un Brix cercano a 92° (Incauca, 2006).

La formación de los cristales es ayudada por la acción de pequeñas partículas finísimas, cristalinas que, al contacto con las soluciones azucaradas sobresaturadas, proporcionan un área de adherencia para el azúcar presente en dichas disoluciones. Estas partículas son

denominadas pie de semilla o “slurry” y son agregadas en pequeñas cantidades junto con alcohol, el cual no disuelve los cristales y se evapora rápidamente.

Un ciclo normal de cocción comprende: preparación del cristalizador que utiliza vapor, conocido como tacho, para la cocción, llenado parcial del tacho con jarabe, concentración del jarabe a sobresaturación, formación del grano, desarrollo del grano, periodo de agotamiento, concentración de la masa, dilución de la masa y descarga en el cristalizador que utiliza agua de enfriamiento, conocida como malaxador y que tiene un dispositivo de agitación para promover la cristalización (Manuelita, 2006).

Los productos generalizados de esta etapa son tres masas cocidas que contienen esencialmente líquido (miel) y cristales (azúcar). A éstas se les conoce con el nombre de A, B y C y son productos de cristalizaciones sucesivas llamas templeas. En cada una de ellas se generan mieles a las cuales se les da un tratamiento particular dependiendo de la templa de procedencia. Generalmente, los cristales de cada templa tienen diferente tamaño, siendo los C los más pequeños y los que se usan para la “siembra” y la producción de los cristales A (Manuelita, 2006).

h) Centrifugación

Los cristales de azúcar se separan de la miel restante en las centrífugas. Éstas son cilindros que giran a gran velocidad y están recubiertos con una malla fina. El líquido se escapa por entre la malla y los cristales quedan atrapados dentro de las centrífugas y luego se lavan con agua. Las mieles vuelven a los tachos, o bien se utilizan como materia prima para la producción de alcohol etílico en la destilería. El azúcar de primera calidad (A), retenido en las mallas de las centrífugas, se disuelve con agua caliente y se envía a la refinería, para continuar el proceso (Manuelita, 2006). Si el jugo fue sulfitado se envía a secado y se vende como azúcar estándar.

i) Secado

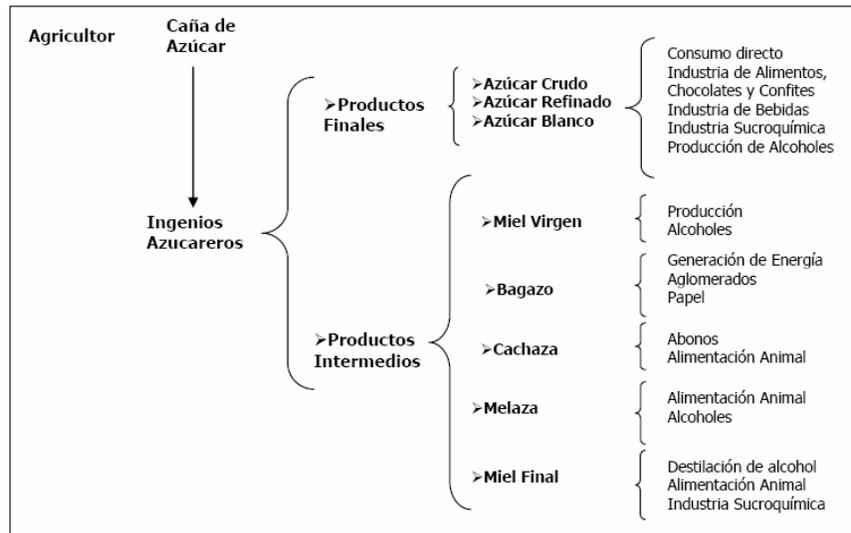
El azúcar húmeda que sale de centrífugas (1.0% de humedad), se transporta por elevadores y bandas para alimentar a las secadoras que son tambores rotatorios inclinados, en los cuales el azúcar se coloca en contacto con el aire caliente que entra en contracorriente. El aire se calienta con vapor en intercambiadores tipo radiador y se introduce a la secadora con ventiladores. El azúcar seco sale por el extremo opuesto de la secadora, donde se instala una malla clasificadora para remover los terrones de azúcar (Inazúcar, 2006).

j) Enfriamiento

El azúcar seca (0.035% de humedad) con temperatura cercana a 60°C se pasa por las enfriadoras rotatorias inclinadas que llevan aire frío en contracorriente, en donde se disminuye su temperatura hasta 40-45°C para conducirla a las tolvas de empaque (Incauca, 2006).

k) Empaque

El azúcar se empaqueta en diferentes pesos y presentaciones dependiendo del mercado y se despacha a la bodega de producto terminado para su posterior venta.



Fuente: Espinel (2005)

Figura 1.2. Productos obtenidos del procesamiento de la caña de azúcar

1.1.2 Proceso de refinación del azúcar

Mediante la refinación se eliminan o reducen las materias coloidales, colorantes o inorgánicas que el licor pueda contener, parte de azúcar blanco y/o crudo provenientes de la producción de azúcar cruda y comprende las siguientes etapas (Incauca, 2006):

a) Fundido

El azúcar crudo o mascabado o verde llega por una serie de conductores y elevadores, se pesa y se alimenta al “fundidor”. Allí se le adiciona agua caliente, proveniente de los condensados de las líneas de evaporación, para formar una disolución de azúcar con una concentración entre 60-65°Brix a la cual se le denomina licor fundido. Este material se pasa por tamices metálicos para remover las impurezas sólidas y se bombea a las etapas de clarificación (Incauca, 2006)

b) Clarificación

El licor fundido se calienta con vapor en intercambiadores de tubo y coraza hasta una temperatura de 85°C y se dispone al tanque de reacción donde se le adiciona ácido fosfórico, sacarato de calcio, aire micronizado y floculante. Este proceso permite la

flotación de espuma que se forma por la acción entre las impurezas y los aditivos químicos, espuma que posteriormente se remueve dejando un licor clarificado de alta calidad. El licor clarificado posee un pH entre 6.8 y 7.5 (Incauca, 2006).

c) Decoloración y filtración

Cuando la refinería trabaja con azúcar crudo, se requiere una decoloración con carbón activado en polvo. Éste se adiciona en tanques de reacción donde se permite un tiempo de contacto entre 20-30 min, se somete a filtración a presión en filtros prensa a presiones entre 206.8 y 344.7 kPa (50 y 30 psi) para la remoción del carbón. Este proceso permite obtener un licor de bajo color y alto brillo denominado licor fino (Incauca, 2006).

La torta de cachaza resultante de la filtración se lava (para recuperar reactivos químicos) y vuelve al tanque de alcalinización. El carbón activado se recupera secándolo y eliminando la materia orgánica absorbida como CO₂ en un horno (Incauca, 2006).

d) Cristalización

El licor clarificado y decolorado se bombea hacia los tanques de alimentación de los tachos. El licor se evapora hasta llevarlo al nivel metaestable de saturación y se cristaliza con una suspensión alcohólica para formar los cristales de sacarosa. El material resultante de este proceso se denomina masa cocida y es una mezcla de sirope (miel) y cristales (azúcar) que se concentra por evaporación hasta 90°Brix, descargando la mezcla en los recipientes. El trabajo de cristalización y agotamiento de licores y mieles, se puede realizar empleando el sistema de 1 ó 4 cristalizaciones, conocidas como cocimientos, para lograr una mayor recuperación de sacarosa y obtener azúcares de alta calidad (Incauca, 2006).

e) Centrifugación

El azúcar se separa del licor madre o sirope en centrifugas intermitentes (tipo “batch”, por su nombre en inglés), completamente automatizadas, quedando retenidos los cristales de azúcar en la malla interior de la centrifuga. Durante el centrifugado el azúcar se lava durante 10-20 segundos con agua caliente para remover la película de sirope que recubre los cristales y se descarga para llevarla a las secadoras. Los siropes se descargan a los tanques de almacenamiento y de allí se bombean a los tachos para someterla al proceso de agotamiento por evaporación y cristalización conjuntamente con el licor (Incauca, 2006).

f) Secado y enfriamiento

El azúcar sale de la centrifuga con un contenido de humedad alrededor del 1% y de allí se conduce por bandas y elevadores al secador-enfriador. Este equipo tiene una zona de secado con aire caliente en paralelo y una zona de enfriado con aire frío en contracorriente. El aire se calienta con vapor en el radiador y se introduce al secador rotatorio por medio de

un ventilador. El secador-enfriador posee un sistema lavador de gases para recuperar y disolver el polvillo de azúcar y reprocesarlo nuevamente. El azúcar sale del secador-enfriador con una humedad de 0.035% y una temperatura cercana a los 30°C para las operaciones de envasado (Incauca, 2006).

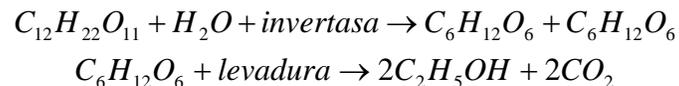
g) Envase

El azúcar refinado se conduce hacia las tolvas de envase por medio de transportadores elevadores que garantizan la completa protección contra la contaminación (Manuelita, 2006).

1.2 Proceso de producción de alcohol

La miel final que en el proceso productivo del azúcar crudo se envió a tanques de almacenamiento, es miel incristalizable a la que por los sistemas normales de cristalización no se le puede separar de manera rentable una mayor cantidad de sacarosa. Estas mieles están formadas por sacarosa, azúcares reductores, monosacáridos y las impurezas que no se pudieron separar de la cachaza (Jiménez-Ambriz et al., 1995).

La producción de alcohol etílico se basa en la fermentación de las mieles como resultado de la acción de las levaduras que en primera instancia invierten la sacarosa mediante la invertasa, para que las levaduras conviertan el azúcar invertido en alcohol y dióxido de carbono. Las reacciones que rigen este proceso y que fueron estudiadas por Pasteur, quien les puso el nombre de “fermentación”, son (Incauca, 2006):



El proceso consta de las siguientes etapas que tratan de enmarcar las principales operaciones llevadas a cabo en una destilería:

a) Fermentación

Esta etapa está dividida en las siguientes secciones:

- *Recepción, preparación y almacenamiento de la materia prima:* la materia prima se bombea desde la fábrica de azúcar a un tanque de pesaje de la miel requerida para el proceso. Esto se bombea a las tinajas de preparación donde se mezcla con agua para obtener una concentración de 24°Brix (Manuelita, 2006)
- *Preparación y propagación de las levaduras:* se utiliza la especie *Saccharomyces cerevisiae* como inóculo de la fermentación. Las levaduras sufren inhibiciones de sus funciones si se alcanzan concentraciones de alcohol que sobrepase el 10% en volumen, por esta razón se deben preparar diluciones que no alcancen este valor. La

levadura se debe desenvolver en medio ácido para ayudar a desdoblar la sacarosa e inhibir otras especies microbianas. En esta tina se agrega urea como fuente de nitrógeno para su reproducción, ácido sulfúrico para crear las condiciones ácidas y penicilina como antibiótico para evitar contaminaciones (Manuelita, 2006)

- *Fermentación:* La reacción de fermentación de la mezcla preparada es exotérmica, razón por la cual es necesario mantener en circulación agua de enfriamiento alrededor de las tinas de fermentación para evitar un incremento de la temperatura por encima de 35°C. Al finalizar la generación de gas en la tina se dice que el mosto está fermentado con una concentración de azúcares de 8°Brix (Manuelita, 2006)
- *Separación y regeneración de levaduras:* La utilización de levaduras de tipo autofloculantes permite su recuperación mediante su separación del vino por la parte superior de un sedimentador conocido como tanque de separación de levaduras y por el fondo las levaduras que son conducidas a los tanques de activación para regresar al proceso (Manuelita, 2006)

6) *Destilación*

La destilación puede definirse como una técnica para separar sustancias mezcladas en el estado líquido, considerando la diferencia entre sus puntos de ebullición. Este proceso consiste en la evaporación del líquido, condensación y recolección de las fracciones de los compuestos con distintos puntos de ebullición (Manuelita, 2006) (Figura 1.3).

La composición típica del mosto fermentado es (Manuelita, 2006):

Agua:	80 – 90%
Etanol:	4 – 8%
Glicerol:	0.4 – 0.6%
Ácido acético:	0.1 – 0.2%
Levadura:	0.7 – 1%
Materia orgánica:	5 – 10%
Otros:	2 – 3%.

La destilación se lleva a cabo en tres columnas:

- *Columna destrozadora o destiladora (columna de agotamiento):* En la primera columna el mosto entra por la parte superior previamente calentado por las vinazas que salen del fondo de la misma a una temperatura que oscila entre los 70 y los 90°C, cayendo a través de platos de agotamiento para separar por evaporación el alcohol. Las **vinazas** son el resultado de la fermentación del mosto una vez que se ha extraído el alcohol con contenidos de materia orgánica promedio, medidas como demanda química de oxígeno (DQO) de 120 g/L y con valores de pH de 3 a 4.5 y con un color café oscuro producido por los azúcares transformados a fenoles y

polifenoles durante la concentración y cristalización. Los vapores alcohólicos pasan a condensadores de donde se transportarán a la torre depuradora (Manuelita, 2006)

- *Columna depuradora (columna de enriquecimiento)*: Esta torre separa las impurezas de los vapores: éteres y alcoholes de menor punto de ebullición que el etanol (Manuelita, 2006)
- *Columna rectificadora*: esta columna tiene dos zonas, una de agotamiento y otra de enriquecimiento, donde se obtendrá alcohol con una pureza del 96% en volumen (fracción mol, antes del punto de azeotropía de la mezcla etanol-agua) y, por el fondo, agua. De la parte central de la columna se sacan pequeñas cantidades de alcohol con impurezas, conocidas como “de cola”, que son redestiladas posteriormente. El producto de interés sale varios platos debajo de la parte superior de la columna, y es condensado en un intercambiador para ser enviado a la deshidratación si se desea tener alcohol etílico anhidro (Manuelita, 2006)

c) *Deshidratación*

En este proceso lo que se realiza es la separación del agua que aún lleva el alcohol hasta obtener un producto de 99.5 de pureza, alcohol etílico deshidratado o anhidro, que es el que se usa como combustible de vehículos automotores o como aditivo de las gasolinas (Cordovés-Herrera y Valdés-Jiménez, 2006).

d) *Almacenamiento y despacho*

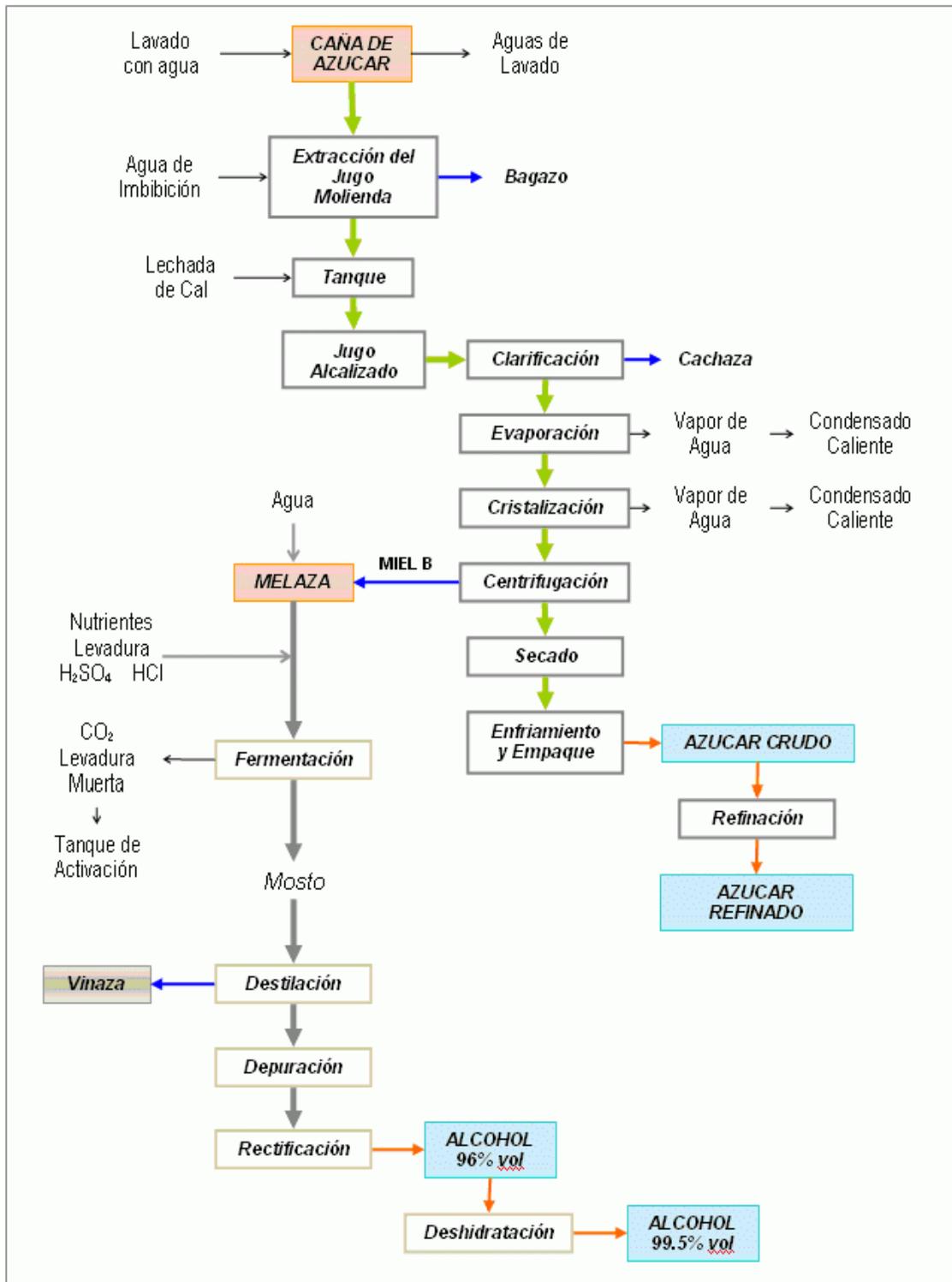
El alcohol es almacenado en tanques y dispuesto para su despacho a los diferentes consumidores (Manuelita, 2006).

1.3 *Planteamiento del problema*

El cultivo de caña de azúcar representa uno de los sectores agrícolas más importantes en México, contando con una participación del 3.49% de la producción mundial, convirtiéndose de esta manera, junto a Brasil y Colombia, en los tres países más importantes en este campo en el continente americano (Datagro, 2006).

Este puesto de privilegio ha permitido a México consolidar su procesamiento de este agro-producto hacia la obtención principalmente de azúcar (Datagro, 2006).

La problemática enfrentada por los países en vías de desarrollo para alcanzar un desarrollo industrial sostenido es sumamente compleja, especialmente a la luz del impacto que sobre el ambiente ejerce el sector industrial, y los ingenios azucareros no escapan a este problema.



Fuente: Modificado de Jiménez-Ambroz et al. (1995)

Figura 1.3. Procesos simultáneos de producción de azúcar y alcohol

En México en la actualidad se cuenta con 58 ingenios azucareros con presencia en 15 estados del territorio nacional, siendo Veracruz el de mayor importancia con 22 ingenios (Figura 1.4). Durante la zafra 2005/2006 el total de caña molida en el país fue de 47.3 millones de toneladas, lo cual generó una producción de azúcar total de 5.3 millones de toneladas y 1.8 toneladas métricas de melaza cuyo destino principal es la producción de alcohol en distintas calidades y a su vez para este año se produjeron 50000 m³ de alcohol (Unión Nacional de Cañeros, 2006) y según la unión agroindustrial cañera de Sao Pablo, se estima una producción mundial de 34400 millones de litros utilizados en tres formas principales: bebidas, industrial y como combustible.



Fuente: Unión Nacional de Cañeros (2006)

Figura 1.4. Ubicación geográfica de la agroindustria cañera en México

Las industrias alcohólicas consumen grandes cantidades de agua durante el procesamiento, generando efluentes líquidos y a la vez en su producción de etanol a partir de mostos fermentados o vinos generan altas cantidades de aguas residuales que, como ya se mencionó, se conocen como vinazas o derivados de vino. Las vinazas contienen grandes cantidades de materias orgánicas provenientes de las materias primas usadas durante la fermentación (Castro-González, 2004).

La generación de vinazas por cada litro de alcohol producido varía, dependiendo de muchos factores (desde el tipo de levaduras, su efectividad en producir etanol, la eficiencia de separación durante la producción de azúcar, etc.), dependiendo en gran parte del aprovechamiento de las materias primas. Por ejemplo, en Cuba se genera una proporción de 12 a 18 litros por cada litro de alcohol producido (Perdigón, 2005). En México se producen entre 12 y 14 litros (Castro-González, 2004).

En la literatura se encontró que, para la década de 1990, se tenía una producción de 840000 m³ a⁻¹ de vinazas (Jiménez-Ambríz et al., 1995). Teniendo en cuenta la cantidad de vinazas generadas y la producción de etanol del año anterior puede decirse que en México se generaron alrededor de 600000 m³ a⁻¹ de vinazas en 2005. Los parámetros fisicoquímicos de las vinazas son: contenido de compuestos orgánicos medidos como DQO entre 70000 y

150000 mg L⁻¹ y un pH de 4.3 (Jiménez-Ambriz et al., 1995; Rodríguez-Rivera, 1993) que, comparado con las aguas residuales que se vierten en las casas habitación, que tienen entre 400 y 800 mg DQO L⁻¹, son de 1000 a 2000 veces más contaminantes.

Las vinazas incrementan la temperatura del cuerpo receptor y disminuyen la cantidad de oxígeno disuelto disponible. Cuando no son neutralizadas pueden disolver algunos metales. La turbidez de los sólidos suspendidos, como las levaduras muertas, restringe la penetración de la luz. Los sólidos suspendidos presentes en la vinaza disminuyen la permeabilidad del suelo o la del lecho del río, obstruyendo su infiltración y provocando un proceso de degradación anaerobia que da como resultado olores desagradables (García et al., 1997; Rivas-Solórzano, 1996; Villatoro-Reséndiz, 1998). Si se vierten a suelos de cultivo los dañan, especialmente si estos últimos tienen buena calidad agrícola (Bautista-Zúñiga, 2000).

Las vinazas contienen materia orgánica abundante que incluye una cantidad considerable de fenoles y sus polímeros. Estos compuestos son difíciles de degradar biológicamente y poseen propiedades antimicrobianas y fitotóxicas que impiden el tratamiento eficiente por degradación microbiana, especialmente aerobia (Maestro-Durán et al., 1993; Sierra-Álvarez et al., 1988; Sorlini et al., 1986).

El empleo de las vinazas se ha diversificado tratando de encontrar la mejor opción garantizando la favorabilidad ambiental. La alta riqueza en minerales ha permitido llevar a cabo pruebas usando a las vinazas como complementos o enmiendas al suelo ya que cuentan con uno de los elementos fertilizantes más importantes, el potasio, en el cultivo de la caña de azúcar (Bautista-Zúñiga y Durán-de-Bazúa, 1998). A pesar de obtenerse mejoras en sus rendimientos, su uso ha estado limitado al tipo de suelo y, debido al bajo pH se limita su empleo a cantidades relativamente bajas que, comparadas, con los grandes volúmenes que se producen diariamente implica la necesidad de buscar otros usos. El bajo contenido de sólidos totales que fluctúa entre 8 y 10% también ha reducido su empleo cuando se trata de transportarlo, por el alto costo del flete.

Otra alternativa ha sido su uso directo como alimento en cerdos en crecimiento y acabado, mediante su concentración hasta 60°Brix. En este sentido se ha sustituido hasta 15% el grano de sorgo por vinaza concentrada sin afectar ningún indicador del comportamiento con respecto al tratamiento control. De igual forma, se ha sustituido el jugo de caña hasta un 20% por vinaza concentrada en cerdos de engorde sin ningún tipo de problemas en el comportamiento de los animales pero, igualmente, los niveles que pueden utilizarse están limitados (García et al., 1991).

En los últimos treinta años se han llevado a cabo pruebas de digestión o degradación anaerobia de las vinazas con el fin de obtener biogás que pueda ser utilizado como fuente de energía (metano) y emplearse como energético para producir vapor de agua para la fase de destilación, logrando así un ahorro significativo de combustible y, de esta manera, disminuir el impacto ambiental que una destilería genera (Bailey y Ollis, 1986).

La degradación anaerobia de este tipo de agua residual es el resultado del efecto de comunidades bacterianas que degradan los diferentes compuestos, generando un efluente que contiene una DQO más baja y grandes cantidades de nutrientes que son útiles para utilizarlo como complemento o enmienda de suelos y biogás compuesto principalmente por metano (CH_4), dióxido de carbono (CO_2) y, en menor cantidad, ácido sulfhídrico (H_2S) (Castro-González et al., 2004, 2005).

En estudios anteriores se ha observado el efecto de la temperatura en la actividad microbiana en reactores anaerobios, con el fin de establecer el comportamiento del proceso que llevan a cabo las bacterias metanogénicas y sulfato-reductoras, encontrando que al incrementar la temperatura, la producción de H_2S generado por las BSR no disminuyó, siendo una competencia por carbono para la producción de metano (Castro-González, 2004).

También se ha utilizado la ecuación de Arrhenius para observar la producción de CH_4 y H_2S (Castro-González y Durán-de-Bazúa, 2002), para validar la hipótesis de que al incrementar la temperatura se presenta un efecto positivo en la separación del metano de la solución, con respecto al H_2S , para el rango de temperatura utilizado, que fue entre 35-55°C (Castro-González, 2004). Por lo anterior se busca obtener las constantes cinéticas de la ecuación de Monod y la energía de activación basada en la ecuación de Arrhenius para la producción de metano durante la etapa dinámica de reactores anaerobios que tratan vinazas de caña operando a tres diferentes temperaturas, una de la cuales es 65°C poco estudiada en este campo.

1.4 Objetivo

Este proyecto tiene como objetivo principal evaluar la cinética de la degradación anaerobia termofílica (45, 55 y 65°C) de vinazas de caña a nivel de laboratorio.

1.5 Objetivos particulares

1. Adaptar tres reactores anaerobios trabajando a condiciones termofílicas con vinazas de caña diluidas al 50% con valores de DQO alrededor de 60000 mg L⁻¹.
2. Determinar la actividad metanogénica de los lodos empleados para el período de adaptación
3. Realizar pruebas de biodegradabilidad para los lodos adaptados a las tres temperaturas de operación.
4. Evaluar las constantes cinéticas de Monod y de la energía de activación de Arrhenius durante la etapa dinámica de reactores anaerobios termofílicos (45, 55 y 65°C) operando con vinazas de caña.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

En el primer capítulo se ha dado una breve explicación acerca del entorno productivo, económico, social y ambiental en el cual se desarrolla la cadena agroindustrial de la caña de azúcar y, al mismo tiempo, establece el problema de la generación de vinazas en las producciones de alcohol, al cual se le ha tratado de dar soluciones viables pero los primeros esfuerzos aún se han quedado a escala de estudio y no se han reproducido a nivel industrial que entregue soluciones ambientales e incluso económicas en este sector (Cordovés-Herrera y Valdés-Jiménez, 2006). Este capítulo se enfoca en su primera parte en conceptos fundamentales teóricos y, como complemento de esto, se presentan los estudios precedentes y su enfoque.

Tratando de encontrar salidas sostenibles a este problema, se han desarrollado estudios biotecnológicos utilizando diferentes procedimientos, siendo los procesos biológicos los de mayor implementación, al reunir condiciones de sostenibilidad, permitiendo la eliminación de varios contaminantes y algunos de ellos conllevan a la obtención de productos atractivos, aunque presentan alta sensibilidad por lo que todavía necesitan un seguimiento y un control adecuados.

2.1 Degradación anaerobia

La degradación anaerobia (DA) o digestión es un proceso biológico degradativo en el cual parte de los materiales orgánicos de un sustrato son convertidos en biogás, mezcla de dióxido de carbono y metano con trazas de otros elementos, por un consorcio de bacterias que son sensibles o completamente inhibidas por el oxígeno. En la digestión o degradación anaerobia más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10% de la energía en crecimiento bacteriano frente al 50% consumido en un sistema aerobio (Muñoz Valero et al., 1987).

2.2 Ventajas y desventajas de los tratamientos anaerobios

En las últimas décadas se ha empezado a utilizar procesos anaerobios en muchos países para tratar aguas residuales de los diferentes tipos de industrias y, aunque no era un método tradicional, ha venido cobrando mucha fuerza a medida que los resultados han mostrado sus bondades. Al hacer una comparación con los tratamientos aerobios se encuentran las siguientes ventajas y desventajas (Durán-de-Bazúa et al., 2006; McCarty, 1964).

- *Ventajas:*
 - Los tratamientos anaerobios generalmente consumen poca energía, debido a su baja producción de lodos. Si en algún punto se requiere energía para elevar la temperatura, ésta puede ser obtenida desde los efluentes por intercambio calorífico (McCarty, 1964)

- ▶ La degradación anaerobia es un sistema productor de energía debido a que sus componentes carbonosos son transformados en CH_4 y éste a su vez puede ser utilizado en la generación de vapor en cualquier parte del proceso de donde provenga el agua residual (Durán-de-Bazúa et al., 2006).
 - ▶ El proceso contribuye a la disminución en la generación de gases de efecto invernadero, si el metano producido sustituye una fuente no renovable de energía (Flotats et al., 2000).
 - ▶ Los sistemas anaerobios modernos pueden manejar contenidos de materia orgánica volumétrica disuelta en el agua residual de hasta $15 \text{ kg DQO/m}^3\cdot\text{d}$ (Muñoz Valero et al., 1987).
 - ▶ Facilidad de arranque de operaciones después de un período de suspensión de actividades (Von Sperling, 1996).
 - ▶ Los costos de inversión son relativamente bajos ya que no requieren de aeradores como los sistemas aerobios. Sin embargo, la vida útil de los reactores anaerobios es relativamente menor que el de los aerobios, por lo que se busca usar materiales de construcción apropiados y prestar especial atención al mantenimiento debido a la generación de ácido sulfhídrico que es muy corrosivo y si se oxida a ácido sulfúrico todavía más (Mussati et al., 1999).
 - ▶ El espacio utilizado es relativamente similar al usado por los sistemas convencionales ya que, aunque sus tiempos de residencia son mayores, son más compactos que un sistema aerobio tradicional (Mussati et al., 1999).
- *Desventajas:*
 - ▶ No es un sistema satisfactorio para la remoción de nutrientes como el N y el P (Von Sperling, 1996)
 - ▶ El arranque de estas instalaciones es mucho más lento que el de un sistema aerobio debido justamente al bajo coeficiente de crecimiento en el desarrollo de las bacterias (Von Sperling, 1996)
 - ▶ Relativamente sensible a las variaciones de carga (Von Sperling, 1996)
 - ▶ Durante el tratamiento se pueden presentar malos olores por la formación de H_2S que en parte va al biogás y otra parte se queda disuelto en el agua residual y, posteriormente, se desorbe y/o transforma en sulfatos (Flotats et al., 2000)
 - ▶ Puede requerir de un sistema de postratamiento dependiendo del origen del agua a tratar (Von Sperling, 1996)

2.3 Microbiología de la degradación anaerobia

Los microorganismos anaerobios juegan un papel muy importante en el ciclo global del carbono por la remineralización de grandes cantidades de materia orgánica en condiciones anóxicas, tanto en el mar como en ambientes de agua dulce. El metano y el CO_2 son los productos finales de la descomposición anaerobia la cual se presenta en una diversidad de hábitat (Ferry, 1992).

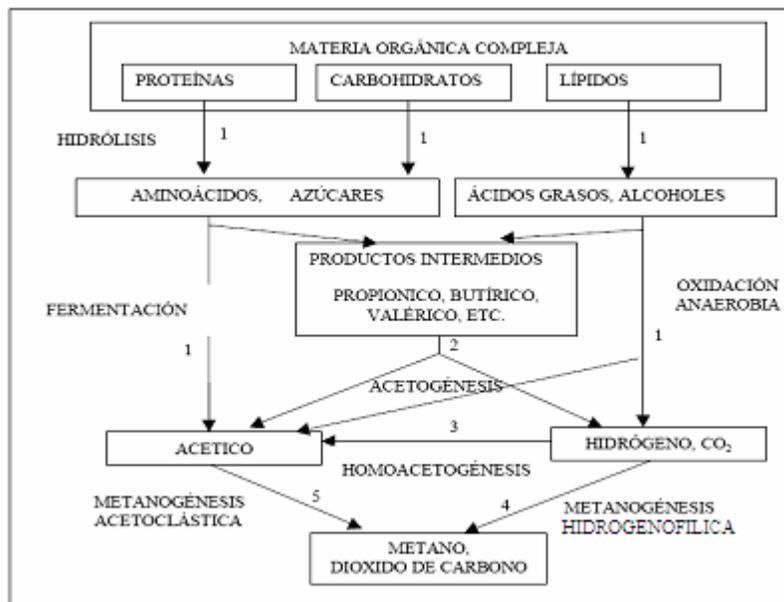
En una aproximación general se pueden diferenciar los siguientes tipos de microorganismos en el proceso:

- *Bacterias “fermentativas” o hidrolíticas*: la materia orgánica polimérica no puede ser utilizada directamente por los microorganismos a menos que se hidrolicen en compuestos solubles, que puedan atravesar la membrana celular. La hidrólisis es, por tanto, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos. La hidrólisis de estas partículas orgánicas es llevada a cabo por enzimas extracelulares excretadas por las bacterias “fermentativas”. Como resultado se producen compuestos solubles, que serán metabolizados por las bacterias anaerobias en el interior de las células (Pavlostathis y Giraldo, 1991). Las bacterias que llevan a cabo estas reacciones son anaerobias facultativas y los géneros más frecuentes que llevan a cabo estas reacciones son los miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, además de los géneros: *Bacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus* y *Clostridium* (Díaz et al., 2002)
- *Bacterias acidogénicas* (formadoras de ácido): este tipo de bacterias utilizan la glucosa para generar una mezcla de ácido propiónico, acético y butírico además de hidrógeno y CO₂. Tienen tasas de reproducción altas con velocidades de duplicación de 30 minutos. Algunos de los microorganismos presentes en esta etapas son del género *Clostridium* y *Propionibacterium* (Pavlostathis y Giraldo, 1991)
- *Bacterias acetogénicas*: son las encargadas de convertir los ácidos propiónico y butírico en acético además de hidrógeno y CO₂. Su proliferación es relativamente lenta (tiempo de duplicación de 1.5 a 4 días). Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei*, *Syntrophomonas sapovarans*, *Syntrophospora bryantii*, *Syntrophus buswellii* y *Syntrophobacter wolinii*, todos representantes de un grupo denominado organismos acetógenos productores obligados de hidrógeno (OHPA, por sus siglas en inglés). De la misma forma se encuentran las bacterias homo-acetogénicas las cuales son anaerobias obligadas y utilizan el CO₂ como aceptor final de electrones y tienen al acetato como único producto final de la degradación (Díaz et al. 2002).
- *Bacterias metanogénicas*: pertenecen al grupo actualmente conocido como *Archaea* cuyos miembros presentan características diferentes en cuanto a la composición química de algunas estructuras celulares de las bacterias. Morfológicamente, pueden ser bacilos cortos y largos, cocos de varios arreglos celulares, células en forma de placas y metanógenos filamentosos, existiendo tanto Gram positivos como Gram negativos. Las bacterias metanogénicas son anaerobias estrictas y producen metano como principal producto del mecanismo energético. Se dividen principalmente de acuerdo al tipo de metanogénesis llevada a cabo en *acetoclásticas* e *hidrogenofílicas*. Las primeras son las más importantes dentro de este proceso y se encargan de convertir el ácido acético en metano y dióxido de carbono. Tienen un desarrollo lento, entre 2 y 3 días, tienen gran influencia en los cambios de pH al eliminar el ácido acético y producen la mayor cantidad de metano del proceso. Las *hidrogenofílicas* controlan el potencial redox del proceso y también la formación de ácidos grasos volátiles. Consumen hidrógeno y ácido fórmico para la formación de metano (Campos, 2001).

2.4 Proceso de digestión o degradación anaerobia

La digestión o degradación anaerobia ha sido descrita como un proceso de múltiples fases o subprocesos donde se llevan a cabo un grupo de reacciones en serie y en paralelo de las cuales se han identificado siete subprocesos microbiológicos (Pavlostathis y Giraldo, 1991) como se muestra en la Figura 2.1.

1. Hidrólisis del material orgánico particulado (carbohidratos, proteínas y lípidos).
2. Acidogénesis o “fermentación” de aminoácidos y azúcares
3. Oxidación anaerobia o acetogénesis de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes
4. Acetogénesis de productos intermedios como ácidos grasos de cadena corta (excepto el ácido acético)
5. Homoacetogénesis y heteroacetogénesis
6. Metanogénesis acetoclástica
7. Metanogénesis hidrogenofílica.



Fuente: (Campos, 2001)

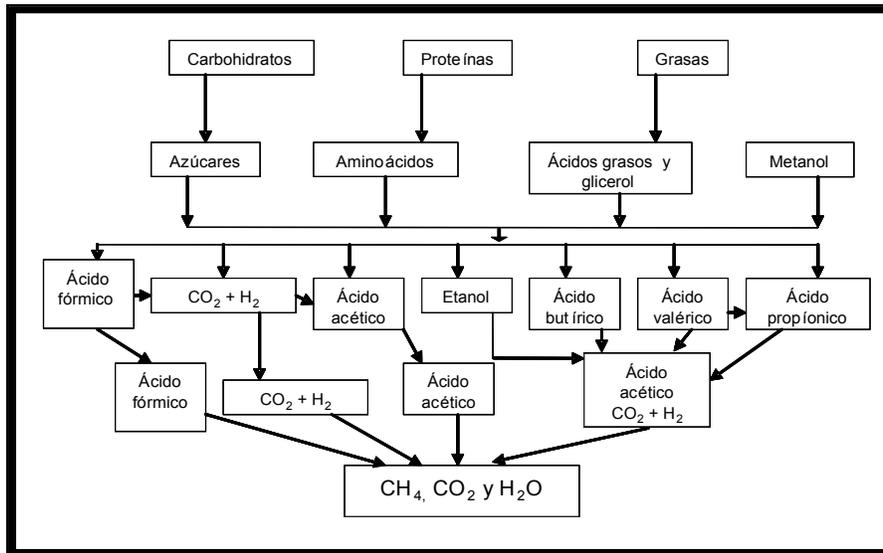
Figura 2.1. Fases microbiológicas de la degradación anaerobia.

Los números indican la población bacteriana responsable del proceso: 1: bacterias “fermentativas”;

2: bacterias acetogénicas que producen hidrógeno; 3: bacterias homoacetogénicas;

4: bacterias metanogénicas hidrogenófilas; 5: bacterias metanogénicas acetoclásticas

En la Figura 2.2 se muestra el esquema del proceso de DA, donde cabe acotar que el esquema no deja de ser un modelo que pretende representar aproximadamente los mecanismos reales de la degradación anaerobia y los productos intermedios generados. Para entender un poco más la figura anterior se plantean ahora las cuatro etapas con su descripción.



Fuente: Romero (1999)

Figura 2.2. Etapas de la degradación anaerobia

2.4.1 Hidrólisis. La hidrólisis es, el primer paso necesario para la degradación anaerobia de sustratos orgánicos complejos. Esta etapa incluye dos procesos, la solubilización del material particulado insoluble y la descomposición biológica de polímeros orgánicos a monómeros o dímeros, los cuales pasan a través de la membrana celular. La etapa hidrolítica puede ser la etapa limitante de la velocidad del proceso global, si el sustrato cuenta con alto contenido en sólidos. Incluso en casos donde la fase acidogénica o metanogénica son consideradas como pasos limitantes, la hidrólisis puede afectar el conjunto del proceso.

La solubilización no es un proceso enzimático sino fisicoquímico. Además, esta etapa depende de muchos otros factores como el tamaño de partícula, el pH, la producción de enzimas, la difusión y absorción de enzimas a partículas, lo cual deja ver la complejidad de esta etapa.

Cualquier sustrato se compone de los tres tipos básicos de macromoléculas: carbohidratos, lípidos y proteínas (Pavlostathis y Giraldo, 1991). La hidrólisis de cada tipo de compuesto se realiza por diferentes grupos enzimáticos.

- **Carbohidratos.** Los principales componentes de este grupo son la lignina, la hemicelulosa y la celulosa, las cuales han sido objeto de varios estudios. La lignina es un material altamente refractario a la degradación anaerobia, afectando también a la biodegradabilidad de la celulosa, hemicelulosa y de otros polímeros, convirtiéndose su degradación en el proceso limitante de la velocidad de hidrólisis y, por tanto, de la degradación anaerobia de determinados sustratos.

- **Proteínas.** Las proteínas se encuentran comúnmente en las aguas residuales y están constituidas por aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos. En la degradación anaerobia las proteínas sirven como fuente de carbono y energía para el desarrollo bacteriano y, adicionalmente, el amoníaco que se desprende en la hidrólisis de proteínas sirve como la principal fuente de nitrógeno para el desarrollo de la biomasa. Las proteínas son solubles en agua y su hidrólisis es realizada por enzimas extracelulares (proteasas) en polipéptidos, aminoácidos, amoníaco y dióxido de carbono y es más lenta que la hidrólisis de carbohidratos. Las bacterias con actividad proteolítica son en su mayoría especies de los géneros *Clostridium*, *Pectococcus*, *Bilidobacterium* y *Staphylococcus* (Campos, 2001).
- **Lípidos.** Estas moléculas están constituidas por ácidos grasos unidos por un enlace éster a una molécula de glicerol y se denominan triglicéridos cuando tres ácidos grasos se unen a un glicerol. La hidrólisis dependerá de la solubilidad del ácido, la cual a su vez es función del pH. Por tanto, a altos valores de pH la solubilidad aumenta y a bajos valores disminuye, por lo que la hidrólisis se comportará de igual manera. En ambientes anaerobios, los ésteres del glicerol son hidrolizados liberando los ácidos grasos. El glicerol, la lactosa, la colina y otros componentes también son liberados durante la hidrólisis y, posteriormente, degradados a ácidos grasos volátiles por acción de las bacterias “fermentativas”. Sin embargo, los ácidos grasos volátiles no son degradados por las bacterias “fermentativas” y solamente en algunos casos los ácidos grasos insaturados pueden ser hidrogenados. En los digestores o reactores anaerobios y en sedimentos acuáticos donde el tiempo de retención y el de residencia son largos, los ácidos grasos son oxidados por las bacterias sintróficas productoras de H₂ a acetato mediante la vía de la β – oxidación.

2.4.2 Acidogénesis. La acidogénesis es la etapa en donde la materia orgánica disuelta es biodegradada a ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico, butírico), hidrógeno, dióxido de carbono y alcoholes por una población bacteriana heterogénea. La especie dominante son las bacterias acidogénicas aunque se han reportado pequeñas poblaciones de protozoos y fungi. Estas bacterias son consideradas de proliferación rápida, tiempo de duplicación mínimo de 30 minutos (Mussati et al., 1999) y la reacción preferida por estas bacterias es la que conduce a ácido acético; las otras reacciones son las respuestas de las bacterias a la acumulación de hidrógeno durante las perturbaciones de carga al sistema produciendo también ácido propiónico, ácido butírico y etanol.

Datos publicados por Pavlostathis y Giraldo (1991) indican que la degradación de aminoácidos, producto de la hidrólisis de proteínas, es muy rápida y, así, la etapa limitante de la degradación anaerobia de proteínas es la hidrólisis.

2.4.3 Acetogénesis. Mientras que algunos productos de la degradación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos (H₂ y acetato), otros (valerato, butirato, propionato, algunos aminoácidos, etc.) necesitan ser transformados en productos más sencillos, acetato e hidrógeno, a través de las bacterias acetogénicas. Los

procesos acetogénicos son energéticamente difíciles, por lo que necesitan ser "ayudados" por los organismos metanogénicos u otros organismos consumidores de hidrógeno y la energía libre de la reacción depende de la presión parcial de hidrógeno del medio. Un tipo especial de microorganismos acetogénicos, son los llamados homoacetogénicos, que consumen H_2 y CO_2 , y producen acetato (Campos, 2001).

2.4.4 Metanogénesis. Los microorganismos metanogénicos pueden ser importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores siendo, además, los que dan nombre al proceso general de biometanización (Campos, 2001).

Las bacterias metanogénicas son las responsables de la formación de metano a partir de substratos monocarbonosos o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato, H_2 , CO_2 , formato, metanol y algunas metilaminas. Los organismos metanogénicos se clasifican dentro del dominio Archaea y, morfológicamente, pueden ser bacilos cortos y largos, cocos de varias ordenaciones celulares, células en forma de placas y metanógenos filamentosos, existiendo tanto gram positivos como gram negativos (Campos, 2001).

Existen dos grandes grupos de bacterias metanogénicas, las denominadas acetoclásticas y las que utilizan el hidrógeno (hidrogenófilas). Las bacterias acetoclásticas convierten el ácido acético en dióxido de carbono y metano. Éstas se desarrollan muy lentamente e influyen apreciablemente en el pH del sistema por eliminación de ácido acético y formación de dióxido de carbono (Campos, 2001).

Las bacterias metanogénicas que utilizan hidrógeno (hidrogenotróficas) actúan convirtiendo el hidrógeno y el dióxido de carbono a metano. Éstas controlan el potencial redox del proceso. Las trazas de hidrógeno que quedan en el medio regulan la velocidad total de producción de ácidos por las bacterias acidogénicas y la composición de la mezcla formada. El hidrógeno también controla la velocidad a la cual los ácidos propiónico y butírico son convertidos a ácido acético; en definitiva, regulan la formación de ácidos volátiles. Las bacterias metanogénicas son sensibles a los cambios de temperatura, la carga y las fluctuaciones del pH. También son inhibidas por un gran número de compuestos, como el amoníaco. En general, las bacterias metanogénicas que catabolizan el acetato incluyen dos géneros: *Methanosarcina* y *Methanosaeta*. En el primer género se encuentran como especies representativas: *Methanosarcina barkerii*, *Methanosarcina mazei* y *Methanosarcina thermophila*, con tiempos de generación de 30 horas. El género *Methanosaeta* tiene tiempos de generación entre 65 y 70 horas (Campos, 2001).

2.5 Factores que influyen en la degradación anaerobia

La degradación anaerobia al igual que cualquier proceso es susceptible a un cierto número de factores que pueden alterar la estabilidad y la eficiencia del mismo, los más importantes se presentan a continuación.

2.5.1 Agitación. La agitación de los reactores anaerobios tiene diversos objetivos, que se resumen en los siguientes puntos (Noone, 1990):

- Poner en contacto el sustrato fresco o influente con la población bacteriana y eliminar los metabolitos producidos por los metanogénicos, al favorecer la salida de los gases; proporcionar una densidad uniforme de población bacteriana.
- Prevenir la formación de espacios muertos que reducirían el volumen efectivo del reactor y la formación de caminos preferenciales en función de la hidráulica del sistema.
- Eliminar la estratificación térmica, manteniendo una temperatura uniforme en todo el reactor.

Algunos tipos de reactores pueden funcionar bien sin ningún sistema de agitación. Se suelen utilizar para sustratos con muy alto contenido en sólidos o con sustratos básicamente solubles, con regímenes de flujo tipo pistón.

2.5.2 Contenido de nutrientes. El proceso anaerobio se caracteriza, frente a procesos aerobios, por los bajos requerimientos de nutrientes, debido fundamentalmente a los bajos índices de producción de biomasa. A pesar de ello, la biomasa necesita para su desarrollo el suministro de una serie de nutrientes minerales, además de una fuente de carbono y de energía. Para determinados procesos necesita, además, compuestos orgánicos especiales, como vitaminas. Los principales nutrientes del sistema anaerobio son nitrógeno, sulfuro, fósforo, hierro, cobalto, níquel, molibdeno, selenio, riboflavina y vitamina B12 (Speece, 1987).

2.5.3 Valor de pH y alcalinidad. Los microorganismos anaerobios necesitan un pH en torno a la neutralidad para su correcto desarrollo, aunque permiten cierta oscilación. Parece ser que el pH afecta fundamentalmente a la actividad enzimática de los microorganismos (Webb, 1963, citado por Clark y Spencer, 1989) mediante: cambios de estado de los grupos ionizables de las enzimas como el carboxilo y amino; alteración de los componentes no ionizables del sistema, como por ejemplo el sustrato y la desnaturalización de la estructura proteica de las enzimas.

Para que el proceso se desarrolle de forma satisfactoria, el pH debe estar en torno a la neutralidad, presentando problemas graves si el pH baja a valores por debajo de 6 o sube por encima de 8.3 (Lay et al., 1997). Sin embargo, el proceso de inhibición parece ser completamente reversible, aunque el tiempo de recuperación depende de la duración de la alteración.

En cualquier caso, el pH no se considera una buena variable de control por resultar demasiado lenta: Una vez detectada una variación importante del pH, el fracaso del sistema puede ser ya irreversible (Iza, 1995). Por ello se consideran otras variables como mejores indicadores del estado del proceso anaerobio, como la producción de biogás y su contenido de metano (Hill y Holmberg, 1988), el contenido de ácidos grasos volátiles o la relación

entre ellos (Hill et al., 1987), la presión parcial de hidrógeno o indicadores basados en el número de bacterias o actividad bacteriana (Angelidaki et al., 1997).

La alcalinidad es una medida de la capacidad amortiguadora del medio. Esta capacidad puede ser proporcionada por un amplio intervalo de sustancias siendo, por tanto, una medida inespecífica. En el intervalo de pH de 6 a 8, el principal equilibrio químico que controla la alcalinidad es el dióxido de carbono-bicarbonato.

2.5.3 Temperatura. De forma general, a altas temperaturas las tasas de reacciones químicas y biológicas son más rápidas que a bajas temperaturas. La velocidad de reacción de los procesos biológicos depende de la velocidad de desarrollo de los microorganismos responsables que, a su vez, es dependiente de la temperatura (Van Lier, 1995).

- **Influencia de la temperatura sobre aspectos físico-químicos**

La solubilidad de los gases NH_3 , H_2S y H_2 desciende al aumentar la temperatura, favoreciéndose la transferencia líquido-gas y, por tanto, desapareciendo más rápidamente del medio acuoso. Esto supone un efecto positivo, dada la toxicidad sobre el desarrollo de los microorganismos anaerobios de los citados compuestos. Una posible desventaja de este fenómeno es que el descenso de la solubilidad del CO_2 , que implicará un aumento del pH en los reactores termofílicos, lo que en condiciones de alta concentración de amonio puede ser un inhibidor (Van Lier, 1995).

La solubilidad de la mayoría de las sales aumenta con la temperatura. Las sales orgánicas son más solubles a altas temperaturas, por lo que la materia orgánica es más accesible para los microorganismos y aumenta la velocidad del proceso. Sin embargo, si se trata de compuestos tóxicos, al aumentar su solubilidad con la temperatura serán potencialmente más tóxicos, lo que puede explicar parcialmente la mayor inhibición de determinados compuestos orgánicos en el rango termofílico, como los ácidos grasos de cadena larga (Hwu et al., 1997).

- **Influencia de la temperatura sobre aspectos bioquímicos**

El proceso anaerobio se produce en la naturaleza en un amplio intervalo de temperaturas, que van desde 0 hasta 97°C (Muñoz-Valero et al., 1987). La eficiencia del proceso, no obstante, es muy diferente en función de la temperatura del medio. Se habla de tres rangos principales de temperatura, psicofílico (por debajo de 25°C), mesofílico (entre 25 y 45°C) y termofílico (entre 45 y 65°C), siendo la tasa máxima específica de “crecimiento” mayor conforme aumenta la temperatura (van Lier et al., 1995).

La velocidad del proceso aumenta con la temperatura, aunque también aumentan los requerimientos energéticos y puede disminuir la estabilidad del proceso (Fannin, 1987), al menos en presencia de determinados compuestos tóxicos.

El rango psicrófilico se plantea como poco viable debido al gran tamaño de reactor necesario. Sin embargo, simplifica mucho el diseño y hay menos problemas de estabilidad. Cuanto mayor es la duración del tiempo de retención celular y de residencia hidráulica, menor es la diferencia entre las velocidades de degradación a diferentes temperaturas (Fannin, 1987).

La temperatura más utilizada en la digestión o degradación anaerobia es dentro del rango mesófilico, alrededor de 35-37°C, aunque hay tendencia en los últimos años a pasar al rango termófilico para conseguir una mayor velocidad del proceso.

La producción de biogás, en ausencia de inhibidores, aumenta con la temperatura, puesto que aumenta la tasa de crecimiento de los microorganismos. La tasa de hidrólisis también aumenta con la temperatura (Veecken y Hamelers, 1999), por lo que el régimen termófilico puede tener gran interés al tratar residuos en los que la hidrólisis sea la etapa limitante, como los residuos con alto contenido en componentes lignocelulósicos.

El régimen termófilico se ha relacionado tradicionalmente con mayores problemas de estabilidad (Hobson, 1990). Sin embargo otros autores consideran que las plantas termófilicas son tan estables y tan operables como las mesófilicas, presentando, además de las ventajas antes mencionadas, una mayor producción de gas por unidad de sólidos volátiles y una mejora en el postratamiento, ya que el efluente de la digestión termófilica es más fácilmente deshidratable, junto con una menor producción de malos olores (Ahring et al, 1995; Krugel et al., 1998).

La mayoría de las bacterias termófilicas presentan tasas específicas de reproducción máximas mayores que los organismos mesófilicos. La temperatura normal de operación dentro del rango termófilico está sobre los 55°C (52-56°C). Por encima de este nivel los microorganismos acetogénicos disminuyen drásticamente su velocidad de proliferación. Sin embargo, la tasa específica de “crecimiento” de los microorganismos metanogénicos continúa aumentando hasta los 70°C (Ahring, et al, 1995).

En el rango termófilico un aumento brusco de la temperatura puede provocar un importante descenso en la producción de gas (Van Lier et al., 1993), mientras que una reducción puede suponer un descenso en la producción de gas, pero completamente reversible (Van Lier et al., 1993) o puede no mostrar diferencias (Ahring et al., 1995), debido a la disminución del efecto de inhibición por amoníaco. Para pasar un reactor del rango mesófilico al termófilico sin que se produzca una reducción en la producción de gas, se deberá realizar en forma muy

lenta para promover la adaptación de las comunidades de microorganismos (Van Lier et al., 1993).

El efecto inhibitor del amonio es mayor en el rango termofílico que en el mesofílico por el aumento de la concentración de la forma tóxica, NH_3 , al aumentar la temperatura (Angelidaki y Ahring, 1994; Hansen et al., 1998), a pesar de la mayor sensibilidad de los microorganismos mesofílicos al amoníaco libre (Gallert et al., 1998). Un problema adicional al de inhibición por amonio es la mayor tasa de hidrólisis de proteínas en el rango termofílico frente al mesofílico (Gallert et al., 1998).

El tratamiento termofílico presenta la importante ventaja de la mayor eliminación de organismos patógenos, que puede ser un factor clave en función del destino final del efluente, sobre todo para su uso como mejorador de suelos orgánico. Un tratamiento termofílico por encima de 50°C reúne en un solo paso el tratamiento de higienización y el de digestión o degradación anaerobia (Angelidaki y Ahring, 1997). El proceso de digestión produce la inactivación de algunos virus patógenos (enterovirus y parvovirus), pero la tasa de inactivación depende del tipo de virus, de la duración del proceso y de la temperatura de operación (Turner y Burton, 1997).

Sobre lodos de plantas de tratamiento de agua residual se han realizado numerosos estudios de comparación de la eficiencia de eliminación de patógenos en función de la temperatura de tratamiento, resultando generalmente muy favorable el rango termofílico (Krugel et al., 1998; Watanabe et al., 1997).

2.5.4 Tóxicos e inhibidores. La magnitud de toxicidad observada o recogida en la bibliografía es una función de diversos factores, incluyendo concentración, antagonismos, sinergismos, formación de complejos y aclimatación (Kugelman y Chin, 1971). La concentración es el único factor que usualmente se considera, lo que lleva a afirmaciones absolutistas, muchas veces erróneas.

En general, la velocidad de “crecimiento” bacteriano aumenta con la concentración de sustrato, llegando a un punto en que se estabiliza y, dependiendo de cada caso concreto, puede llegar a descender (inhibición por el sustrato). Así, en términos absolutos, una sustancia es un tóxico o un sustrato dependiendo de su concentración. Los fenómenos de antagonismo y sinergismo son muy importantes al hablar de toxicidad. Antagonismo es una reducción de la toxicidad de un sustrato en presencia de otro y sinergismo es el aumento del efecto tóxico de una sustancia causada por la presencia de otra. La formación de complejos resulta, también, fundamental. Si una sustancia no está en solución, no puede penetrar dentro de la célula y, por tanto, no podrá afectar el metabolismo del organismo.

La magnitud del efecto tóxico de una sustancia puede ser reducida significativamente por aclimatación de la población de microorganismos al tóxico. La aclimatación implica una reorganización de los recursos metabólicos para vencer los obstáculos metabólicos

producidos por el substrato tóxico, más que mutación o selección de las poblaciones (Kugelman y Chin, 1971).

Otros factores que pueden afectar también la toxicidad de un determinado compuesto son, por ejemplo, el tipo de agregados bacterianos. En general, son más resistentes los lodos granulares que los floculentos (Hwu et al., 1997). También la temperatura juega un importante papel en el efecto tóxico de determinados compuestos (amonio, sulfuro, ácidos grasos volátiles, etc.).

Son muchas las sustancias que pueden resultar inhibitorias de la proliferación de los microorganismos anaerobios:

- *Nitrógeno amoniacal*: Los principales microorganismos afectados por altas concentraciones de amonio son los metanogénicos.
- *Ácidos grasos volátiles*: La acumulación de ácido acético puede inhibir la acetogénesis a partir de ácido propiónico (Fukuzaki et al., 1990) y la acetogénesis a partir de ácido butírico. Sin embargo, son necesarias concentraciones de ácido acético muy altas para que llegue a afectar a la producción de metano, por encima de 4000 mg/L o más (Ahring et al., 1995).
- *Hidrógeno*: su acumulación puede provocar la inhibición de la acetogénesis.
- *Compuestos azufrados*: En presencia de sulfatos las bacterias metanogénicas compiten con las bacterias sulfato-reductoras por los substratos útiles, mostrando las últimas, ventajas termodinámicas y cinéticas sobre las primeras, tanto sobre las que consumen hidrógeno como sobre las acetoclásticas. El resultado de esta competencia determinará la proporción de ácido sulfhídrico y metano en el biogás producido.
- *Ácidos grasos de cadena larga*: Altas concentraciones de ácidos grasos de cadena larga pueden inhibir el proceso de digestión (Hanaki et al., 1981)
- *Cationes y metales pesados*: Todos los cationes pueden proporcionar toxicidad a algún nivel de concentración, aumentando la toxicidad con el peso molecular, por lo que los metales pesados son los que provocan más toxicidad a menor concentración.

2.6 Tecnologías del tratamiento anaerobio

En los últimos años se ha progresado mucho en el conocimiento del proceso anaerobio en el tratamiento de residuos líquidos, especialmente utilizando filtros anaerobios (FA) y reactores anaerobios de lecho de lodos con flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés *upflow anaerobic sludge blanket*); sin embargo, su implantación no es tan rápida como se esperaba por parte de los investigadores. Las posibles razones de este retraso pueden encontrarse en algunas experiencias negativas, en la necesidad de un postratamiento y en las grandes inversiones hechas en los sistemas aerobios (Switzenbaum, 1995).

Los primeros reactores anaerobios que se utilizaron fueron el digester de mezcla completa y el proceso de contacto anaerobio. En el primero, el tiempo de retención de los sólidos era

igual al tiempo de residencia hidráulica y en el segundo se incorporó un decantador después del tanque para clarificar el efluente y recircular los lodos con lo que se consiguió aumentar el tiempo de retención de los sólidos en este diseño. En los procesos modernos, denominados de alta velocidad, la característica común a todos ellos es la retención de la biomasa dentro del reactor, de manera que el tiempo de retención de los sólidos es mucho mayor que el tiempo de residencia hidráulica por lo que se consigue aumentar la eficacia del proceso (Lettinga et al., 1983).

La clasificación de los reactores anaerobios de alta velocidad, se puede hacer en función de la manera en la que retienen la biomasa:

- Los que retienen la biomasa en los intersticios de un material de soporte y en la superficie del soporte, como el FA (filtro anaerobio)
- Los lechos de lodos o RALLFA (*UASB, upflow anaerobic sludge blanket*), en los que la biomasa queda retenida por sedimentación en la parte baja del reactor en forma de gránulos o flóculos (Ruiz et al, 2000)
- Los que se basan en la inmovilización de la biomasa sobre superficies fijas como en el reactor empacado anaerobio (*AFF, anaerobic fixed film*) o sobre partículas móviles como en el reactor empacado de lecho expandido (*FEB, anaerobic attached film expanded bed*) (Jewell et al., 1981).

En el filtro anaerobio (FA) la biomasa se adhiere a un relleno que ocupa todo el reactor. Como relleno se utilizan todo tipo de materiales: cantos rodados, piedra caliza, granito, trozos de ladrillo, conchas de mejillón y gran variedad de materiales plásticos. Tiene la ventaja de que permite tratar todo tipo de efluentes. La puesta en marcha es más rápida y puede tratar elevadas velocidades de carga orgánica, hasta $10 \text{ kg DQO (m}^3 \cdot \text{d)}^{-1}$, siendo muy resistente a las perturbaciones de carga (Lettinga et al., 1983).

Los reactores de película fija se desarrollaron partiendo del FA, buscando eliminar los problemas de colmatación del relleno. Para ello se sustituye el relleno al azar por un relleno ordenado y sobre su pared se adhiere y desarrolla la biopelícula. La alimentación se realiza por la parte superior del reactor (Ruiz et al., 2000).

Los reactores de lecho expandido/fluidificado tienen el mismo fundamento. Las bacterias son inmovilizadas sobre pequeñas partículas de soporte sólidas y lo único que varía es el grado de expansión del lecho. Cuando se parte de un lecho poroso y se aumenta la velocidad superficial del fluido, se alcanza una situación inicial característica por el alargamiento del lecho, aún existe contacto físico entre partículas, la porosidad aumenta y se obtiene un lecho expandido. Si la velocidad superficial del fluido continúa aumentando, el grado de expansión del lecho es tal que las partículas dejan de estar en contacto entre sí, desplazándose arriba y abajo en un movimiento típico de lecho fluidificado (Ruiz et al., 2000).

El reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente, *RALLFA* (*UASB*, en inglés), fue desarrollado en Holanda por Lettinga y sus colaboradores en los años 80 del siglo XX. El diseño de un reactor *UASB* consiste en una zona de reacción en la parte inferior, en la que se acumula la biomasa, la de mejor sedimentabilidad en el fondo y encima los lodos más ligeros, formando todo el lecho de lodos. En este reactor, la materia orgánica contenida en las aguas residuales se degrada por la acción de consorcios microbianos que se adaptan a condiciones favorables de temperatura y disponibilidad de nutrientes, en las cuales pueden sustentar sus necesidades metabólicas a través del rompimiento enzimático de las moléculas orgánicas mediante cuatro reacciones de degradación, siendo la más importante la de formación de biogás (metano en su mayoría), principal subproducto del proceso biológico anaerobio (Hulshoff Pol y Lettinga, 1991).

El biogás formado en la degradación anaerobia se adhiere a los flóculos o partículas biológicas o causa circulación interna para promover la formación de más flóculos. El gas libre y las partículas con gas adherido se elevan hacia la parte superior del reactor, chocando con las pantallas desgasificadoras para que el gas se libere. Los flóculos desgasificados caen de nuevo sobre la superficie del manto o lecho de lodos y el gas libre se captura en los domos localizados en la parte superior del reactor. La porción líquida fluye al sedimentador donde se separan los sólidos residuales del líquido. Un separador gas-sólido-líquido en la parte superior, impide la salida de los sólidos del reactor, separándolos del gas producido y del efluente líquido (Conil, 2006).

Las grandes concentraciones de biomasa con elevada actividad que se consiguen, permiten el funcionamiento a altas tasas de carga orgánica con buenas eficacias de eliminación. Esta biomasa puede estar en forma de gránulos compactos o en forma de lodos floculentos con buena sedimentabilidad. El reactor *UASB* está siendo experimentado con éxito en el tratamiento de aguas residuales muy diversas, de procesados alimenticios, industriales, urbanas y lixiviados (Hulshoff Pol y Lettinga, 1988).

Una modificación del reactor *UASB* es el de lecho expandido de lodos granulares, *LELG* (*EGSB*, *expanded granular sludge bed*), en el que sólo se puede usar lodo granular debido a las elevadas velocidades superficiales a las que opera, superiores a 4 m h^{-1} . Estas velocidades se consiguen por recirculación del efluente o aumentando la relación altura/diámetro en el reactor. Este diseño se está utilizando para aguas de baja carga incluso a temperaturas inferiores a 10°C . También parece ser un sistema adecuado para tratar sustratos tóxicos (Lettinga, 1996).

La degradación anaerobia de los efluentes es una tecnología muy eficiente para remover la carga orgánica de aguas residuales industriales como las vinazas. Permite remover más de 90% de su DBO, aunque sólo un 70% de su DQO (demanda química de oxígeno), pues una parte de la DQO está en forma “dura” (no biodegradable); esta fracción es muy baja cuando la materia prima es jugo de caña, muy alta cuando es melaza e intermedia cuando se utiliza miel A o miel B (Conil, 2006).

La degradación anaerobia genera biogás como subproducto. Este biogás de vinazas puede tener altas concentraciones de H₂S (componente corrosivo, tóxico y oloroso), ya que además del ácido sulfúrico adicionado para mantener valores de pH bajos durante la fermentación alcohólica que promuevan la proliferación solamente de las levaduras, también hay sulfatos cuando la proporción de melaza es alta en la materia prima, pues la melaza tiene altas concentraciones de sulfatos, provenientes del proceso de sulfitación del jugo, que se reducen a sulfuros en el proceso anaerobio. También puede generar olores, por escapes de biogás no captado o por descargas del efluente con biogás disuelto. Este riesgo nuevamente es alto cuando se trata de vinazas de melaza y es más bajo cuando se trata de vinazas de jugo de caña (Conil, 2006).

Pero la degradación anaerobia ‘controlada’ tiene también ventajas sustanciales para las destilerías, entre ellas (Conil, 2006):

- Genera altas cantidades de biogás, que hoy en día tiene un mayor valor en el mercado que hace 2 años, por el incremento del precio del petróleo. El mundo está buscando fuentes renovables de energía y los ingenios azucareros tienen la posibilidad de ser unos actores importantes en este suministro. El biogás puede servir para: distribución domiciliaria / generación de vapor en una caldera de gas y electricidad con una turbina (24 horas al día, 365 días al año) / generación de agua caliente para precalentar el agua de las calderas / generación de electricidad en motores de gas o turbinas de gas.
- Permite registrar el proyecto como MDL (mecanismo de desarrollo limpio - protocolo de Kyoto), no sólo por la sustitución de energía fósil, sino por evitar la liberación de metano a la atmósfera, que es uno de los principales gases de efecto invernadero. Con este registro los ingenios pueden vender sobre el mercado internacional y el europeo en particular, “certificados de reducción de emisiones” de carbono, CER.
- Permite aumentar la dosis de aplicación de vinaza (tratada) al “compostaje” de cachaza, pues en vez de aplicar una materia prima, se está aplicando un líquido diluido que se asemeja a agua de riego. De esta manera es posible aplicar hasta 3 o 4 m³ de vinaza por tonelada de cachaza y, en ciertos casos, disponer de toda la vinaza sin descarga alguna al río.
- Facilita los proyectos de ferti-irrigación (el efluente tratado es de aplicación más fácil que la vinaza cruda).

2.7 Cinética microbiana

Los principales objetivos del estudio de la cinética en un campo del tratamiento de aguas residuales por sistemas biológicos son: 1) la generalización del conocimiento y experiencia; 2) verificación de ideas conceptuales; 3) predicción del comportamiento de biosistemas de tratamiento completo; 4) control de procesos y 5) escalamiento apropiado de los equipos. La cinética microbiana juega un papel importante en la degradación de la materia orgánica

ya que por medio de simples expresiones describe la actividad de los microorganismos tales como el “crecimiento”, el mantenimiento, el metabolismo endógeno y la muerte.

2.7.1 Cinética de crecimiento. El crecimiento celular generalmente involucra la respiración y conversión de sustrato a productos, lo cual libera energía en forma de adenosin - trifosfato (ATP). La energía liberada de las reacciones catabólicas es utilizada para la síntesis de nuevas células y para el mantenimiento celular (anabolismo).

Catabolismo: sustrato → Producto microbiano + energía

Anabolismo: sustrato + energía → microorganismos

Metabolismo: sustrato → producto microbiano + microorganismos

En general, el metabolismo de los microorganismos es asociado con la producción de ATP. La relación de la masa de ATP producida por la masa de sustrato consumida es definida como el coeficiente de rendimiento de ATP, de acuerdo con esto, el coeficiente de rendimiento de biomasa y el coeficiente de rendimiento de producto se expresan como (Gavala y Angelidaki, 2003):

$$\text{Coeficiente de rendimiento de biomasa: } Y_{x/s} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (1)$$

$$\text{Coeficiente de rendimiento de producto: } Y_{p/s} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (2)$$

donde: X = Concentración de biomasa
 S = Concentración de sustrato
 P = Concentración de producto

El desarrollo bacteriano es frecuentemente descrito por una serie de expresiones matemáticas de acuerdo con (Gavala y Angelidaki, 2003):

$$r_x = \mu(S, pH, T, S_{n1}, S_{n2}, \dots, S_{ni}) * X \quad (3)$$

donde:

r_x = Velocidad crecimiento de biomasa
 μ = Velocidad específica de crecimiento debida a síntesis
 S_{ni} = Concentración del inhibidor

2.7.2 Mantenimiento. Los microorganismos requieren energía para mantener las estructuras existentes y para los procesos tales como movilidad, regulación osmótica y pérdida de calor. El mantenimiento representa, cuantitativamente, la masa de sustrato oxidada por unidad de masa celular y por unidad de tiempo, que suministra la energía necesaria.

El mantenimiento disminuye el rendimiento total de células a partir del sustrato, se expresa (Gavala y Angelidaki, 2003):

$$r_m = k_m * X \quad (4)$$

donde:

k_m = Coeficiente de mantenimiento

2.7.3 Metabolismo endógeno. Un rendimiento celular observado menor al rendimiento teórico se debe al metabolismo endógeno; esto es, la degradación de componentes celulares. El término de metabolismo endógeno se incluye en el balance de materia de la biomasa y, esencialmente, refleja el decaimiento de la biomasa. Su expresión es (Gavala y Angelidaki, 2003):

$$r_E = k_E * X \quad (5)$$

donde:

k_E = Coeficiente de metabolismo endógeno (t^{-1})

2.7.4 Muerte de microorganismos. La cinética de muerte debido al agotamiento del sustrato se considera de primer orden con respecto a la concentración celular (Gavala y Angelidaki, 2003):

$$r_D = k_d * X \quad (6)$$

donde:

k_d = Coeficiente de muerte específico (t^{-1})

2.8 Modelos cinéticos para la digestión o degradación anaerobia

La manera de representar la velocidad específica de degradación de los compuestos que participan en la digestión o degradación anaerobia es a través de modelos cinéticos, los cuales se han estudiado ampliamente, presentándose una gran variedad que describen este fenómeno. Después de una amplia revisión bibliográfica se encontró una gama de modelos cinéticos los cuales se presentan a continuación, resaltando el modelo cinético de Monod por ser el más ampliamente usado en el análisis cinético y diseño de reactores.

2.8.1 Modelo de Monod. Jacques Monod en 1942 (Burgos, 1999), estudió el efecto de la composición de un medio de cultivo libre de sustancias inhibitorias sobre la velocidad específica de crecimiento expresada así:

$$\mu = \mu_{\max} * \frac{S}{K_s + S} \quad (7)$$

donde:

μ_{\max} = Velocidad máxima de “crecimiento” específico (t^{-1})

K_s = Constante de saturación de Monod (m^*V^{-1})

Esta ecuación es una representación matemática adecuada para una transición suave desde una relación de primer orden (en S) a baja concentración, a una relación de orden cero (en S) a alta concentración. La ecuación puede ser considerada como la combinación de dos expresiones que describen el comportamiento a bajas y altas concentraciones:

$$\mu = \mu_{\max} \quad \text{para } S \gg K_s \quad (8)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{K_s} * S \quad \text{para } S \ll K_s \quad (9)$$

Con el propósito de lograr la representación de los datos experimentales con un mayor grado de ajuste, diferentes investigadores han propuesto otros modelos como alternativa a la cinética de Monod, aunque la cinética de Monod es una relación empírica que encuentra amplia aplicación en sistemas microbianos.

2.8.2 Modelos alternativos. Las ecuaciones presentadas a continuación corresponden a modelos cinéticos no estructurados, considerados como una buena aproximación cuando la composición celular es independiente del tiempo, cuando el crecimiento es balanceado, cuando la composición celular no es importante a escala industrial o cuando no se presenta inhibición.

- **Modelo de primer orden** (Pavlostasthis y Giraldo, 1991):

$$\mu = \frac{k * S}{S_o + S} \quad (10)$$

donde:

K = constante de primer orden (t-1)

So = Concentración de sustrato inicial (m V⁻¹)

- **Modelo de Grau de 1975** (Burgos, 1999):

$$\mu = \frac{\mu_{\max} * S}{S_o} \quad (11)$$

μ_{\max} . = Velocidad máxima de crecimiento específico (t⁻¹).

- **Modelo de Moser:** Moser en 1958 ajusta el modelo cinético de Monod por medio de un parámetro empírico que cuando toma el valor de 1 se convierte en la ecuación de Monod (Burgos, 1999)

$$\mu = \mu_{\max} * \frac{S^n}{K_s + S^n} \quad (12)$$

donde:

n = Constante empírica adimensional.

- **Modelo de Contois:** El modelo propuesto por Contois en 1959 (Burgos, 1999), se aplica en sistemas donde prevalecen altas concentraciones de biomasa cuyo “crecimiento” se acompaña por la producción de metabolitos o inhibidores tóxicos:

$$\mu = \mu_{\max} * \frac{S}{B * X + S} \quad (13)$$

donde:

B = Constante ($M_s M_x^{-1}$).

- **Modelo de Teissier:** Teissier propuso en 1936 (Burgos, 1999) una función exponencial representada en la siguiente ecuación:

$$\mu = \mu_{\max} * (1 - e^{-S/K}) \quad (14)$$

- **Modelo de Konak** (Burgos, 1999): El modelo propuesto por Konak en 1974, se expresa mediante la ecuación:

$$\frac{d\mu}{dC_s} = k(\mu_{\max} - \mu)^p \quad (15)$$

donde:

$$k = \frac{1}{\mu_{\max} * K_s}$$

p = Constante empírica

Konak demostró que esta ecuación se convierte en la ecuación de Monod para p = 2, y en la ecuación de Teissier para p = 1.

- **Modelo de Kargi y Shuler** (Burgos, 1999): El modelo propuesto por Kargi y Shuler, en 1979, es una generalización de los modelos presentados anteriormente

$$\frac{d\left(\frac{\mu_x}{\mu_{\max}}\right)}{dC_s} = K \left(\frac{\mu_x}{\mu_{\max}}\right)^m \left(1 - \frac{\mu_x}{\mu_{\max}}\right)^p \quad (16)$$

En la Tabla 2.1 se presentan los valores de las constantes K, m y p correspondientes a cada modelo.

Tabla 2.1 Constantes de los modelos cinéticos

Modelo	K	m	P
Monod	1/K _S	0	2
Moser	n/(K _S) ^{1/n}	1-1/n	1+1/n
Teissier	1/K _S	0	1
Contois	1/(K _S X)	0	2
Konak	km _{max}	P	P

Fuente: Burgos 1999

2.9 Modelos de inhibición

El efecto de los componentes tóxicos que afectan el proceso de la digestión o degradación anaerobia tienen diversas representaciones matemáticas de acuerdo al tipo de componente y

la etapa afectada, los modelos más utilizados que son reportados en la literatura se presentan a continuación.

2.9.1 Modelo de inhibición propuesto por Haldane (Burgos, 1999). El aporte de Haldane es que modifica el modelo de Monod incluyendo el efecto del componente inhibidor o tóxico que se refleja en la concentración de éste y la constante respectiva, como un modelo de competencia entre el sustrato y el inhibidor.

$$\mu = \mu_{\max} * \frac{1}{1 + \frac{K_S}{S} + \frac{I}{K_I}} \quad (17)$$

donde:

K_I = Constante de inhibición ($M_S L^{-3}$).

I = Concentración del inhibidor ($M_S L^{-3}$).

2.9.2 Modelo de inhibición del tipo no competitivo. La forma más habitual de representar esta expresión es mediante la aproximación multiplicativa de Monod.

$$\mu = \mu_{\max} * \frac{S}{K_S + S} * \frac{K_I}{K_I + I} \quad (18)$$

donde:

K_I = Constante de inhibición ($M_S L^{-3}$)

I = Concentración del inhibidor ($M_S L^{-3}$)

Los modelos cinéticos mostrados presentan la característica de la dependencia de la concentración inicial del sustrato (S_0) (ecuación 10), de la concentración de biomasa (X) (ecuación 13) o ser independiente de estas dos variables, como el modelo cinético de Monod y es el motivo por el cual es uno de los más utilizados, además de su buena aproximación al fenómeno cinético.

2.9.3 Modelo de inhibición de pH. Todos los grupos bacterianos tienen un pH óptimo de desarrollo, por lo que debe computarse su efecto cuando las condiciones ambientales determinan niveles de concentración de protones alejados de aquellos niveles óptimos. Este efecto fue descrito por una función de pH por Michaelis (Burgos, 1999), normalizada para dar un valor de 1.0 cuando el pH del sistema es el óptimo.

$$f(pH) = \frac{1 + 2 * 10^{0.5 * (pK_i - pK_h)}}{1 + 10^{(pH - pK_h)} + 10^{(pK_i - pH)}} \quad (19)$$

donde:

pK_i y pK_h son los valores del pH para los cuales la velocidad de crecimiento específica se reduce al 50% de su valor sin inhibición.

2.10 Cálculo de los parámetros cinéticos

En esta investigación se utilizará la cinética de Monod para conocer los valores de estos parámetros en los cuatro reactores que servirán como objeto de estudio para la degradación anaerobia de vinazas y la generación de metano en el biogás producido en este proceso biológico.

La metodología que se utilizará para la determinación de las constantes cinéticas basada en experimentos en viales será descrita en el Capítulo 3. Ahora se presentan solamente las fórmulas utilizadas para llegar al desglose de las ecuaciones que permiten, por un método gráfico, obtener estos valores, basados en las consideraciones de diseño de los viales y las condiciones operacionales como sistemas intermitentes de mezcla completa.

Cálculo de los parámetros cinéticos k y K_s . Como complemento del numeral 2.8.1 correspondiente la cinética de Monod, se procederá a definir el grado de utilización de sustrato por parte de los microorganismos empleado para la generación de nuevas células en la fase de proliferación celular:

$$r_{su} = -\frac{\mu_{max}XS}{Y(K_s + S)} \quad (20)$$

donde:

r_{su} = tasa de utilización de sustrato (masa (volumen tiempo)⁻¹)

μ_{max} = máxima tasa de crecimiento específica (tiempo⁻¹)

X = concentración de microorganismos (masa volumen⁻¹)

S = concentración del sustrato que limita el crecimiento (masa volumen⁻¹)

Y = coeficiente de producción máxima medio (masa de células formadas * masa de sustrato consumido⁻¹)

K_s = constante de velocidad media (concentración de sustrato a la mitad de la máxima tasa de crecimiento (Metcalf & Eddy, 1995))

El término μ_{max}/Y se substituye por el término k , definido como la tasa máxima de utilización de sustrato por unidad de masa de microorganismos:

$$k = \frac{\mu_{max}}{Y} \quad (21)$$

Algunos de estos parámetros ya han sido descritos en los numerales anteriores pero con el fin de obtener un entendimiento claro del desglose, se han enunciado nuevamente.

De la misma forma, en los sistemas de tratamiento biológico se puede determinar el grado de utilización de sustrato mediante:

$$r_{su} = -\frac{S_o - S}{\theta} \quad (22)$$

donde:

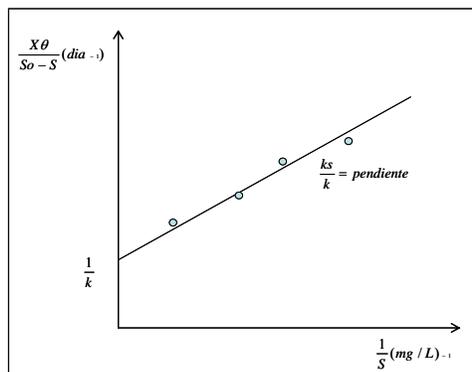
S_o = Concentración de sustrato en el influente (masa/unidad de volumen)

θ = Tiempo de residencia hidráulica.

Igualando las ecuaciones 20 y 22 y reemplazando el parámetro k , se obtiene una nueva expresión que al ser ordenada permite obtener la siguiente ecuación de línea recta:

$$\frac{X\theta}{S_o - S} = -\frac{K_s}{k} * \frac{1}{S} + \frac{1}{k} \quad (23)$$

A partir de esta expresión se grafica $\frac{X\theta}{S_o - S}$ (Y) vs. $\frac{1}{S}$ y se obtiene una pendiente $\frac{K_s}{k}$ y el intercepto con el eje Y el valor de $\frac{1}{k}$, de esta manera se obtienen k y K_s (Figura 2.3).



Fuente: Castro-González (2004)

Figura 2.3 Cálculo de los parámetros cinéticos k y K_s

Tabla 2.2 Constantes cinéticas de degradación anaerobia mesofílica de compuestos orgánicos

Sustrato	Etapas del proceso	k (gDQO/gSSV*d)	K_s (mgDQO/L)	$\mu_{\text{máx}}$ (d ⁻¹)	Y_b (gSSV/gDQO)	K_d (d ⁻¹)
Carbohidratos	Acidogénesis	1.33 a 70.6	22.5 a 630	7.2 a 30	0.14 a 0.17	6.1
Cadena larga de ácidos grasos	“Oxidación anaerobia”	0.77 a 6.67	105 a 3180	0.085 a 0.55	0.04 a 0.11	0.01 a 0.015
Cadena corta de ácidos grasos (excepto ácido acético)	“Oxidación anaerobia”	6.2 a 17.1	12 a 500	0.13 a 1.20	0.025 a 0.047	0.01 a 0.027
Ácido acético	Metanogénesis acetoclástica	2.6 a 11.6	11 a 421	0.08 a 0.7	0.01 a 0.054	0.004 a 0.037
H ₂ /CO ₂	Metanogénesis	1.92 a 90	4.8*10 ⁻⁵ a 0.60	0.05 a 4.07	0.017 a 0.045	0.088
Estiércol de granja	Metanogénesis	-	280	450	-	-
Desecho de ganado	Metanogénesis	-	300	250	-	-
Ácido propiónico	Metanogénesis	-	250	274	-	-
Fabricación de helados	Metanogénesis	0.48	403	0.78	0.21	0.013
Tetracloroetileno	Metanogénesis	2.38	108	-	0.17	0.015

Fuente: Malina y Pohland (1992)

La Tabla 2.2 muestra una recopilación de datos cinéticos de la transformación de sustratos orgánicos por microorganismos anaerobios en condiciones mesofílicas (Malina y Pohland, 1992), se puede observar la gran variabilidad de valores obtenidos aún utilizando los mismos sustratos. De la misma forma se encuentran estudios basados en una etapa específica de la degradación.

2.11 Aplicación de la ecuación de Arrhenius

El efecto de la temperatura por medio de la ecuación de Arrhenius se presenta por:

$$k_T = k_{T_{ref}} * Q_{10}^{\frac{(T-T_{ref})}{10}} \quad (24)$$

donde:

k es la velocidad de reacción de un proceso dado.

T es la temperatura a la que se lleva a cabo el proceso

T_{ref} es la temperatura de referencia

k_{ref} es la velocidad de reacción a la temperatura de referencia.

Q₁₀ es el incremento relativo en la actividad después de incrementar la temperatura 10°C

Una vez obtenida la cinética de los reactores en los viales, puede calcularse la constante de Arrhenius con base en los productos en cuestión (CH₄) para la metanogénesis, como se desarrolla en esta investigación. Este procedimiento se ha empleado en otros procesos como el análisis de la descomposición anaerobia de suelos sumergidos (Tsutsuki y Ponnampuruma, 1987). También se ha implementado para el análisis de humedales para el control de la mineralización de carbono y nitrógeno (Updegraff et al., 1995) y, de igual manera, se ha empleado para calcular los efectos de la temperatura en la biorremediación de fósforo en un sistema anaerobio-aerobio (Baetens et al., 1999).

Q₁₀ es el incremento relativo en la actividad después de incrementar la temperatura 10°C y su valor está en el intervalo de 1.3 a 28. Esta gran variación se debe a que se consideran los procesos de producción de CH₄, mineralización de carbono en sistemas anaerobios y el incremento de la actividad. Uno de los principales inconvenientes al estudiar el efecto de la temperatura en la degradación de las vinazas ha sido la falta de estudios en este campo que permitan utilizar una velocidad de reacción de referencia.

El empleo de la ecuación 25 se llevó a cabo en un estudio realizado en las instalaciones del Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental (PIQAYQA) de la Universidad Nacional Autónoma de México (lugar donde se llevó a cabo esta investigación), para el tratamiento anaerobio de vinazas procedentes de un ingenio azucarero y cuyos resultados presentados en el apartado de antecedentes, sirvieron como punto de partida a este trabajo. Esto permitirá usarlos como referencia y comparación de datos de los resultados obtenidos (Castro-González, 2004).

Para obtener la constante de degradación de Arrhenius se supone una cinética de primer orden para la degradación de la materia orgánica y la producción de CH₄ acumulada descrita mediante las siguientes ecuaciones (Veeken y Halmers, 1999):

$$CH_4(t) = CH_{4,MAX} [1 - \exp(-K_{CH_4} * t)] \quad (25)$$

donde:

CH₄(t) = producción de metano acumulada en el tiempo en mL (STP)

CH_{4,MAX} = producción máxima de metano en mL (STP)

K_{CH₄} = constante de velocidad de metanogénesis de primer orden (día⁻¹)

t = tiempo (días)

La producción acumulada de metano del sustrato se obtiene después de la corrección por la producción de CH₄ endógena del inóculo. Los valores de los parámetros de CH_{4,MAX} y K_{CH₄}, se estiman por medio de los mínimos cuadrados de la producción acumulativa de CH₄ (Doucet y Sloep, 1992). La rapidez de reacción de la metanogénesis se representa en función de la temperatura mediante la ecuación de Arrhenius

$$K_v = K_o * \exp\left(\frac{-Ea}{RT}\right) \quad (26)$$

donde:

Ea = Energía de activación de la reacción kJ mol⁻¹

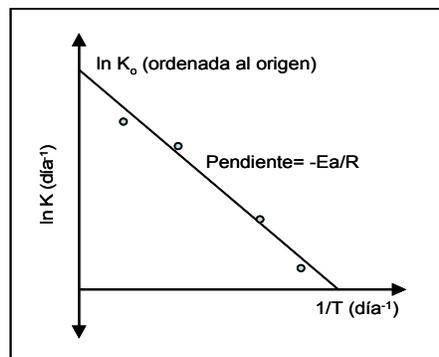
R = constante universal de los gases, kJ (mol*K)⁻¹

K_v = K_{CH₄}; constante de velocidad de metanogénesis (d⁻¹)

K_o = Frecuencia de choques a nivel molecular

Las ecuaciones se resuelven en forma lineal para cada velocidad de acuerdo con la siguiente expresión (Figura 2.4):

$$\ln K_v = -\frac{Ea}{R} * \frac{1}{T} + \ln K_o \quad (27)$$



Fuente: Castro-González (2004)

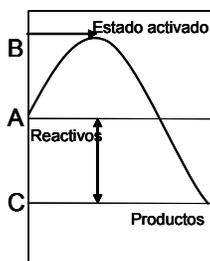
Figura 2.4 Cálculo de la energía de activación

Enfocando el concepto de activación y considerando una reacción simple en la que debe haber un choque entre las partículas reaccionantes antes de que tenga lugar la reacción, a partir de estas consideraciones cinéticas es relativamente sencillo calcular el número de choques que tienen lugar entre las moléculas en una cantidad dada del sistema y en un intervalo dado de tiempo. El número de choques pueden compararse entonces con el rendimiento de los productos. Estas consideraciones llevan a la conclusión de que únicamente una fracción pequeña de estos choques resulta en una interacción. Los conceptos de estado activado y de energía de activación se han introducido para explicar el número pequeño de choques fructíferos en la mayoría de las reacciones químicas (Vollersten et al., 1999).

De acuerdo con las teorías actuales, la reacción tiene lugar únicamente cuando los reactivos tienen una cantidad adicional de energía por encima de la que poseen las moléculas promedio del reactivo en el sistema. Esta cantidad adicional de energía es conocida como energía de activación y cuando las moléculas poseen esta energía de activación se dice que están en estado activo. La energía de activación es el factor principal que determina la velocidad de una reacción.

Cuanto mayor es la energía de activación necesaria, menor es el número de moléculas que la poseen y más lenta es la reacción a una temperatura dada. Por otro lado, cuanto mayor es la temperatura, mayor será el número de moléculas en el estado activo, a igualdad de todos los demás factores, lo que explica que las velocidades de las reacciones aumenten con la temperatura y la rapidez de aumento de la velocidad con la temperatura puede calcularse matemáticamente.

La energía de activación es siempre positiva, es decir, debe agregarse energía para producir moléculas activadas. Los productos que resultan de la interacción de las moléculas activadas están activados también, por lo que deben perder su energía de activación para pasar a un estado normal. El que la reacción sea exotérmica o endotérmica depende de los valores comparativos de energía de activación de los productos y los reactivos como se ilustra en la Figura 2.5.



Fuente: Crockford y Knight (1964)

Figura 2.5. Relación entre las energías de activación y el calor de reacción

Para que los reactivos puedan reaccionar debe adquirir una energía de actividad igual o AB. Después de la reacción los productos pierden su energía de activación, que en la Figura 2.5

corresponde a BC. Aquí, la energía de activación liberada por los productos es mayor que la energía absorbida por los reactivos por lo que el efecto neto será un desprendimiento de calor, que sería el calor de reacción si la reacción tuviese lugar a volumen constante. El calor de reacción a volumen constante está representado por el símbolo ΔE . Cuando es negativo, la reacción es exotérmica. Si la energía de activación de los reactivos es mayor que la de los productos, el calor de reacción es positivo y la reacción es endotérmica. En la Tabla 2.3 se presentan una recopilación de resultados obtenidos para energías de activación en sistemas anaerobios con variedad en el origen del inóculo y en la rapidez a determinar (Aspe et al, 1997; Veecken y Halmers, 1999)

Tabla 2.3 Energía de activación para sistemas anaerobios

Origen del inóculo	Rapidez a determinar	Intervalo de temperatura °C	Ea (kJ mol ⁻¹)
Biodegradación de partículas orgánicas	Hidrólisis	20 – 25	100
Ácido butírico → Ácido acético	μ (h ⁻¹)	35 – 55	89
Methanobacterium arborifilus	Actividad metanogénica	20 – 35	80
Methanothrix soehngenii	Actividad metanogénica	25 – 38	71
Reactor anaerobio de lecho fijo	Utilización de sustrato	10 – 30	71
Digestión de lodo (adaptado)	Actividad metanogénica	15 – 25	65
Lodo de desecho	μ_{max}	20 – 35	52
Digestión de lodo no adaptado	Actividad metanogénica	15 – 30	50
Biodegradación de partículas orgánicas	Hidrólisis	20 – 30	50
Lodo granular	Actividad metanogénica	36 - 46	44
Ácido acético → CH ₄	μ (Methanothrix) h ⁻¹	35 – 55	43
Ácido propiónico → Ácido acético	μ (h ⁻¹)	35 – 55	41
H ₂ /CO ₂ → CH ₄	μ (Methanosarcine) h ⁻¹	35 – 55	40
Lodo de desecho	K	20 – 35	32
Reactor anaerobio de lecho fijo	Carga orgánica	18 – 37	30
Sedimentos de lagos (adaptados)	Actividad metanogénica	15 – 30	28
Escherichia coli	μ_{max}	26 - 37	16
Klebsiella aerogenes	μ_{max}	20 – 40	14
Aspergillus nidulans	μ_{max}	20 – 37	14
Sedimento marino	μ_{max}	18 – 37	23
Sedimento marino	K	18 – 37	27
Sedimento marino	Sulfato - reducción	1 – 17	65
Sedimento marino	Sulfato – reducción	13 – 25	83
Sedimento marino	Sulfato – reducción	4 – 10	93
Desecho de hojas	Metanogénesis	20 – 40	66
Corteza de árbol	Metanogénesis	30 – 40	91
Paja	Metanogénesis	20 – 40	66
Cáscaras de naranja	Metanogénesis	20 – 40	45
Pasto	Metanogénesis	20 – 40	77

Fuente: Aspe et al. (1997); Veecken y Halmers (1999)

De la misma forma, en la Tabla 2.4 se presentan las constantes de velocidad de metanogénesis obtenidas para seis materiales residuales a 20, 30 y 40°C (Veecken y Halmers, 1999).

Tabla 2.4 Constantes de velocidad de metanogénesis K_H

Material residual	Constantes de velocidad de reacción, metanogénesis (d^{-1})		
	20°C	30°C	40°C
Industria de alimentos	-	0.195	-
Desecho de hojas	0.068	0.215	0.386
Corteza de árbol	-	0.076	0.240
Paja	0.024	0.087	0.140
Cáscaras de naranja	0.145	0.264	0.474
Pasto	0.035	0.090	0.266

Fuente: Veecken y Halmers (1999)

2.12 Antecedentes de tratamientos anaerobios empleando reactores UASB

Como se ha dicho en el apartado correspondiente a la descripción de los reactores tipo UASB, su evolución histórica comienza en los años 80 del siglo XX y ha venido en incremento, tanto en utilización como en el tipo de agua residual tratada y poco a poco a llegado a usos a escala industrial permitiendo de esta forma perfeccionar cada uno de los parámetros de operación. Es por esta razón que se ha considerado dar una pequeña revisión a esta evolución en este apartado. Las Tablas 2.5 a 2.8 han retomado algunos de las aplicaciones en que el reactor tipo UASB ha sido utilizado, clasificando las escalas de acuerdo con el volumen del reactor. Esta clasificación se presenta de la siguiente forma:

Volumen (Litros)	Escala	Sigla
0 – 10	Laboratorio	(L)
10 – 100	Piloto	(P)
100 – 1000	Planta piloto grande	(LP)
1000 – 10000	Demostración	(D)
> 10000	Escala industrial	(EI)

Claramente se pueden observar las variaciones que en cada lugar del mundo se ha dado al uso de los reactores UASB, aunque la mayoría de los trabajos se han desarrollado para el tratamiento de aguas residuales municipales, también es posible encontrar aplicaciones a nivel industrial, entre ellas el tratamiento de vinazas con poca participación. Esto le da más importancia al objetivo de esta investigación ya que puede permitir obtener información cinética de la generación de metano usando reactores del tipo UASB.

La presente investigación se enfoca a obtener las constantes del modelo cinético para la producción de biogás en reactores anaerobios del tipo UASB trabajando a diferentes temperaturas (45, 55 y 65°C) tratando aguas residuales (vinazas) provenientes de un ingenio azucarero del estado de Veracruz, México. La descripción de los mismos se presenta en el Capítulo 3, correspondiente a la metodología.

Tabla 2.5. Evolución histórica del uso de reactores UASB I

Referencia y región	Agua residual tratada ¹	Tasa de carga orgánica ² (kg/m ³ .d)	Tiempo de residencia hidráulico (h)	Eficiencia de remoción (%)	Temperatura (°C) y escala
Pretorius (1971) Sudáfrica	Agua residual cruda (500 mg/L)	0.5	24	90	20, L
Frostell (1981) Suecia	Agua residual sintética	2.5-10	20.6-53.3	68-87	30, L
Kato et al. (1997) Brasil	Sintética (suero y etanol) (113-722 mg/L) (127-675 mg/L)	0.2-6.8	2.6-29	30-99	30, L
Ruiz et al. (1997) España	Cárnicos (5200-11400 mg/L)	1.03-6.58	28.8-156	59-93	37, L
Kalyuzhnyi et al. (1998) México	Patata-maíz (cruda) (5500-18100 mg/L)	0.63-13.89	15.6-144	63.4-81.3	35, L
Kalyuzhnyi et al. (1998) México	Patata-maíz (preclarificada) (3600-9000 mg/L)	5.02-15	14.4-43.2	71.1-93.6	35, L
Elmitwalli et al. (1999) Holanda	1. Agua residual cruda (456 mg/L)	1.37	8	65	13, L
	2. ARC presedimentada (344 mg/L)	1.03		59	
Bodik et al. (2000) Eslovaquia	Agua residual municipal (310 mg/L)	0.62	12	37-48	9,15, L
Syutsubo et al. (2000) Japón	1. Agua residual destilería de alcohol	9	8	94-99	55, L
	2. Agua residual sintética de acetato				
	3. Sucrosa (3000 mg/L)				
Kalogo et al. (2001) Bélgica	AR doméstica (320 mg/L)	1.99	4	65	29, L
Kalyuzhnyi et al. (2001) Rusia	Agua residual vinícola (2000-4200 mg/L)	1.7-4.7	0.86-1.15 días	57-68	4.8-10.3, L
Kalyuzhnyi et al. (2001) Rusia Dos fases UASB+UASB	Agua residual vinícola (1500-4300 mg/L)	1.3-2.2	1.8-2.0 días (total)	71-78 (total)	3.9-10.2, L
Lacalle et al. (2001) España UASB + filtro aereado de flujo ascendente	Agua residual industria alimentos (10.4 g/L)	1.27-2.76	4.51-13.0 días (total)	96-99 (total)	33, L
Nadais et al. (2001) Portugal	Agua residual de lechería				
	1. 5.9, 11.9 g/L	1. 11.8, 23.8	1. 12	1. 93, 85	35, L
	2. 5.9, 5.8 g/L	2. 11.8, 11.6	2. 12	2. 93, 93	
3. 5.9, 5.6 g/L	3. 11.8, 22.4	3. 12, 6	3. 93, 74		
Nunez & Martínez (2001) España UASB + proceso de lodos activados	Agua residual cárnicos (1533-1744 mg/L)	2.62-6.73	6.0-16.0	85 (total)	35, L
Lettinga et al. (1983) Holanda	Agua residual cruda (520-590 mg/L)	1.39-1.57	9	57-79	21, P
Gnanadipathy & Polprasert Tailandia (1993)	Agua residual doméstica (450-750 mg/L)	0.9-6.0	3.0-12.0	90	30, P
Sayed & Fergala (1995) Egipto. Reactor UASB de dos fases	Agua residual doméstica (200-700 mg/L)	1.22-2.75 _a	10 (8+2)	61-66 _a	18-20, P and L
		1.70-6.20 _b	8 (6+2)	32-46 _b	
			6 (4+2)	74-82 (total)	
Tang et al. (1995) Puerto Rico	Agua residual doméstica (782 mg/L)	0.782-3.128	6.0-72	70.9	~20, P
Agrawal et al. (1997) Japón UASB	Agua residual cruda (300 mg/L)	1.03	7	(70 mg/L)	7-30, P

Fuente: Yasemin y Stremstrom (2002)

Tabla 2.6. Evolución histórica del uso de reactores UASB II

Referencia y región	Agua residual tratada ¹	Tasa de carga orgánica ² (kg/m ³ .d)	Tiempo de residencia hidráulico (h)	Eficiencia de remoción (%)	Temperatura (°C) y escala
Cheng et al. (1997) Taiwán	AR manufacturera ácido tereftálico (4.66 g/L)	0.39-3.25	1.5-4.6 días	21-73	35, P
González et al. (1998) Cuba	Melazas de caña de azúcar (3640-3820 mg/L)	2.3-7.15	0.52-1.65 días	59.9-91	24-32, P
Goncalves et al. (1999) Brasil UASB+biofiltro aerobio	Agua residual doméstica (297-463 mg/L)	1.39-1.84	4.0-8.0 4.11-8.23	68-73 82-92	ND,P
Lettinga et al. (1983) Holanda	Agua residual cruda (420-920 mg/L)	ND	32-40	48-70	12-18, LP
Lettinga et al. (1983) Holanda	Agua residual cruda (248-581 mg/L)	ND	12	72	18-20, LP
De Man et al. (1986) Holanda	Agua residual municipal (100-900 mg/L)	ND	8.0-14.0	45-72	7-18, LP
Vieira & Souza (1986) Brasil	1. Agua residual sedimentada (341 mg/L)	1. 2.05	4	1. 65	1. 35, LP
	2. Agua residual cruda (424, 406 mg/L)	2. 2.54, 2.44		2. 60, 65	2. 20, 23, LP
De Man et al. (1988) Holanda	Agua residual doméstica (190-1180 mg/L)	ND	7.0-8.0	30-75	12-20, LP
Monroy et al. (1988) México	Agua residual doméstica (465 mg/L)	ND	12.0-18.0	65	12-18, LP
Barbosa & Sant'Anna (1989) Brasil	Agua residual cruda (627 mg/L)	3.76	4	74	19-28, LP
Singh et al. (1996) Tailandia	Agua residual sintética (500 mg/L)	4	3	90-92	20-35, LP
		3	4		
		2	6		
		1.2	6		
Chernicharo & Machado (1998) Brasil. Sistema UASB/AF	Agua residual doméstica (640 mg/L)	ND	4.0-6.0	80	ND,LP
			1.5-24 (AF)	85-90 (total)	
Castillo et al. (1999) España UASB+ dos reactores RBC	Agua residual doméstica 1. 363-625 mg/L 2. 613-666 mg/L	1. 1.45-10 2. 13-9.81	1.5-7.5 3-10 (total)	1. 27-70 2. 22-55 82-99 (total)	1. 18-20, LP 2. 12-13, LP
				65-77 74-88 (total)	
Chernicharo & Nascimento Brasil (2001) UASB+Filtro percolador	Agua residual doméstica (420-666 mg/L)	0.44-2.52	4	65-77 74-88 (total)	ND, LP
Torres & Foresti (2001) Brasil UASB + SBR	Agua residual doméstica (103-250 mg/L)	0.412-1	6	65 92(total)	14-25, LP
Von Sperling et al. (2001) Brasil UASB+ Proceso lodos activados	Agua residual municipal (386-734 mg/L)	2.32-4.4	4 (total): 7.9-11.2	68-84 (total): 85-93	ND,LP
Scheleiten Gerhard (2002) Chile UASB+lodos activados	Agua residual riles industria cervecera (2750 mg/L)	2.7-6.5	4	UASB: 70	13-25 LP
				Aerobio: 90	
				Total: 97	

1 mg/L DQO a menos que se indique lo contrario
2 DQO a menos que se indique lo contrario
a- Corresponde a la primera fase la cual consiste en dos reactores UASB trabajando alternadamente (uno a la vez)
b- Corresponde a la segunda fase la cual consiste en un reactor UASB
c- El sistema consiste de un reactor UASB seguido de filtros anaerobios de flujo ascendente y descendente

Fuente: Yasemin y Stremstrom (2002)

Tabla 2.7. Evolución histórica del uso de reactores UASB III

Referencia y región	Agua residual tratada ¹	Tasa de carga orgánica ² (kg/m ³ .d)	Tiempo de residencia hidráulico (h)	Eficiencia de remoción (%)	Temperatura (°C)
Escala de demostración					
Craverio et al. (1986) Brasil (CSTR+ UASB)	Agua residual de una embotelladora (1.3-8 g/L)	2.0-13-0	6.0-8.0	80.9	35
				84.4 (total)	
De Man et al. (1986) Holanda	Agua residual municipal (100-900 mg/L)	ND	9.0-16.0	46-60	10.0-18.0
Karnchanawong et al. (1999) Tailandia	Agua residual doméstica (64.6-94.7 DBO mg/l)	0.13-0.51	4.5-12	52.6-69.4 DBO	ND
Martinez et al. (2001) Uruguay	Agua residual de una maltería	0.25-6	ND	85	15, 28, 30

Fuente: Yasemin y Stremstrom (2002)

Tabla 2.8. Evolución histórica del uso de reactores UASB IV

Referencia y región	Agua residual tratada ¹	Tasa de carga orgánica ² (kg/m ³ .d)	Tiempo de residencia hidráulico (h)	Eficiencia de remoción (%)	Temperatura (°C)
Escala Industrial					
Campos et al. (1986) Brasil	Agua residual de una procesadora de vegetales y	0.78-1.36	7.5-24	66-76	29-30
De Man et al. (1986) Holanda	Agua residual municipal (394-872 mg/L) (100-900 mg/L) (150-5500 mg/L)	ND	6.2-18	31-49	11.0-19.9
Pol & Lettinga (1986) Holanda	a. Agua residual cervecería (1-1.5 g/L)	4.5-7.0	5.6	75-80	20-24
	b. Agua residual destilería de alcohol (4-5 g/L)	11.5-14.5	8.2	92	32-35
	c. Agua residual empresa almidón de maíz (10 g/L)	15	18.3	90-95	40
	d. Agua residual de la industria del papel (3 g/L)	10.5	8.0-10	75	30-40
	e. Agua residual industria papelera (~1 g/L)	4.4-5	5.5	70-72	26-30
Lettinga et al. (1987) Colombia	Agua residual doméstica (267 mg/L)	2	6.0-10	75-82	25
Collivignarelli et al. (1991) Italia	Agua residual municipal (205-326 mg/L)	ND	12.0-42	31-56	7.0-27
Draaijer et al. (1992) India	Agua residual municipal (563 mg/L)	2.25	6	74	20-30
Kiryama et al. (1992) Japón	Agua residual municipal				
	a. 297 mg/L	a. 0.65	1.8	58	12
	b. 286 mg/L	b. 0.73		69	24
	c. 394 mg/L	c. 0.97		73	28
Van der Last & Lettinga (1992) F Holanda	Agua residual doméstica presed. (391 mg/L)	1.34-4.69	2.0-7.0	16-34	>13
Vieira & Garcia (1992) Brasil	Agua residual doméstica (188-459 mg/L)	0.62-1.88	5.0-15.0	60	18-28
Defour et al. (1994) Bélgica	Agua residual procesadora de tomates (2600 mg/L)	8	7	90	ND
Defour et al. (1994) Bélgica	Agua residual procesadora de tomates (12500 mg/L)	12	18	78	ND
Defour et al. (1994) Francia	Agua residual cervecería (4200 mg/L)	5	17	89	ND
Defour et al. (1994) Holanda	Agua residual industria de almidones (5500 mg/L)	18	7.5	82	ND
Schellinkhout (1994) Colombia	Agua residual (380 mg/L)	1.82	5	45-60	24
Vieira et al. (1994) Brasil	Agua residual (402 mg/L)	1.38	7	74	16-23
Tare et al. (1997) India	Agua residual doméstica (1183 mg/L)	3.55	8	51-63	18-32
Tare et al. (1997) India	Agua residual doméstica (404 mg/L)	1.21	8	62-72	18-32
Chernicharo & Borges (1997) Brasil	Agua residual doméstica (600 mg/L)	1.11	13	68	ND
Vinod et al. (1997) India	Agua residual doméstica (133-254 mg/L)	1.1	8	49-65	ND
Vinod et al. (1997) India	Agua residual doméstica (551-730 mg/L)	5.63	8	24-50	ND
Yu et al. (1997) India	Agua residual municipal	0.7	12	49-78	15-25
Chernicharo & Cardoso (1999) Brasil	Agua residual doméstica (712 mg/L)	2.28	7.5	79	ND
Karnchanawong et al. (1999) Tailandia	Agua residual doméstica (409.5-517.7 mg/L)	0.41-2.16	4.5-24	59.9-76.4	30.9
Del Nery et al. (2001) Brasil DAF+UASB (R1, R2)	Agua residual de cárnicos (2361 mg/L)	0.51-2.11	1.47-5.29 días	47.8-84.4 (R1) 54.5-83.4 (R2)	ND
Florencio et al. (2001) Brasil UASB+laguna de pulimiento	Agua residual doméstica (290-563 mg/L)	0.79-1.40	8.8-9.7	71-83 84 (total)	79- 30.2-31
Rodríguez et al. (2001) Colombia	Agua residual doméstica (463-538 mg/L)	0.037-1.81	6.7-24.9	73-84	24-27

¹ mg/L de DQO si no se indica lo contrario

² DQO a menos que se indique lo contrario

Fuente: Yasemin y Stremstrom (2002)

Al buscar antecedentes cinéticos de tratamiento anaerobio en este tipo de reactores tratando vinazas se ha notado que existe relativamente poca información en este campo y por esta razón esta investigación se fundamenta en el trabajo de Castro-González (2004).

Como punto central de esta investigación se observó la competencia que existe entre las bacterias metanogénicas y las sulfato-reductoras en la degradación anaerobia de vinazas en reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA o UASB, por sus siglas en inglés) a 35, 45 y 55°C. Esta investigación se desarrolló en 5 etapas:

- Adaptación de la biomasa anaerobia a condiciones mesofílicas (35°C) de un reactor de 10 L.
- Adaptación de la biomasa anaerobia de condiciones mesofílicas a mesofílicas intermedias y termofílicas, trabajando a 45 y 55°C en dos reactores de 1.6 L y arrancando un tercero a 35°C del mismo volumen.
- Pruebas de actividad metanogénica y sulfato-reductora de la biomasa adaptada a la vinaza, con otros sustratos y con la vinaza misma.
- Aplicación de la ecuación de Arrhenius a la metanogénesis y la sulfato-reducción en biomasa adaptada a vinazas en pruebas intermitentes para evaluar el efecto de la temperatura en la producción de gases.
- Determinación de los parámetros cinéticos K_s , k , k_d , Y y μ_{max} empleando la ecuación de Monod a las tres temperaturas.

A continuación se presentan algunos de los resultados obtenidos y de relevancia para esta investigación.

Tabla 2.9. Parámetros cinéticos de los lodos de los reactores de 1.6 L evaluado con vinazas en viales

	K_s	k	Y_b	k_d	μ_{max}
	(gDQO/L)	(día ⁻¹)	(g/g)	(día ⁻¹)	(día ⁻¹)
35 °C	118.17	0.02894	1.2250	0.0266	0.0355
	120.81	0.03075	1.3795	0.0347	0.0424
<i>promedio</i>	119.49	0.02984	1.3022	0.03065	0.03895
45 °C	103.87	0.10323	0.8818	0.0509	0.091
	108.18	0.10489	0.7490	0.0286	0.0786
<i>promedio</i>	106.02	0.10406	0.8154	0.0397	0.0848
55 °C	87.36	0.45917	0.9171	0.0745	0.4211
	90.59	0.35143	0.9585	0.0555	0.3368
<i>promedio</i>	88.97	0.4053	0.9378	0.065	0.3789

Fuente: Castro-González (2004)

Tabla 2.10. Rapidez de reacciones obtenidas para la producción de CH₄ y H₂S en pruebas en viales

Temperatura (°C)	CH ₄			H ₂ S		
	35	45	55	35	45	55
Rapidez de reacción K (día ⁻¹)	0.0309	0.053	0.1388	0.0072	0.0146	0.0227

Fuente: Castro-González (2004)

Tabla 2.11. Energías de activación obtenidas para la producción de CH_4 y H_2S en pruebas en viales

Parámetro	CH_4	H_2S
Constante de Arrhenius (dia^{-1})	$1.32 \cdot 10^9$	$1.18 \cdot 10^6$
Energía de activación (kJ/mol)	62.8 kJ/mol	48.3 kJ/mol

Fuente: Castro-González (2004)

2.13 Vinazas

En el apartado correspondiente al planteamiento del problema se han nombrado algunas de las características fisicoquímicas de las vinazas. La vinaza es un residuo industrial del proceso de la destilación alcohólica que posee características propias, que lo convierten en un agente muy contaminante del medio ambiente. Ésta contiene materia orgánica abundante que incluye una cantidad considerable de fenoles y sus polímeros, los cuales son difíciles de degradar biológicamente y poseen propiedades antimicrobianas y fitotóxicas que impiden el tratamiento eficiente por degradación microbiológica, especialmente aerobia.

La composición de la vinaza varía con el origen de la materia prima y las condiciones del proceso, siendo por lo general de color oscuro y olor característico de carácter ácido. Los contaminantes en las aguas residuales son una mezcla compleja de compuestos químicos orgánicos e inorgánicos; por lo que normalmente no es práctico obtener un análisis completo de las aguas residuales (Ramalho, 1993).

El proceso de obtención de etanol ya fue descrito en el primer capítulo, pero en un amplio rango se puede decir que empieza con la dilución de las melazas con agua caliente desde aproximadamente 90 hasta 8°Brix. A continuación se deben agregar fuentes de nitrógeno como el sulfato de amonio, una fuente de potasio como el fosfato de amonio y se debe ajustar el pH a 4.0, generalmente con ácido sulfúrico. Después es fermentado durante un tiempo y el alcohol es separado utilizando destilación, el residuo líquido conocido como vinazas sale del proceso a temperaturas entre 70 y 80°C.

La variabilidad de procesos llevados a cabo para destilar el etanol y de la composición de las materias primas utilizadas no permite realizar una estandarización en las propiedades físico-químicas, es por esta razón que los datos reportados en la caracterización de las vinazas se presentan en diferentes concentraciones para cada lugar del mundo.

En las tablas de referencia que se mostrarán a continuación se encontrarán algunas diferencias en las características de las vinazas, debido a la variedad de tipos de caña de azúcar, al tipo de suelo, al agotamiento de las melazas y a la separación o no de la levadura utilizada.

En la Tabla 2.12 se presentan de modo general las características más comunes de las vinazas y los intervalos en los que se pueden encontrar cada una de ellas. Esta recopilación corresponde a un estudio del instituto indio de la caña de azúcar.

En la Tabla 2.13 se hace una recopilación de las características fisicoquímicas de diferentes tipos de vinazas y de diferentes países del mundo. La información de las seis primeras columnas fue tomada de Rosas (1998), la información correspondiente a la séptima columna es de Cuba (Obaya, 2004) y en la octava columna se encuentra la información de Cádiz en España tomada de Pérez et al. (2006).

Tabla 2.12. Características físico-químicas de la vinaza

CARACTERISTICAS	PROMEDIOS
Temperatura, °C	78.0 - 82.0
Valor de pH	3.7 - 4.5
Sólidos totales, %p/p	9 - 12
DQO, mg/L	80000 - 120000
DBO ₅ , mg/L	45000 - 50000
Cloruros, mg/L	5000 - 6000
Sulfatos, mg/L	4000 - 8000
Sodio, mg/L	400 - 600
Potasio, mg/L	8000 - 12000
Nitrógeno total, mg/L	1000 - 1200
Fósforo, mg/L	200 - 300
Calcio, mg/L	2000 - 3500

Fuente: Nimbalkar (2005)

Las caracterizaciones típicas de las vinazas dejan a un lado la participación que los elementos tienen en la composición y que, en un dado momento, dependiendo de las condiciones del proceso y de la concentración de los mismos, pueden llegar a servir de estimuladores de la degradación anaerobia o pueden jugar un papel como inhibidores (Pandiyar et al., 1999). Es por esta razón que en este trabajo se analizarán los contenidos de metales de los lotes de vinazas que se empleen, siendo importante contar con estudios donde muestra una caracterización más completa para enriquecer los datos de la Tabla 2.12 con la presencia o ausencia de los metales y esto se presenta en la Tabla 2.14.

2.14. Actividad metanogénica específica (AME)

La actividad metanogénica es una característica que indica la capacidad de la biomasa para transformar la materia orgánica en metano; se define como la masa de sustrato en forma de DQO que es convertida a metano por unidad de masa de biomasa y por unidad: $\text{g DQO-CH}_4 (\text{g SSV d})^{-1}$.

La actividad metanogénica se mide bajo condiciones de saturación de sustrato; por lo tanto, la concentración de ácidos grasos volátiles deberá ser suficiente para su difusión en el lecho del lodo sin ninguna limitante. También deben adicionarse macro y micronutrientes, una solución amortiguadora (“buffer”, en inglés) para mantener el pH cercano a 7, mientras su incubación puede hacerse con o sin agitación a la misma temperatura de operación del sistema evaluado.

Tabla 2.13. Caracterización de las vinazas alrededor del mundo

Parámetros	Brasil	Grecia	Austria	India	Venezuela	México	Cuba	España
Sustrato	jugo de caña	jugo de uva	melazas de betabel	melazas de caña	melazas de caña	melazas de caña	melazas de caña	jugo de uva
pH	3.5	4.2	4.8 -5.2	3.4 - 4.5	3.4	4.2	4.4	3.4 - 4.0
DQO (g/L)	22	27.5	45 - 50	60 - 160	109	127.7	71.2	20.4 - 21.1
DBO (g/L)	15	16	--	27 - 52	43	--	--	14.6
ST (g/L)	--	36	100	50 - 140	117	89.6	52.67	--
STV (g/L)	--	--	--	--	84	65.1	38.67	--
SST (g/L)	1.47	32	--	2.0 - 14	14	3.5	5.14	--
SSV (g/L)	1.24	--	--	--	13	2.5	7.59	1.2 - 1.4
N total (mg/L)	400	650	--	330-1730	1200	1228	210	226-280
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	5	--	110-130	55-900	600	108	--	16-17
Fosfatos (mg/L)	58	65	120	19 -184	140	640	210	130-150
Sulfatos (mg/L)	400	120	300	3000 - 16000	6800	5762	15810	--
Potasio (mg/L)	--	ND	--	4000 -10000	6300	8122	--	1700 -2250
Calcio (mg/L)	170	--	--	500 -700	1600	--	5500	--

Fuente: Tomado y adaptado de Rosas (1998)

Tabla 2.14. Caracterización de vinazas incluyendo metales

Parámetros	Colombia (Cobos. 2007)	México (Rosas. 1998)	México (Rosas. 1998)	México (Castro.2004)
Sustrato	melaza de caña	melaza de caña	melaza de caña	melaza de caña
pH	4.65	4.15	4.5	4.34
DQO (g/L)	97 – 130	76	117	90-120
DBO (g/L)	42 – 480	NA	NA	87-90
ST (g/L)	NA	76	120	72.16
STV (g/L)	NA	54	98	47.25
SST (g/L)	5 – 11	21	15	9.5
SSV (g/L)	NA	17	12	6.11
N total (mg/L)	NA	NA	NA	1880
Fosfatos (mg/L)	NA	NA	NA	1250
Sulfatos (mg/L)	1124	4430	2200	15000
Cloruros (mg/L)	ND	NA	NA	NA
Potasio (mg/L)	682	8808	6320	2550
Calcio (mg/L)	104	NA	3294	2960
Conductividad	122 mV	NA	14600 μ mhos/cm	NA
Hierro (mg/L)	4.8	88	66	NA
Cobre (mg/L)	0.19	NA	NA	NA
Manganeso (mg/L)	0.44	NA	NA	NA
Aluminio (mg/L)	2.25	NA	NA	NA
Zinc (mg/L)	1.36	NA	NA	NA
Magnesio (mg/L)	98.04	536	728	1370
Sodio (mg/L)	56.2	322	436	310
Cobalto (mg/L)	NA	ND	ND	NA
Niquel (mg/L)	NA	ND	ND	NA
Molibdeno (mg/L)	NA	ND	ND	NA

NA= No analizado

ND= No detectado

Fuente: adaptación del autor

En estas condiciones ambientales los microorganismos presentes en el lodo podrán llevar a cabo la transformación del sustrato y de esta forma calcular la tasa máxima de producción de metano para el lodo bajo estudio.

La determinación de la actividad metanogénica es útil en muchas ocasiones. En el período de arranque de un nuevo digestor sirve para estimar la carga orgánica inicial de arranque. Durante las fases siguientes a este período, la determinación regular de la actividad del lodo lleva información acerca del desarrollo del inóculo. Un cambio en la actividad del lodo puede ser provocado por una inhibición o una acumulación de materia orgánica poco degradable o no degradable (Castro-González y Durán-de-Bazúa, 2005).

Resultados muestran que la actividad metanogénica máxima de lodos provenientes de reactores anaerobios puede ser determinada utilizando pequeños viales conectados a frascos Mariotte conteniendo un fluido alcalino. Un procedimiento diferente basado en la medición cromatográfica del espacio ocupado por los gases generados permite su evaluación. Este método es adecuado para producciones muy bajas de metano y puede ser aplicado para la determinación de actividades metanogénicas en concentraciones de sustrato por debajo de la constante de saturación media (Soto et al, 1993).

A continuación se presentan valores de actividad metanogénica específica encontrados en diferentes investigaciones que permiten obtener una idea de los posibles resultados de las pruebas dependiendo del sustrato y de las condiciones operacionales. Fang y Chung (1999) realizaron estudios bajo condiciones mesofílicas (37°C) y termofílicas (55°C) en un reactor del tipo UASB con volumen útil de 2.8 L para un agua residual con un alto contenido de proteínas con una carga orgánica variable en una etapa inicial de 8 a 22 gDQO L⁻¹ d⁻¹ con una equivalencia en DQO de 3000 a 8250 mg L⁻¹ y una etapa final con carga de 40 gDQO L⁻¹ d⁻¹.

Se obtuvieron remociones de DQO en la etapa mesofílica de 68.5 – 82.5% de DQO y en la termofílica de 53.8%. Se realizaron pruebas de AME obteniendo para el ácido acético un valor de 0.92 para condiciones mesofílicas y 1.31 gDQO-CH₄ gSSV⁻¹d⁻¹ para la termofílica, mostrando un alto rendimiento gracias al tratamiento de moléculas de fácil degradación. El valor obtenido de AME en esta investigación para 55°C es de 0.110 y 0.054 para ácido acético y vinazas, respectivamente.

Syutsubo et al. (1997) realizaron el acondicionamiento de un lodo mesofílico (35°C) que trataba un agua residual rica en carbohidratos a condiciones termofílicas (55°C) tratando agua residual proveniente de la destilación del alcohol, en un reactor a escala laboratorio con volumen total de 12 L. Se trabajó en etapas con incrementos de DQO de 3000 a 6000 y 9000 mg DQO L⁻¹.

El tiempo empleado para obtener la estabilización del reactor fue superior a 200 días, realizando pruebas de AME para ácido acético en el día 0, 50, 150 y 200, obteniendo 0.3, 0.5, 1 y 1.2 gDQO-CH₄ gSSV⁻¹d⁻¹, respectivamente. Nuevamente se observan valores altos de AME al tratar aguas con bajo DQO para condiciones termofílicas y tiempos altos de adaptación.

Seghezzi et al. (2002) trataron agua residuales con una DQO de 200 mg L⁻¹ a temperatura alrededor de 20°C y un tiempo de residencia hidráulica de 7 horas, obteniendo AME de 0.113 gDQO-CH₄ gSSV⁻¹d⁻¹. De esta información puede deducirse que un agua residual tan compleja como las vinazas reduce la actividad de los consorcios microbianos debido a los diferentes tipos de inhibiciones a los que se pueden someter.

Cabirol et al. (2003) estudiaron la aclimatación de lodo mesofílico proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la cervecería Cuauhtémoc - Moctezuma a condiciones

termofílicas con el fin de eliminar de esta forma los elementos patógenos y de la misma manera emplearlo como inóculo en plantas y procesos de tratamiento. Se usó un reactor de 4 L de capacidad inoculado con 2600 mL de lodo mesofílico y 400 mL de solución mineral de Balch, junto a una mezcla de ácidos acético, propiónico y butírico.

El incremento de temperatura fue súbito y la alimentación del reactor se llevaba a cabo cada semana con 30 mL de una mezcla de los mismos ácidos nombrados en este apartado. Se llevaron a cabo pruebas de actividad metanogénica del inóculo a 35°C, una vez realizado el incremento de temperatura a 55°C y pasado un mes y medio de la adaptación de la temperatura.

La Tabla 2.15 presenta los valores reportados de actividad metanogénica específica del trabajo llevado a cabo por Cabirol et al. (2003).

Se puede observar que la AME realizada con ácido acético presenta un valor de 0.04 y en el tiempo 1 se incrementó a 0.21 gDQO-CH₄ gSSV⁻¹d⁻¹. El valor de AME a 55°C de esta investigación corresponde a 0.11 gDQO-CH₄ gSSV⁻¹d⁻¹.

Es importante anotar que el lodo anaerobio también recibió un incremento súbito de temperatura, además de las complicaciones que de por sí presenta un agua residual compleja como las vinazas.

Tabla 2.15. *Actividad metanogénica específica de Cabirol et al (2003)*

AME gDQO-CH ₄ gSSV ⁻¹ d ⁻¹	Inóculo 35°C	Tiempo 0 a 55°C	Tiempo 1 (1.5 mes)
Ácido acético	0.04	0.009	0.21
Ácido propiónico	0.04	ND	0.17
Ácido butírico	0.04	ND	0.21
Hidrógeno	0.09	0.001	0.64

Fuente: Cabirol et al (2003)

3. MATERIALES Y METODOLOGÍAS ANALÍTICAS

La estrategia de la presente investigación se encuentra enfocada a conseguir el objetivo general propuesto y es por esta razón que se han planteado etapas que lleven a un buen logro del mismo y que se describen en cada uno de los siguientes puntos.

3.1 Caracterización de las vinazas a utilizar

Las vinazas utilizadas en esta investigación provienen del estado de Veracruz, la zona de México con mayor cantidad de ingenios azucareros.



Fuente: Ingenio La Gloria (2006)

Figura 3.1 Generación de vinazas en un ingenio azucarero mexicano con destilación de alcohol

A continuación se presenta la metodología desarrollada para caracterizar las vinazas utilizadas en esta investigación y en los Apéndices se explicarán algunas de las técnicas empleadas en detalle.

3.1.1 Valor de pH, sólidos totales y volátiles. La realización de estos métodos se fundamenta en los procedimientos estandarizados para análisis de agua potable y residuales (APHA, 1985)

- pH: Método electrométrico (4500 H⁺B)
- Sólidos totales: Sólidos totales secados a 103 – 105°C (2540 B)
- Sólidos volátiles: Sólidos fijos y volátiles incinerados a 550°C (2540 E)

3.1.2 Demanda química de oxígeno (DQO). La determinación de la materia orgánica medida como demanda química de oxígeno se llevó a cabo empleando el método colorimétrico de reflujo cerrado (Oaxaca – Grande, 1997). El método completo se encuentra detallado en el Apéndice A1.

3.1.3. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO). La determinación de la demanda bioquímica de oxígeno se basa en procedimientos empíricos. En este caso se emplea la prueba respirométrica para obtener la DBO₅. En el Apéndice A2 se detalla el método empleado.

3.1.4. Conductividad eléctrica. Para la determinación de este parámetro se utilizó el equipo de campo para conductividad marca: CORNING, ver Figura 3.2, el cual, una vez que se ha calibrado con las soluciones estándares correspondientes, de una manera muy sencilla obtiene los parámetros deseados.



Equipo Corning de campo

Figura 3.2. Metodología de medición de conductividad eléctrica

3.1.5. Cloruros. En la forma de ion (Cl^-) es uno de los aniones inorgánicos principales tanto en agua natural como residual. El método empleado para la determinación de este parámetro es el argentométrico el cual se fundamenta en la utilización de cromato de potasio como indicador del final de una titulación de cloruros utilizando nitrato de plata. Este método se basa en los métodos estandarizados de la APHA (1985) y corresponde a la referencia 4500- Cl^- B. Este procedimiento se muestra con detalle en el Apéndice A3.

3.1.6. Sulfuros. La determinación de sulfuros se llevo a cabo por el método yodométrico estandarizado por el PIQAYQA y que hace parte del manual de calidad del laboratorio. Este procedimiento se muestra con detalle en el Apéndice A4.

3.1.7. Sulfatos. El método turbidimétrico de los métodos estandarizados de la APHA (1985) y que corresponde a la referencia 4500- SO_4^{2-} E, fue el seleccionado para esta investigación. Este procedimiento se muestra con detalle en el Apéndice A5.

3.1.8. Determinación de N, C, H y S. El N, C, H y S totales se determinaron mediante un analizador elemental EAGER 200 de CE Instruments. Las pruebas se basan en la medición de los gases obtenidos a partir de la calcinación de la muestra a 1000°C . Los gases

generados pasan a través de una columna que los separa, para después cuantificarse. Al igual que para todos los parámetros se realizaron repeticiones de las muestras de vinaza analizadas.

3.1.9. Nitrógeno amoniacal ($N-NH_4$). El análisis se realizó con el método estandarizado 8038 descrito por Hach (2001). Se toman 25 mL de muestra a la que se le adicionan tres gotas de estabilizador mineral, tres gotas de solución de un agente dispersante (alcohol polivinílico), se agita y posteriormente se le agrega un mililitro del reactivo de Nessler, se agita y se deja reaccionar un minuto. Una vez transcurrida la reacción se lee en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 425 nm, con la ayuda de un blanco al cual también le fueron agregados los reactivos anteriormente mencionados.

3.1.10. Determinación de metales por espectroscopía de emisión de plasma. La determinación de metales presentes en la vinaza se fundamentó en el método normalizado 3120. La determinación de metales presentes en la vinaza se llevo a cabo en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la UNAM. Los parámetros de este análisis de los elementos presentes en las vinazas utilizados se encuentran detallados en el Apéndice B.

- **Digestión de la muestra:** se tomaron 5 mL de la muestra se vertieron en un vaso de precipitados y se le agregaron 10 mL de ácido clorhídrico al 10%, se digirió por calentamiento en una parrilla eléctrica durante 2 h a 80°C tapando el vaso con un vidrio de reloj, así mismo se realizó la digestión de un blanco empleando 5 mL de agua desionizada.

La digestión de la muestra se realizó por triplicado. Los digeridos se enfriaron y filtraron a través de papel filtro Whatman 42 recibiendo el filtrado en un matraz aforado de 100 mL, el vaso de precipitados y vidrio de reloj se enjuagaron con agua deionizada filtrando también el residuo. El matraz se aforo con agua desionizada.

3.2. Reactores anaerobios (UASB)

El apartado 2.6 concerniente a los tipos de tecnologías anaerobias posibles de emplear habla claramente de los reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente también conocido como RALLFA o UASB por sus siglas en inglés (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) de forma cilíndrica para esta investigación. El diseño de un reactor UASB consiste en una zona de reacción en la parte inferior con un una alta concentración de lodos de alta sedimentabilidad y en la parte superior lodos más ligeros (manto de lodos). En la zona superior se encuentra un separador de fases gas-sólido-líquido que ayuda a la retención del sólido en el reactor.

Descripción y arranque de los reactores anaerobios. Esta etapa se llevó a cabo en tres reactores cilíndricos de vidrio del tipo reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente con un volumen total de 2.7 L y de operación de 2.4 L.

Los reactores son columnas con un extremo inferior cónica por donde se lleva a cabo la alimentación. En la parte superior del reactor se colocó un embudo invertido que permite la separación sólido – líquido – gas. Los sistemas se muestran en las fotos que se presentan a continuación y se operan a 45, 55 y 65°C mantenidas por recirculación de un baño maría.

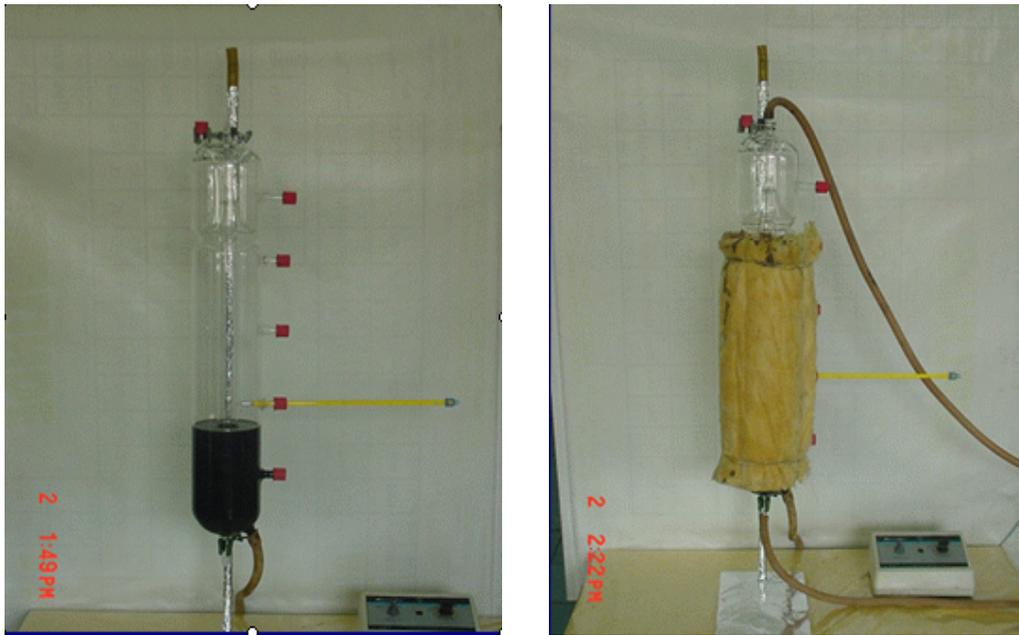
Estos reactores tienen una altura de 65 cm y un diámetro de 7.27 cm y cuentan con un tubo concéntrico de 3.7 cm a través del cual circula el agua caliente. Para la alimentación del influente a los reactores se emplea un motor de 1 – 100 rpm marca Cole – Palmer y una bomba de tipo peristáltico marca *Masterflex* con una línea L/S™ 13.

La Figura 3.3 muestra el reactor con el volumen de inóculo utilizado correspondiente al 37% del volumen de trabajo, 1 litro de inóculo. En la segunda el reactor ya se encuentra recubierto con fibra de vidrio para mantener la temperatura. La Figura 3.4 muestra la configuración total del reactor. El flujo de alimentación es de 0.29 mL min⁻¹ para obtener un tiempo de residencia hidráulica de 7 días. El trabajo de investigación se llevó a cabo desde el mes de enero de 2007 hasta marzo de 2008, correspondiendo la fase experimental de enero a diciembre de 2007, tiempo durante el cual se utilizaron los mismos reactores descritos en los párrafos anteriores, dividido en dos partes de la siguiente forma:

- Estabilización lodo flocculento: comprende de enero a mayo, en este período se realizó seguimiento a la estabilización iniciada por Detor y Hernández (2006), el cual se encontraba en la séptima etapa correspondiente a una alimentación de vinazas diluidas al 70% con agua de la llave. Para inocular estos reactores se utilizó lodo de anteriores investigaciones y provenientes de un reactor semilla, el cual se operaba a 35°C ubicado en las instalaciones del edificio E de la Facultad de Química.

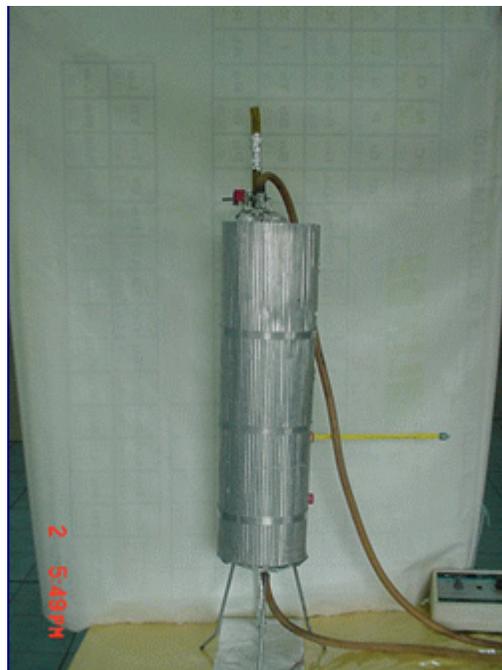
Una vez inoculados los reactores fueron mantenidos sin alimentación durante 24 horas a cada una de las temperaturas de operación para esta investigación. Después de esto, vinazas diluidas al 10% fueron alimentadas al reactor para adaptar el lodo al nuevo sustrato. Es necesario agregar un agente alcalinizante (bicarbonato de sodio) para mantener un nivel adecuado de alcalinidad y valor de pH neutro en el sistema (Figura 3.3).

- Estabilización lodo granular: comprende de mayo a diciembre. Al finalizar la etapa anterior se decidió realizar una inoculación con un lodo anaerobio nuevo basado a los resultados obtenidos durante el seguimiento de los reactores y cuyos resultados se presentan en el Capítulo 4. Esta nueva inoculación se inició en un sistema intermitente utilizando lodos anaerobios provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales de una empresa petroquímica. La metodología empleada fue la siguiente:



Fuente: Detor y Hernández (2006)

Figura 3.3. Reactores anaerobios para condiciones termofílicas (configuración parcial)



Fuente: Detor y Hernández (2006)

Figura 3.4. Reactores anaerobios para condiciones termofílicas

El primer punto fue el de obtener un lodo granular activo para iniciar la operación de los reactores. Se consiguieron lodos de una empresa petroquímica mexicana ubicada en la zona de Tamaulipas, el cual trataba aguas residuales de esta planta, con consistencia granular y color negro. Se inició la adaptación a un sistema intermitente, dividiendo la cantidad total del lodo en tres frascos color ámbar de 4 litros e inoculándolos con 900 mL del lodo en cada uno de ellos. La Figura 3.5 es una fotografía de los lodos donde claramente se puede ver su consistencia granular.



Fuente: Esta investigación

Figura 3.5 Apariencia de los lodos para adaptación

A este lodo se le determinaron sólidos totales, volátiles y fijos. Para esto se emplearon los métodos estandarizados de sólidos en lodos de referencia 2540 G (APHA, 1985). Las características físicas de estos lodos se presentan en el Capítulo 4.

El procedimiento incorporó la medición del metano producido y se empleó para esto la metodología de Mariotte consistente en botellas con solución de NaOH con pH mayor de 12 y como indicador de viraje del pH, la fenoltaleína. Con esto se puede constatar que el lodo que se va a emplear servirá a los propósitos de esta investigación.

La Figura 3.6. muestra la configuración inicial del sistema intermitente, tres frascos ámbar en una tina que cuenta con una resistencia eléctrica y un controlador de temperatura. El porcentaje de alimentación de vinaza se fue incrementando de 10% en 10% gradualmente para llegar al 50% y a las tres temperaturas de esta investigación, con una carga orgánica de $1.5 \text{ kg DQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$. Una vez que se alcanzó la estabilización, se inocularon los reactores de flujo continuo.



Fuente: Esta investigación

Figura 3.6. Configuración inicial del sistema intermitente de adaptación del lodo

Debido a los incrementos en la producción de metano los frascos de medición se cambiaron de 500 mL a 1 litro, luego a 5 litros y en la alimentación al 50% se utilizaron frascos de 10 litros.



Fuente: Esta investigación

Figura 3.7. Configuración del sistema intermitente de adaptación del lodo con alimentación de vinazas al 50%

➤ Cambio del lodo anaerobio e inicio de la etapa de estabilización

Trascurridos 40 días de adaptación del lodo anaerobio en el sistema intermitente se utilizó como parámetro de control el incremento gradual de la producción de metano, presentado en el Capítulo 4.

Los reactores fueron lavados y preparados para realizar la inoculación del nuevo lodo. El lodo retirado del interior de los reactores era una parte floculento y la otra parte tenía condiciones de mineralización. La Figura 3.8 muestra el reactor antes de lavarse y de la misma forma la condición inicial para inocularlo con el lodo del sistema intermitente.



Fuente: Esta investigación

Figura 3.8 Reactores en proceso de limpieza e inoculación

El día 17 de julio de 2007 se realizó la inoculación con el nuevo lodo anaerobio con un volumen del 30% del volumen útil del reactor y se adicionaron vinazas tratadas provenientes del sistema intermitente y que habían sido almacenadas a 4°C. Por espacio de 4 días los reactores sólo fueron alimentados con vinazas tratadas y, a partir del

quinto día, se empezó la alimentación de 200 mL de vinazas por día diluidas al 50% con una carga de 5 kg DQO ($\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$); estas condiciones operacionales se mantuvieron durante los primeros 34 días. A partir de este punto la alimentación se aumentó a 300 mL por día y una carga orgánica de 7.5 kg DQO ($\text{m}^3 \cdot \text{d}^{-1}$). TRH de 7 días.

3.3 Estabilización de los reactores

a) Estabilización lodo flocculento (Enero – Mayo 2007): Durante este período se continuó con la séptima etapa con vinazas diluidas al 70% para llegar a una concentración de 120 gDQO L^{-1} , las fases de estabilización se llevaron a cabo por un estudio anterior desarrollado en el Edificio E de la Facultad de Química por Detor y Hernández (2006). En la Tabla 4.3 se presenta los tiempos que empleados para llegar a cada una de las fases. Los parámetros indicativos de la estabilidad de cada fase empleados fueron: pH en el efluente mayor a 6, porcentaje de remoción de DQO cercana al 70% y una relación de alcalinidad cercana a 0.2 con tiempos de residencia hidráulica en los tres reactores constantes.

b) Estabilización lodo granular (Mayo – Diciembre 2007): empleando como indicador de estabilidad la producción de metano medida en sistemas Mariotte durante las primeras cuatro etapas correspondientes a una dilución de la vinaza 2 en un 40% para su alimentación y, previendo la consecución de las metas propuestas en esta investigación, se estableció realizar la obtención de la energía de activación y de las constantes cinética k y K_s del modelo de Monod en el momento en que el sistema obtuviera la estabilización con una dilución del 50% para las vinazas en su alimentación.

La actividad metanogénica específica de los lodos anaerobios empleados se realizó en los lodos utilizados por Detor y Hernández (2006) y en el nuevo lodo proveniente de Tamaulipas con el fin de saber si las condiciones del mismo eran aptas para que el proceso tomara la ruta metabólica de generación de metano y no sólo la de la acidogénesis. Por esta razón a continuación se presenta la metodología de esta prueba.

Actividad metanogénica específica (AME). Existen diferentes metodologías para determinar la actividad metanogénica, las cuales se diferencian en la forma de medición de metano y en la manera de adición del sustrato (Díaz-B. et al., 2002). Esta prueba se realizó en el Edificio 5 del Instituto de Ingeniería apoyado por el grupo de trabajo del Dr. Adalberto Noyola Robles. La descripción de la técnica se encuentra en el Apéndice C.

- **Materiales para la medición de metano por cromatografía:** Se emplearon para este tipo de medición:
 - Botellas serológicas de 60 mL con tapón de caucho y sello de aluminio.
 - Cilindro de metano puro para elaborar curva de calibración.
 - Cuarto caliente o baño María.
 - Medio de cultivo (ver Apéndice C1 y C2).
- **Curva de calibración:** La curva de calibración se construye realizando mediciones de metano puro a partir de un cilindro de gas metano. Los valores tomados para la curva de

calibración van de 0.1 a 1 mL con un gradiente de incremento de 0.1 mL. La curva de calibración se construye graficando el volumen de metano inyectado versus el área del cromatograma obtenido en el cromatógrafo de gases.

- **Procedimiento de inoculación:** Una vez preparado el medio de cultivo se deben determinar los sólidos suspendidos volátiles para determinar la cantidad de sustrato a utilizar en cada uno de los viales y de acuerdo a una concentración preestablecida realizar la inoculación. El procedimiento completo se encuentra en el Apéndice C3.
- **Cálculos:** Se construye una gráfica colocando el volumen acumulado de metano en el eje Y y el tiempo acumulado en horas en el eje X. Ahora se procede de la siguiente manera:

- Obtener el número de moles de metano por interpolación de la curva
- Calcular el factor de corrección:
Fase líquida = V_{mL} del medio + V_{mL} de Na_2S + V_{mL} lodo + V_{mL} sustrato
Fase gaseosa = V botella (60 mL) – fase líquida

$$Factor = \frac{fase_gaseosa}{mL_inyectados} \quad (28)$$

- Obtener el número de moles totales multiplicando el valor del número de moles por el factor calculado.
- Construir una gráfica para número de moles totales vs tiempo (días).
- Obtener la pendiente máxima de la curva.
- Esta pendiente (b) corresponde a la $V_{máx}$ (Velocidad máxima de producción de metano).
- Calcular los miligramos de SSV en el vial multiplicando los SSV en mg/mL por el volumen de lodo empleado en la inoculación.
- Realizar el siguiente cálculo:

$$\frac{X_mol_CH_4 * d}{mgSSV} = \frac{V_{máx}(mol_CH_4 / d)}{mgSSV} \quad (29)$$

- Con el fin de obtener unidades comparables con otros trabajos de investigación el valor obtenido en la expresión anterior se correlaciona con la DQO teórica del metano, por lo tanto la actividad metanogénica específica (AME) se calcula mediante la siguiente expresión: $(X \text{ mol } CH_4 * d / mg \text{ SSV}) * (16) * (4) * (1000)$ y de esta forma se obtiene:

$$AME = \frac{X_gCH_4 - DQO}{gSSV * día} \quad (30)$$

3.4 Parámetros de seguimiento en los reactores anaerobios de lechos de lodo de flujo ascendente

Una vez que se logra la estabilización en la operación de los reactores anaerobios inoculados en mayo de 2007 con una alimentación de vinazas al 50%, se debe continuar

con la toma de análisis de parámetros de control en los reactores. La Tabla 3.1 muestra los parámetros, la frecuencia, y el método utilizado. Los parámetros se obtienen empleando los métodos normalizados para el análisis de agua potable y residuales (APHA, 1985). Algunos de estos se han explicado a detalle en el Apéndice A.

Tabla 3.1 *Parámetros de seguimiento*

Parámetros	Punto de muestreo	Frecuencia de análisis	Método empleado
pH	Influente y efluente	Diario	Método electrométrico (4500 H+B)
Temperatura	Reactor	Diario	Medición directa (2550 B)
Alcalinidad	Efluente	Diario	Control de alcalinidad (Rojas Chacón, 1985)
Factor α	Efluente	Diario	Control de alcalinidad (Rojas Chacón, 1985)
Sólidos suspendidos totales	Influente y efluente	Cada tercer día	Sólidos totales secados a 103 – 105°C (2540 B)
Sólidos suspendidos volátiles	Efluente	Cada tercer día	Sólidos fijos y volátiles incinerados a 550°C (2540 E)
DQO	Influente y efluente	Cada tercer día	Método de reflujo cerrado (Oaxaca Grande, 1997)
CH ₄	Efluente	Diario	Volumen generado (Mariotte)

Fuente: *Esta investigación*

3.4.1. Alcalinidad. Es esencial tener una alcalinidad suficiente para un control apropiado de pH. La alcalinidad se deriva del rompimiento de compuestos orgánicos y se presenta principalmente en forma de bicarbonato, la alcalinidad del efluente se determinó por el método tradicional en donde se hace una titulación de la muestra a un pH de 5.75 y 4.3. La ventaja del método es que ambas determinaciones pueden hacerse sobre la misma muestra.

En un vaso se precipitado de 50 mL se coloca 10 mL de muestra y se titulan con H₂SO₄ 0.1N hasta un pH de 5.75, se sigue con la titulación hasta un pH de 4.3.

Cálculos:

$$mgdeCaCo_3L^{-1} = \frac{VA_{4.3} * EQ * NA}{Vm} \quad (31)$$

VA_{4.3} = mL de ácido gastados para llegar a pH de 4.3

EQ = 50000 (eq CaCO₃)

NA = normalidad del ácido sulfúrico

Vm = mL de la muestra

La capacidad de amortiguamiento o factor alfa (α) se calcula de la siguiente manera

$$\alpha = \frac{[VA_{4.3} - VA_{5.75}]}{VA_{4.3}} \quad (32)$$

donde:

VA_{4.3} = mL de ácido usados para llegar a pH de 4.3

VA_{5.75} = mL de ácido usados para llegar a pH de 5.75

3.4.2. Medición de la producción de metano (sistema Mariotte)

La medición de la producción de biogás generado, tanto en el sistema intermitente como en el sistema en continuo se basó en el sistema de Mariotte. Este sistema consta de una solución alcalina de NaOH con $\text{pH} > 12$ en el cual se adiciona fenoltaleína como indicador de acumulación de CO_2 del biogás producido por el reactor.



Fuente: Esta investigación

Figura 3.9 Sistema de medición de metano por Mariotte

La Figura 3.9 muestra la configuración del sistema Mariotte adaptado a los tres reactores encontrándose en la etapa de alimentación de vinazas diluidas al 50%. El color rosado de la solución alcalina cambiará a un tono café oscuro a medida que alcanza la saturación por CO_2 . Los valores de producción de metano así como el cálculo teórico del balance de producción de metano que está basado en los datos obtenidos para la remoción de demanda química de oxígeno (DQOs) permiten comparar la eficiencia del sistema de Mariotte.

3.5. Evaluación del efecto de la temperatura basado en la ecuación de Arrhenius

El arreglo metodológico de los viales es el equivalente a lo diseñado para la medición de la actividad metanogénica (Apéndice C).

- Descripción de la prueba

- Emplear viales con una capacidad en volumen de 60 mL
- Etiquetar los viales de forma que se realicen tres repeticiones para cada una de las temperaturas de operación y un vial adicional para utilizar como testigo.
- Previamente se debe realizar la prueba de sólidos suspendidos volátiles para los lodos provenientes de los reactores del sistema.
- Hacer el medio de cultivo anaerobio necesario para los viales a utilizar siguiendo la metodología del Apéndice C2.
- Adaptar incubadoras marca Felisa a las tres temperaturas de operación
- Inocular los viales que contienen el medio de cultivo con el lodo proveniente de cada uno de los reactores anaerobios de este sistema de investigación.



Fuente: Esta investigación

Figura 3.10 Sólidos suspendidos volátiles proveniente de un reactor anaerobio

- Continuar la prueba siguiendo los pasos mostrados para una actividad metanogénica. El seguimiento de estos viales se llevó a cabo alrededor de 20 días utilizando un cromatógrafo de gases Fisher Gas Partitioner Model 1200 en el Edificio 5 del Instituto de Ingeniería con la colaboración técnica y académica del grupo del Dr. Adalberto Noyola Robles.



Fuente: Esta investigación

Figura 3.11 Cromatógrafo de gases Fisher Gas Partitioner Model 1200

- Una vez obtenidos los datos de la producción acumulada de metano proveniente del cromatógrafo y del ajuste de datos, se procede a determinar los valores de la actividad metanogénica específica.
- Utilizando un software como Matlab o Excel con su herramienta “Solver”, ajustar los datos acumulados del volumen de metano al modelo exponencial presentando por Veeken y Hamlers en 1999 y mostrada en este texto en el apartado 2.11 ecuación 24.
- Conociendo el valor de la constante de metanogénesis en función de la temperatura para cada uno de los reactores de nuestro sistema y utilizando la ecuación de la energía de activación linealizada se realiza la gráfica del $\ln K_H$ contra el inverso de las temperaturas en Kelvin como se muestra en la Figura 2.4.
- A partir del valor de la pendiente se calcula la energía de activación del sistema. Los principios fundamentales de este método se encuentran explicados en el apartado 2.11.

3.6. Pruebas cinéticas

Las pruebas consisten en efectuar una réplica de los reactores a 45, 55 y 65°C en viales a las mismas condiciones, ya que de esta forma, la temperatura y los análisis fisicoquímicos para la fase líquida se obtienen con resultados reproducibles. La prueba se planea para 20 días para que las curvas de degradación de sustrato y producción de biogás logren una medición periódica amplia y se obtengan un mayor número de repeticiones.

- Descripción de la prueba

- Emplear viales con una capacidad en volumen de 60 mL
- Etiquetar los viales de forma que se realicen tres repeticiones para cada una de las temperaturas de operación, empleando para cada prueba cinco viales, de forma que por cada temperatura en análisis se utilizarán 15 viales siendo un total de 45 para el sistema
- A cada vial se le adiciona una concentración de 60 gDQO L⁻¹ a la cantidad de biomasa expresada como gSSV L⁻¹ de acuerdo con los resultados obtenidos para cada uno de los reactores
-



Fuente: Esta investigación

Figura 3.11 Viales empleados para la determinación de las constantes cinéticas

- Utilizando las incubadoras marca Felisa se guardan los viales a las temperaturas correspondientes
- Cada cuarto día se sacrifica un vial de cada una de las repeticiones y se procede a realizar los análisis de demanda química de oxígeno soluble y sólidos suspendidos volátiles.
- La obtención de los parámetros cinéticos K_s y k , empleando la ecuación de Monod, para esta parte de la investigación se realiza por el procedimiento presentado en el apartado 2.10, los cuales se presentan en el Capítulo 4.

3.7. Pruebas estadísticas

Utilizando los valores obtenidos para las diferentes pruebas físico-químicas llevadas a cabo en esta investigación se realiza comparación de medias para de esta forma tener una idea de la validez de los resultados obtenidos. El análisis estadístico se presenta en el Apéndice F.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Este capítulo se encuentra dividido en cuatro etapas: 1) Caracterización de las vinazas utilizadas en esta investigación, 2) Seguimiento operacional de los reactores durante los dos períodos de operación a) Estabilización lodo floculento: (enero – mayo) y b) Estabilización lodo granular: (mayo a diciembre de 2007), 3) Obtención de la energía de activación del sistema y 4) Obtención de las constantes cinéticas utilizando la metodología de los viales.

4.1 Caracterización de las vinazas utilizadas

La caracterización de las aguas residuales que se tratan en cualquier proceso de tipo biológico es el punto de partida para conocer la tratabilidad y los tipos de inhibidores que puedan contener, y las proporciones en las que están presentes. Es por esta razón que en esta investigación se hace una caracterización de las vinazas utilizadas y también se presentan algunos resultados obtenidos en las primeras siete etapas de adaptación de los reactores y las cuales fueron llevadas a cabo por Detor y Hernández (2006).

Tabla 4.1. Caracterización de las vinazas

<i>Vinaza 1 (Enero -Mayo)</i>				<i>Vinaza 2 (Mayo - Diciembre)</i>			
pH	4.34	SDV (mg/L)	70429	pH	4.28	SDV (mg/L)	78463
DBO (mg/L)	66825	SDF (mg/L)	6376	DBO (mg/L)	98250	SDF (mg/L)	5220
DQO (mg/L)	99879	Conductividad eléctrica (µS/cm)	21867	DQO(mg/L)	116250	Conductividad eléctrica (µS/cm)	26500
DBO/DQO	0.67	Sulfatos (mg/L)	7057	DBO/DQO	0.85	Sulfatos (mg/L)	8150
STT (mg/L)	85340	Sulfuros (mg/L)	24	STT (mg/L)	91227	Sulfuros (mg/L)	69
STV (mg/L)	63745	Cloruros (mg/L)	4700	STV (mg/L)	63792	Cloruros (mg/L)	5230
STF (mg/L)	21595	Nitrógeno (%)	5.35	STF (mg/L)	27435	Nitrógeno (%)	6.1
SST (mg/L)	8834	Carbono (%)	4.55	SST (mg/L)	7591	Carbono (%)	4.47
SSV (mg/L)	6625	Hidrógeno (%)	5.64	SSV (mg/L)	5884	Hidrógeno (%)	6.77
SSF (mg/L)	2208	Azufre (%)	7.28*10 ⁻³	SSF (mg/L)	1706	Azufre (%)	9.85*10 ⁻³
SDT (mg/L)	76806			SDT (mg/L)	83683		

Fuente: Esta investigación

Tabla 4.2. Determinación de elementos y metales en las vinazas utilizadas

Vinazas	Cu (ppm)	Ni (ppm)	Co (ppm)	Mn (ppm)	Fe (ppm)	Zn (ppm)	Ca (ppm)
1	9.5	0.8	0.7	15.2	30.6	6.7	2008.3
2	1.1	1.1	1.0	20.4	38.2	9.0	2083.3

Vinazas	Na (ppm)	K (ppm)	Mg (ppm)	As (ppb)	Pb (ppm)	Al (ppm)
1	2153.0	8354.5	1163.9	61.9	0.7	0.7
2	711.0	9940.4	1935.1	109.4	4.5	6.1

Fuente: Esta investigación

Los parámetros de análisis de los metales y elementos presentes en las vinazas utilizados se encuentran detallados en el Apéndice C. Esta caracterización muestra la variabilidad que se puede encontrar en la vinaza a tratar en cualquier parte del mundo ya que, aunque estas dos vinazas proceden del mismo ingenio azucarero con solamente unos meses de diferencia

dentro de la mismo zafra muestran diferencias significativas, encabezadas por la relación de degradabilidad, la cual para la vinaza 1 es menor con respecto a la segunda, indicando esto que la segunda es más factible de ser tratada por procesos biológicos.

Uno de los problemas fundamentales en el tratamiento biológico de aguas con alto contenido de sulfatos, debido a la utilización de ácido sulfúrico empleado durante el proceso, es la relación DQO/SO_4^{-2} . Si ésta es mayor a 10 no existen problemas de competencia entre las bacterias sulfatoreductoras y las metanogénicas. (Rizeme y Lettinga, 1988). En este caso, la relación presenta un valor de 14.3, facilitando de esta forma la metanogénesis. Los demás parámetros mostrados en la Tabla 4.1 presentan ligera variabilidad en sus valores entre las dos vinazas utilizadas. Como parámetro a resaltar se tiene la conductividad eléctrica de las vinazas, siendo ésta la acumulación de los iones disueltos en una disolución da una idea de la cantidad de sales, ácidos o bases disociados presentes en las muestras.

4.2. Seguimiento operacional de los reactores

En los numerales 3.2 y 3.3 se ha presentado el arranque y la estrategia utilizada para llegar a la estabilización de los reactores por Detor y Hernández (2006) en el período de enero a diciembre de 2006 y por esta investigación a partir de enero a mayo de 2007. En primera instancia se muestra la determinación de la actividad metanogénica específica (AME) de los lodos de los dos períodos y a continuación se presenta el seguimiento operacional en dos secciones correspondientes cada uno a los períodos de análisis de este sistema explicado previamente en al Capítulo 3.

4.2.1 Determinación de la actividad metanogénica específica de los lodos anaerobios empleados

Los lodos anaerobios empleados en los dos períodos de tiempo son de diferente tipo, durante la operación de Detor y Hernández (2006), se empleó lodo floculento, el cual fue desechado debido a las malas condiciones metanogénicas mostradas en cada uno de los parámetros de seguimiento y que se comprobará con esta prueba. A partir de mayo de 2007 se empleó lodo anaerobio de consistencia granular.

Tabla 4.3. AME con ácido acético para lodos floculento y granular

Clase de lodo	AME (gDQO-CH ₄ /gSSV*d)
Lodo floculento (Ac)	0.041
Lodo granular (Ac)	0.239

Fuente: Esta investigación

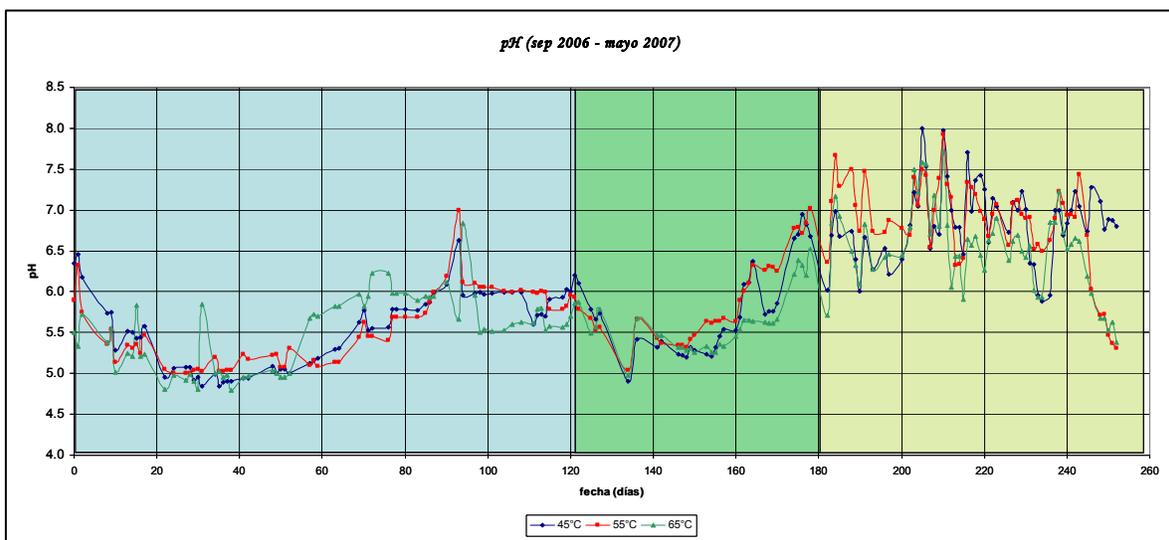
Utilizando la metodología para determinación de AME presentada en el apartado 3.3 evaluada para ácido acético y complementada en los Apéndices se obtuvieron los datos presentados en la Tabla 4.3. Los datos muestran una baja actividad metanogénica para el lodo floculento y permite tomar el granular como una opción viable para el desarrollo de los objetivos de esta investigación.

4.2.2. Seguimiento operacional del sistema en el período enero a diciembre de 2007

La investigación realizada por *Detor y Hernández (2006)* empleó aproximadamente 550 días de operación, 340 de estos días se emplearon en la adaptación de los lodos al 70% de dilución de vinazas correspondiente a la séptima etapa, se encontró que de la etapa cuarta a la séptima, correspondientes del 40 al 70% de dilución en las vinazas de alimentación hubo muchos problemas para llegar a una estabilización pues el parámetro de control (valor de pH), no era el idóneo. Los datos muestran una tendencia del sistema a la acidificación y, por ende, en ningún momento se alcanzan condiciones favorables para la metanogénesis.

Cumplidos los 550 días y, a partir de este punto, se presenta un período de transición desde el 15 de septiembre de 2006 hasta el 18 de enero de 2007 aproximadamente 120 días durante los cuales un estudiante de licenciatura se encarga del seguimiento de los reactores. El autor de esta investigación recibió los reactores en enero de 2007 y, por ende, los datos que se presentan a continuación representan el seguimiento de los reactores con una alimentación de vinazas al 70%, en el período comprendido desde septiembre de 2006 para pH hasta mayo de 2007 y de enero a mayo de 2006 para los demás parámetros.

- **Valor de pH obtenido en el período de septiembre de 2006 a mayo de 2007.** El pH inicial de los dos lotes de vinazas se encuentra en el valor de 4.3, como muy bien se sabe, el intervalo óptimo de operación bajo condiciones óptimas de metanogénesis es de 6.8 a 7.2 en el efluente. Es por esta razón que se debe agregar un alcalinizante como el bicarbonato de sodio con el fin de incrementar el pH de entrada de la vinaza durante el período operado por *Detor y Hernández (2006)* se agregaron 3 g L^{-1} y en la inoculación con nuevo lodo anaerobio se neutralizó el pH de la vinaza.



Fuente: Esta investigación

Figura 4.1. Valor de pH de los reactores en la etapa con 70% de vinazas, $3 \text{ g NaHCO}_3 \text{ L}^{-1}$ y 30% agua de la llave (zonas inicial, intermedia y final de la experimentación)

La Figura 4.1 muestra los valores de pH obtenidos desde el mes de septiembre de 2006 hasta el mes de mayo de 2007. Se tienen en la gráfica tres etapas dentro de estas fase de 70% de alimentación de vinazas, en las cuales se buscó la estabilización de los reactores. La primera etapa se inicia al recibir los reactores y transcurre en los meses finales de 2006 (120 días). Durante este período sólo se obtuvieron datos de pH y no de los demás parámetros de control establecidos. La zona intermedia (60 días) representa la iniciación de un seguimiento de los reactores (pH, DQO, alcalinidad y factor alfa). Aunque se logró superar el valor de pH de 6 al agregar bicarbonato de sodio con el fin de generar medios propicios para la metanogénesis, no se obtuvieron resultados satisfactorios para los demás parámetros, especialmente la remoción de DQO.

A partir de este punto y tratando de mejorar la metanogénesis se empezó a recircular un porcentaje del agua tratada (de 10 a 40%) con el fin de recuperar lodo perdido en el proceso y, además, con la propia alcalinidad del agua tratada mejorar los valores de eficiencia de remoción de los reactores. Durante los meses de marzo y abril de 2007 se logró subir el pH de los sistemas pero no los valores de remoción de DQO que se presentan en la Tabla 4.4. Tampoco se midió generación de gases del proceso. A continuación se presentan valores promedios de remoción de DQO y alcalinidad obtenidos durante el período de estabilización lodo floculento (enero a mayo de 2007).

- **Demanda química de oxígeno.** El segundo parámetro guía al momento de verificar la normal operación de un reactor anaerobio es la demanda química de oxígeno, la cual muestra la cantidad de materia orgánica que está siendo degradada por los consorcios microbianos. A continuación se presentan los datos de porcentaje de remoción para cada uno de los reactores.

Tabla 4.4. Porcentaje de remoción de DQO del período de enero a mayo de 2006

Reactor	% de remoción de DQO promedio		
	Mínimo	Promedio	Máximo
45 °C	8.6	20.4	28.5
55 °C	9.5	19.4	29.0
65 °C	3.7	18.7	40.0

Fuente: Esta investigación

- **Alcalinidad y factor alfa (α).** A continuación, en la Tabla 4.5 se presentan los resultados promedios obtenidos, para los días con valores de pH mayores a 6. Puede observarse que esta información termina de confirmar la necesidad de readaptar un nuevo inóculo que permita alcanzar las metas y objetivos de esta investigación.

Tabla 4.5. Alcalinidad de los reactores anaerobios en el período de enero a mayo de 2006

Reactor	Alcalinidad (mg CaCO ₃ /L)		
	Mínimo	Promedio	Máximo
R1 45 °C	6700	8269	10650
R2 55 °C	6000	8069	9750
R3 65 °C	7000	8331	10000

Fuente: Esta investigación

Tabla 4.6. Factor alfa (α) de los reactores anaerobios en el período de enero a mayo de 2006

Reactor	Factor α		
	Mínimo	Promedio	Máximo
R1 45 °C	0.59	0.76	0.92
R2 55 °C	0.47	0.74	0.90
R3 65 °C	0.54	0.81	0.89

Fuente: Esta investigación

Como resultado de los anteriores parámetros de seguimiento de los reactores y en los cuales no se presentaban las condiciones favorables para la metanogénesis se optó por lavar los reactores y utilizar un inóculo nuevo, con el fin de llevar los tres reactores a la estabilización al ser alimentados con vinazas diluidas al 50% y poder determinar la cinética a cada una de las tres temperaturas.

4.2.3. Seguimiento operacional del sistema intermitente de inoculación y arranque con el nuevo lodo anaerobio

Dentro del plan de trabajo se propuso la recuperación de los reactores basado en los resultados mostrados en los apartados anteriores. En primera instancia se procedió a determinar los sólidos suspendidos volátiles del lodo a emplearse en la nueva inoculación del sistema provenientes de Tamaulipas y proporcionados por el Dr. Salvador Sánchez. Las características físicas de estos lodos se presentan en la Tabla 4.7

Tabla 4.7. Datos generales de caracterización de los lodos para adaptación

SST (mg/L)	196895
SSV (mg/L)	111210
SSF (mg/L)	85685

Fuente: Esta investigación

La Tabla 4.8 resume el seguimiento de los reactores en operación intermitente y también la generación de metano dentro de los primeros 40 días de operación, durante los cuales se alimentaron 100 mL de vinazas diluidas desde un 10% hasta 50% en la quinta etapa, en la cual la carga fue de 1.5 kg DQO (m³d)⁻¹. Es de notar que la medición de metano en algunos días supera el valor presentado en la tabla debido a la falta de capacidad del frasco utilizado en el sistema.

Se puede observar que al inicio de cada fase siempre hay un decaimiento en la producción de metano pero lentamente se va incrementando hasta llegar a valores pico, los cuales hasta el momento se han utilizado como punto de referencia para el cambio de las mismas.

4.2.4. Seguimiento operacional del sistema en continuo en el período de mayo a diciembre de 2007

Una vez determinado el cambio del lodo anaerobio en los reactores iniciales y llevado a cabo un proceso de adaptación durante 40 días en el sistema intermitente, en el cual se tuvo

como parámetro de control el incremento gradual de la producción de metano, se trabajaron los reactores en un tiempo aproximado de 120 días durante los cuales se alcanzó la estabilización a cada una de las temperaturas de operación 45, 55 y 65°C y de igual forma partiendo de la carga orgánica del sistema intermitente de 1.5 kg DQO (m³*d)⁻¹ a 2.5, después a 5 para establecer como carga final de adaptación 7.5 kg DQO (m³*d)⁻¹.

Tabla 4.8. Generación de metano en sistemas intermitentes

Día	T	% de vinazas	DQO(mg/L)	V metano R1(L)	V metano R2(L)	V metano R3(L)	pH Alim
1	25	10	12000	NM	NM	NM	7
2	25	0	0	NM	NM	NM	--
3	25	20	24000	NM	NM	NM	7
4	30	20	24000	NM	NM	NM	7
5	30	0	0	NM	NM	NM	--
6	35	30	36000	0.8	E	0.95	7
7	35	30	36000	0.95	E	1	7
8	35	30	36000	0.9	0.4	0.9	7
9	35	30	36000	1.2	1.35	1.5	7
10	37	30	36000	1.75	1.7	1.6	7
11	38	30	36000	1.65	E	1.7	7
12	38	30	36000	1.6	1.5	1.5	7
13	38	30	36000	2.1	2.2	2.3	7
14	38	30	36000	2.7	3.3	2.7	7
15	38	40	48000	1.5	2.3	1.5	7
16	38	40	48000	2.5	4.5	3	7
17	38	40	48000	2.5	6	2.5	7
18	38	40	48000	5.5	7.25	11.4	7
19	38	40	48000	E	E	E	7
20	38	40	48000	4	6.3	4	7
21	38	0	0	NM	NM	NM	7
22	38	40	48000	2.2	3.5	2.2	7
23	38	40	48000	1	2.25	0.5	7
24	38	40	48000	3	4.9	2	7
25	38	40	48000	4.5	5.25	3.5	7
26	38	40	48000	4.5	4	4	7
27	38	40	48000	E	E	E	7
28	38	40	48000	12.5	10	10	7
29	38	40	48000	10	9	5	7
30	38	40	48000	15	6	14	7
31	38	40	48000	15	8	6	7
32	38	40	48000	23	E	10	7
33	38	50	60000	13	10	6	7
34	38	50	60000	E	E	E	7
35	38	50	60000	8	8	3	7
36	38	50	60000	15	7	7	7
37	38	50	60000	17	19	5	7
38	38	50	60000	18	15	6	7
39	38	50	60000	10.5	13	11	7
40	38	50	60000	10	10	9	7

NM = no medido

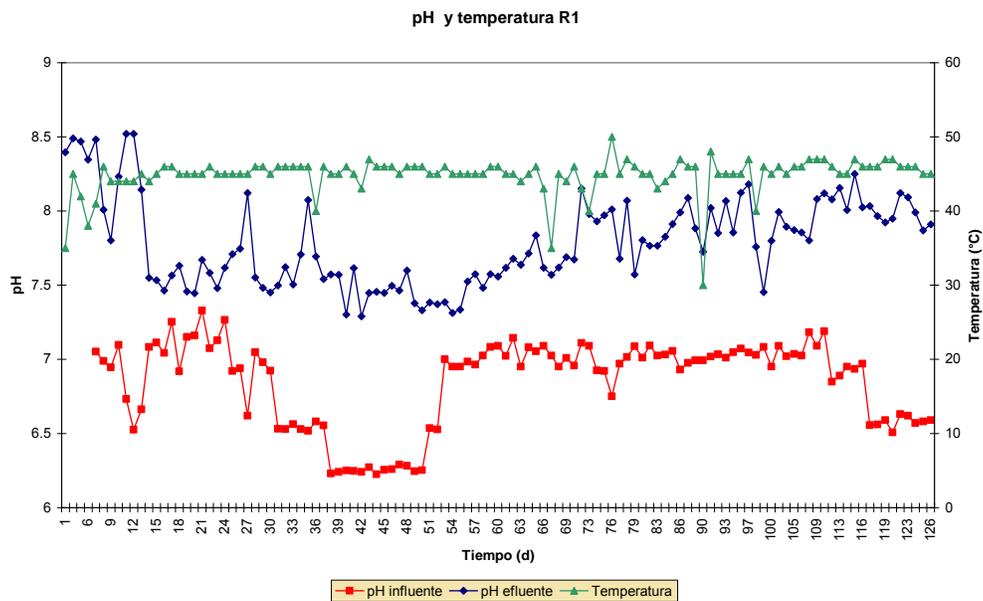
E = escapes

Fuente: Esta investigación

Una vez terminada la inoculación de los reactores se procedió a establecer un régimen de alimentación que permitiera llegar a la estabilización en la etapa correspondiente al 50% de dilución de la vinaza a tratar y la forma adecuada fue llevando seguimiento de los parámetros de control básicos. A continuación se presenta el comportamiento de los mismos para un período aproximado de 4 meses.

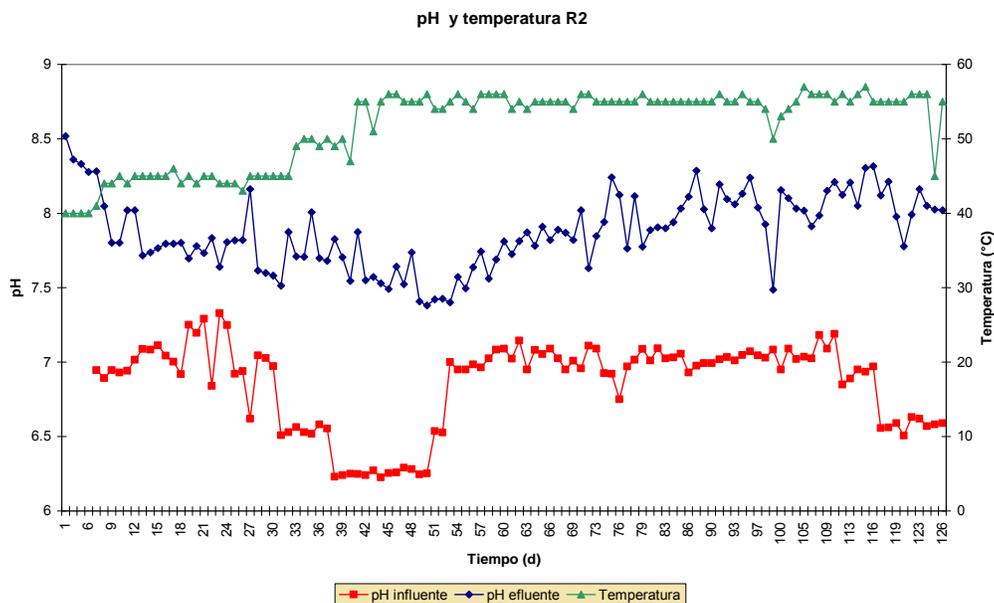
- **Valor de pH de los reactores anaerobios en el sistema en continuo.** La vinaza cruda presenta un valor de pH entre 3.8 y 4.3 siendo esta condición poco favorable para el desarrollo

de la metanogénesis. Es por esta razón que con el fin de llegar a los objetivos planteados se agregaron 9 g por cada 900 mL de vinazas de bicarbonato de sodio para incrementar el valor de pH en la vinaza de alimentación a 7 y mantenerlo durante el período de estabilización. Las Figuras 4.2, 4.3 y 4.4 muestran el comportamiento de este parámetro.



Fuente: Esta investigación

Figura 4.2 Valor de pH y temperatura en R1

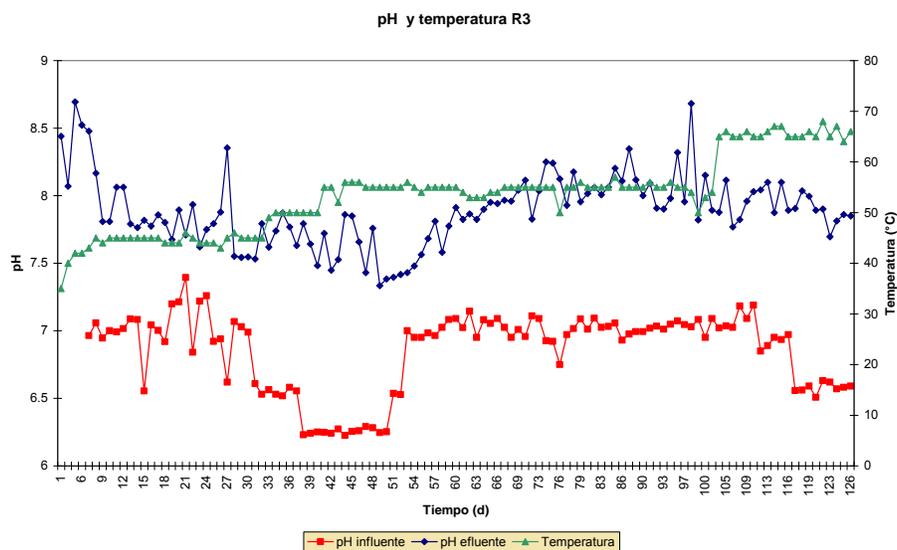


Fuente: Esta investigación

Figura 4.3 Valor de pH y temperatura en R2

De estas figuras se puede observar que alrededor del día 40 de operación se presenta un cambio en el valor del pH, momento en el cual éste se baja a 6.5 con el fin de disminuir el consumo diario de bicarbonato y, a la vez, se presentan hechos como el incremento de la temperaturas para dos de los reactores lo cual conlleva a una desestabilización del sistema apreciable en el apartado correspondiente al factor alfa.

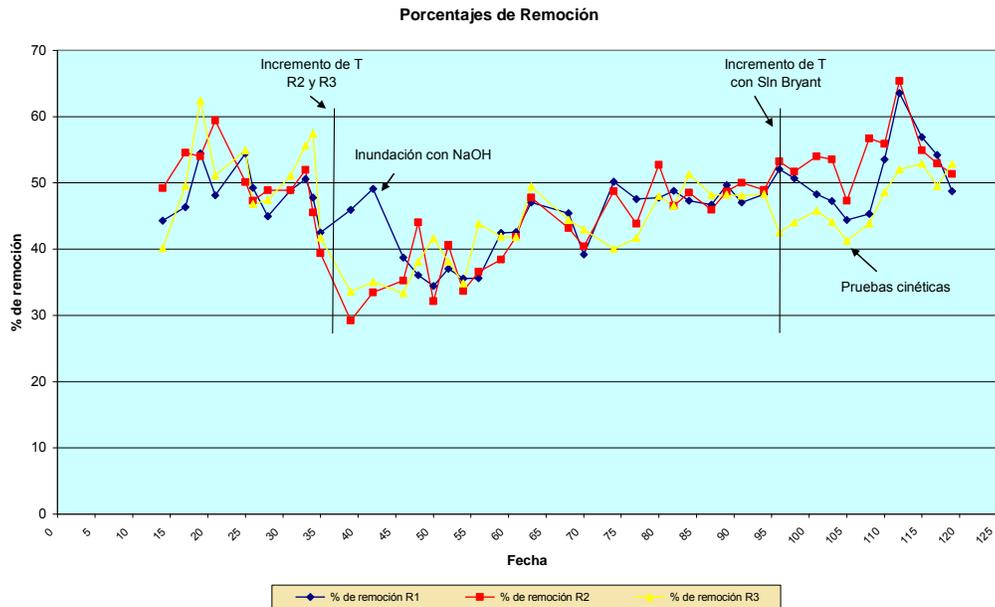
De la misma forma el reactor correspondiente a la temperatura de 45°C sufre una inundación de NaOH proveniente del sistema de medición de Mariotte, forzando a un retraso en el tiempo de adaptación de este reactor a las condiciones operacionales.



Fuente: Esta investigación

Figura 4.4 Valor de pH y temperatura en R3

- **Demanda química de oxígeno:** La Figura 4.5 recopila el comportamiento de la remoción de DQO en los tres reactores, notándose claramente los puntos de incremento de temperatura para R2 y R3, con la única diferencia de que, en el día 40, se incrementó de 45 a 55°C, presentándose en los reactores una caída notable en el porcentaje de remoción y que, en el día 102, se incrementa de 55 a 65°C para R3. Se adicionó solución nutritiva de Bryant (Bryant et al, 1971) para disminuir el impacto del cambio de temperatura sobre los microorganismos, logrando así una estabilización del sistema en un menor tiempo.
- **Alcalinidad y factor alfa.** El comportamiento de la alcalinidad y del factor alfa se muestran a continuación en las Figuras 4.6, 4.7 y 4.8. En cada una de ellas se observa que al retirar los lodos requeridos para el inicio de las pruebas cinéticas y de biodegradabilidad se presenta un cambio drástico en la tendencia lo que marca una desestabilización al interior de los reactores.



Fuente: Esta investigación

Figura 4.5 Porcentajes de remoción de DQO

Tabla 4.9. Porcentajes de remoción de DQO

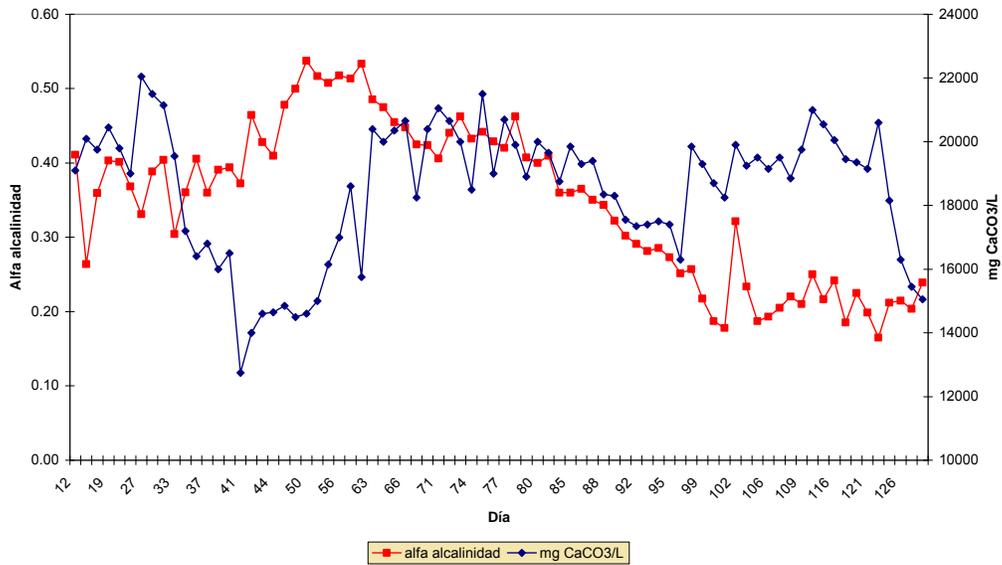
Reactor	Porcentaje de remoción de DQO		
	Mínimo	Promedio	Máximo
R1 45 °C	34.4	46.8	63.6
R2 55 °C	29.2	47.2	65.4
R3 65 °C	33.4	45.8	62.4

Fuente: Esta investigación

La Figura 4.7 corresponde al reactor R1 trabajando a una temperatura de 45°C. Como se comentó en un apartado anterior, alrededor del día 40 se presenta una inundación de NaOH proveniente del sistema de medición de gases (al hacerse vacío al interior del reactor), alterando el equilibrio dentro de los lodos y encontrándose reflejado en el incremento del alfa alcalinidad a valores por encima de 0.5 y con tendencia a la acidificación. A partir del día 100 y hasta el día 120, se observa una recuperación del reactor con valores cercanos e inferiores al valor de α de 0.2.

Las Figuras 4.8 y 4.9 corresponden a R2(55°C) y R3(65°C) respectivamente. También presentan alrededor del día 40 una desestabilización en el sistema. En estos casos corresponde al incremento de temperatura de 45°C a 55°C para los dos reactores. Es importante aclarar que las adaptaciones a las temperaturas se realizaron en incrementos súbitos de 10°C.

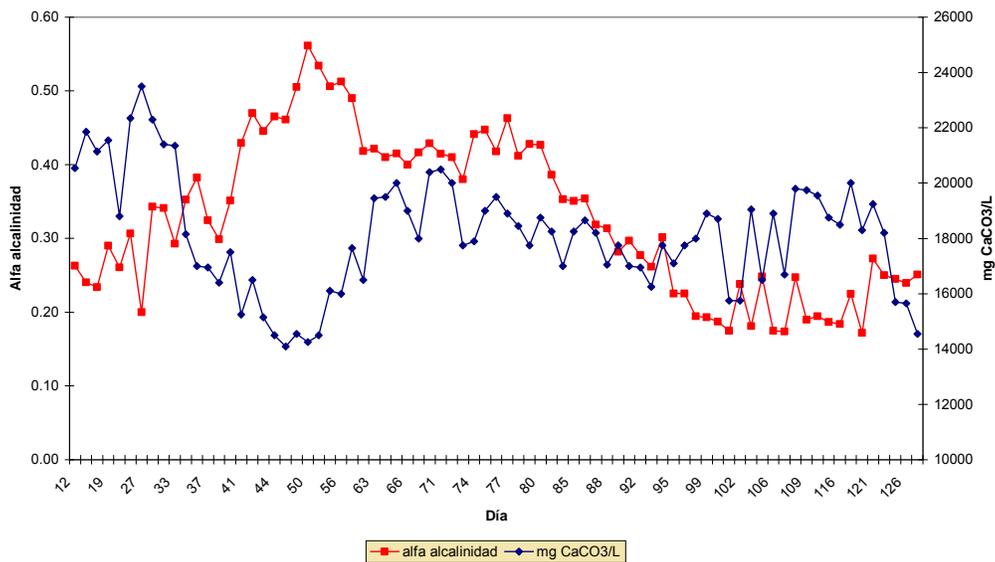
Alfa alcalinidad y mgCaCO₃/L R1



Fuente: Esta investigación

Figura 4.6 Alcalinidad y factor alfa en R1

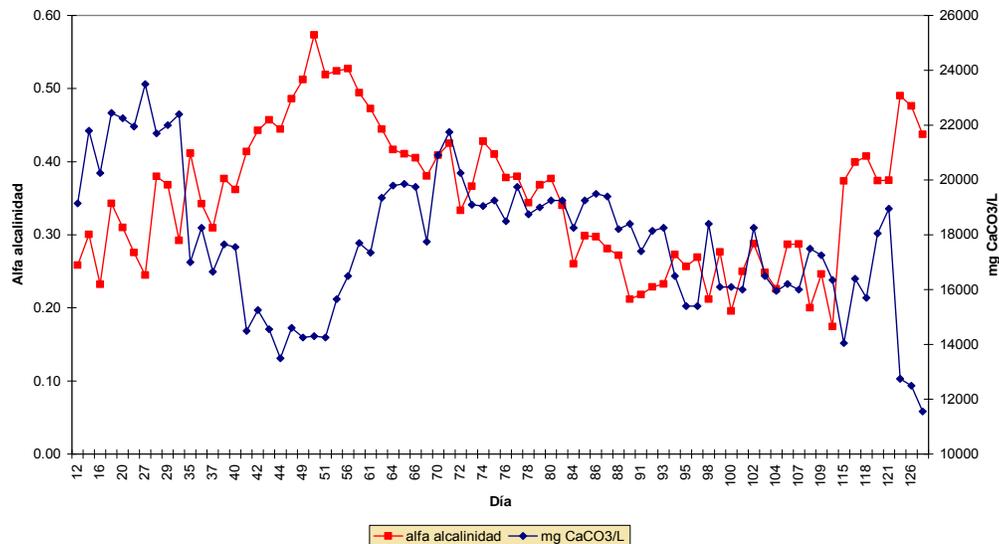
Alfa alcalinidad y mgCaCO₃/L R2



Fuente: Esta investigación

Figura 4.7 Alcalinidad y factor alfa en R2

Alfa alcalinidad y mgCaCO3/L R3

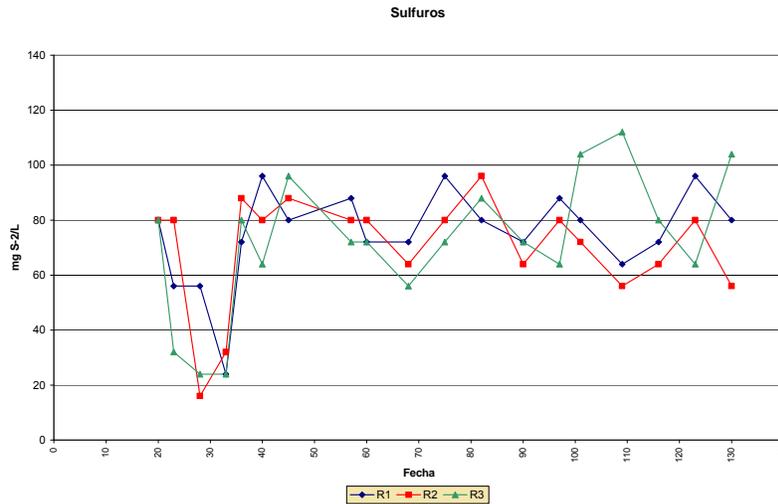


Fuente: Esta investigación

Figura 4.8 Alcalinidad y factor alfa en R3

En esta instancia los reactores presentaron poca favorabilidad hacia la metanogénesis y, buscando en la literatura, se encuentra que aplicando la solución nutritiva de Bryant et al (1971) se disminuye el impacto provocado por este cambio súbito. Esto se puede observar en el día 100 cuando se realiza el incremento de temperatura de 55°C a 65°C para R3, disminuyéndose de esta forma la afectación sobre el sistema, reflejado en los parámetros de control en este caso la alcalinidad y el factor alpha alcalinidad (α)

- **Sulfuros.** Esta prueba se realizó con el fin de observar el comportamiento de los sulfatos al ser transformados al interior de los reactores a sulfuros y de esta manera utilizarla como un punto de referencia para cualquier desestabilización del sistema. El valor de sulfuros en la vinaza de alimentación presenta un valor de 69 mg L⁻¹ y observando la Figura 4.9 se encuentra que el valor máximo de sulfuros en la salida corresponde al R3(65°C) siendo 100 mg L⁻¹, y presentando en los días posteriores al incremento de la temperatura de 55 a 65°C, confirmando así los cambios presentados a raíz de esta modificación. Microbiológicamente, la concentración de sulfuros en solución acuosa juega un doble papel. A bajas concentraciones (25 mg L⁻¹) fomenta la actividad metanogénica y a 150 mg L⁻¹ de H₂S no ionizado la inhibe (Speece, 1983). Teniendo en cuenta esta información y con base a los valores obtenidos por esta investigación se puede decir que la formación de sulfuros en los reactores no presento ningún problema de tipo inhibitorio.
- **Sólidos suspendidos y sólidos disueltos.** La Tabla 4.10. muestra los valores promedio de los sólidos suspendidos y disueltos realizados a la vinaza tratada de los tres reactores correspondientes a los 4 meses de seguimiento hacia la estabilización.



Fuente: Esta investigación

Figura 4.9 Sulfuros a la salida de los reactores

Tabla 4.10. Valores promedio de sólidos en todas sus formas

Ítem	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	SSF (mg/L)	SDT (mg/L)	SDV (mg/L)	SDF (mg/L)
Alimentación	2475	1803	673	54841	24967	29874
R1 45°C	3865	2796	1069	48298	22135	26164
R2 55°C	3625	2546	1078	48012	20809	27203
R3 65°C	4691	3283	1308	50558	20420	30138

Fuente: Esta investigación

- **Balace de producción de metano teórico a partir de la remoción de DQO en los reactores anaerobios.** Una vez que se han obtenido los valores de remoción de DQO de los análisis realizados semanalmente y la producción de metano por medio del sistema de medición de Mariotte, es posible realizar una comparación con la cantidad teórica basada en la remoción de DQO. Las Tablas 4.11, 4.12 y 4.12 presentan los valores de pH de entrada y salida del reactor, la producción de metano medida en el sistema de Mariotte, el valor de DQO de entrada y salida y el cálculo del volumen teórico de metano a producirse según los datos de remoción de DQO para cada uno de los reactores.

Este cálculo se realiza a partir de la ecuación estequiométrica de las necesidades de oxígeno para la producción de metano y del valor en gramos de DQO removidos por un mol de metano producido. De esta forma el metano producido depende del valor de temperatura de operación. Las tablas mencionadas muestran el impacto recibido por el sistema de reactores en el día 40, debido a los incrementos de temperatura. Aquí se alcanzaron los valores más bajos en cuanto a remoción de DQO. Realizando una comparación entre el metano medido y el producido se encuentran grandes diferencias en los valores medidos en los primeros días y tan sólo en algunos pocos días la medición fue muy cercana al valor teórico en R1.

Tabla 4.11 Volumen de metano medido por el sistema Mariotte y volumen teórico producido con base en la remoción de DQO en R1

Día	pH alimentación.	pH efluente	T (°C)	DQO entrada (mg)	DQO salida (mg)	% rem DQO	g DQO removido	V CH ₄ (L) teórico	V CH ₄ (L) medido
16	7.043	7.463	46	59861	33333	44.3	26.5	14.0	1.5
19	7.151	7.458	45	60833	32639	46.3	28.2	14.9	2
21	7.328	7.671	45	62500	28472	54.4	34.0	18.0	2
23	7.128	7.479	45	55417	28750	48.1	26.7	14.1	2
27	6.620	8.121	45	63750	29028	54.5	34.7	18.4	6.5
28	7.048	7.551	46	56667	28750	49.3	27.9	14.8	7.2
30	6.923	7.450	45	56250	30972	44.9	25.3	13.4	7.3
35	6.517	8.074	46	60417	29861	50.6	30.6	16.2	8.5
37	6.554	7.540	46	52917	30417	42.5	22.5	11.9	10.8
41	6.248	7.614	45	52319	28292	45.9	24.0	12.7	6
48	6.281	7.600	46	51625	31625	38.7	20.0	10.6	5.5
50	6.253	7.330	46	61208	39125	36.1	22.1	11.7	8
52	6.528	7.372	45	51833	33986	34.4	17.8	9.4	6
54	6.950	7.313	45	60514	38083	37.1	22.4	11.9	11
56	6.985	7.524	45	58153	37458	35.6	20.7	11.0	5.5
58	7.025	7.482	45	59264	38153	35.6	21.1	11.2	8
61	7.023	7.618	45	60514	34819	42.5	25.7	13.6	11
63	6.950	7.637	44	55792	32042	42.6	23.8	12.6	17
65	7.053	7.836	46	58153	30792	47.1	27.4	14.5	11
70	6.957	7.673	46	55653	30375	45.4	25.3	13.4	8.5
71	7.110	8.150	43	54958	33431	39.2	21.5	11.4	8
75	6.921	7.970	45	59264	29542	50.2	29.7	15.7	9
78	7.015	8.070	47	59264	31069	47.6	28.2	14.9	14
81	7.011	7.803	45	58986	30792	47.8	28.2	14.9	9
83	7.025	7.765	43	55514	28431	48.8	27.1	14.3	12
85	7.057	7.912	45	55792	29403	47.3	26.4	14.0	11
88	6.975	8.088	46	55931	29819	46.7	26.1	13.8	11
90	6.994	7.725	30	57875	29125	49.7	28.8	15.2	7
92	7.034	7.852	45	56347	29819	47.1	26.5	14.0	12
95	7.047	7.856	45	58708	30375	48.3	28.3	15.0	13
97	7.045	8.181	47	58153	27875	52.1	30.3	16.0	8
99	7.083	7.452	46	54264	26764	50.7	27.5	14.6	11
102	7.090	7.993	46	56069	28986	48.3	27.1	14.3	11
105	7.035	7.871	46	55514	29264	47.3	26.3	13.9	10
106	7.025	7.855	46	53153	29542	44.4	23.6	12.5	12
109	7.091	8.080	47	52875	28917	45.3	24.0	12.7	11
111	7.190	8.120	47	53153	24681	53.6	28.5	15.1	--
113	6.890	8.155	45	52875	19264	63.6	33.6	17.8	12
115	6.935	8.250	47	55375	23847	56.9	31.5	16.7	9
117	6.557	8.034	46	53014	24264	54.2	28.8	15.2	12
119	6.591	7.923	47	53847	27597	48.7	26.3	13.9	10

Fuente: Esta investigación

Tabla 4.12 Volumen de metano medido por el sistema Mariotte y volumen teórico producido con base en la remoción de DQO en R2

Día	pH alimentación.	pH efluente	T (°C)	DQO entrada (mg)	DQO salida (mg)	% rem DQO	g DQO removido	V CH ₄ (L) teórico	V CH ₄ (L) medido
16	7.043	7.795	45	59861	30417	49.2	29.4	16.1	1
19	7.249	7.696	45	60833	27639	54.6	33.2	18.1	2
21	7.291	7.731	45	62500	28750	54.0	33.8	18.4	2
23	7.329	7.639	44	55417	22500	59.4	32.9	18.0	4
30	6.973	7.580	45	56250	28750	48.9	27.5	15.0	6.8
35	6.517	8.006	50	60417	29028	52.0	31.4	17.1	6.3
36	6.580	7.699	49	55833	30417	45.5	25.4	13.9	6.5
37	6.554	7.681	50	52917	32083	39.4	20.8	11.4	--
41	6.248	7.874	55	52319	37042	29.2	15.3	8.3	10
44	6.226	7.530	55	51903	34542	33.4	17.4	9.5	10
48	6.281	7.737	55	51625	33431	35.2	18.2	9.9	6
50	6.253	7.380	56	61208	34264	44.0	26.9	14.7	8
52	6.528	7.425	54	51833	35167	32.2	16.7	9.1	7
54	6.950	7.573	56	60514	35931	40.6	24.6	13.4	9
56	6.985	7.637	54	58153	38569	33.7	19.6	10.7	8.5
58	7.025	7.560	56	59264	37597	36.6	21.7	11.8	5
61	7.023	7.726	54	60514	37250	38.4	23.3	12.7	10
63	6.950	7.871	54	55792	32458	41.8	23.3	12.7	14
65	7.053	7.910	55	58153	30375	47.8	27.8	15.2	9
70	6.957	8.021	56	55653	31625	43.2	24.0	13.1	11
71	7.110	7.630	56	54958	32736	40.4	22.2	12.1	11
75	6.921	8.242	55	59264	30375	48.7	28.9	15.8	11
78	7.015	8.115	55	59264	33292	43.8	26.0	14.2	15
81	7.011	7.888	55	58986	27875	52.7	31.1	17.0	11
83	7.025	7.898	55	55514	29681	46.5	25.8	14.1	9
85	7.057	8.031	55	55792	28708	48.5	27.1	14.8	11
88	6.975	8.286	55	55931	30236	45.9	25.7	14.0	11
90	6.994	7.898	55	57875	29681	48.7	28.2	15.4	8
92	7.034	8.095	55	56347	28153	50.0	28.2	15.4	15
95	7.047	8.130	56	58708	29958	49.0	28.8	15.7	11
97	7.045	8.039	55	58153	27181	53.3	31.0	16.9	10
99	7.083	7.487	50	54264	26208	51.7	28.1	15.3	11
102	7.090	8.102	54	56069	25792	54.0	30.3	16.5	11
105	7.035	8.018	57	55514	25792	53.5	29.7	16.2	11
106	7.025	7.912	56	53153	28014	47.3	25.1	13.7	13
109	7.091	8.150	56	52875	22875	56.7	30.0	16.4	10
111	7.190	8.209	55	53153	23431	55.9	29.7	16.2	12
113	6.890	8.207	55	52875	18292	65.4	34.6	18.9	14
115	6.935	8.305	57	55375	24958	54.9	30.4	16.6	11
117	6.557	8.120	55	53014	24958	52.9	28.1	15.3	13
119	6.591	7.977	55	53847	26208	51.3	27.6	15.1	12

Fuente: Esta investigación

Tabla 4.13 Volumen de metano medido por el sistema Mariotte y volumen teórico producido con base en la remoción de DQO en R3

Día	pH alimentación.	pH efluente	T (°C)	DQO entrada (mg)	DQO salida (mg)	% rem DQO	g DQO removido	V CH ₄ (L) teórico	V CH ₄ (L) medido
16	7.043	7.775	45	59861	35833	40.1	24.0	13.5	1.5
19	7.198	7.676	44	60833	30694	49.5	30.1	17.0	2
21	7.395	7.710	46	62500	23472	62.4	39.0	21.9	2
27	6.620	8.353	45	63750	28750	54.9	35.0	19.7	4
28	7.068	7.551	46	56667	30139	46.8	26.5	14.9	3.5
30	6.989	7.548	45	56250	29583	47.4	26.7	15.0	6.7
35	6.517	7.871	50	60417	26806	55.6	33.6	18.9	6.3
36	6.580	7.767	50	55833	23750	57.5	32.1	18.0	8.3
41	6.248	7.721	55	52319	34750	33.6	17.6	9.9	11
44	6.226	7.860	56	51903	33708	35.1	18.2	10.2	8
48	6.281	7.760	55	51625	34403	33.4	17.2	9.7	2.5
50	6.253	7.384	55	61208	37875	38.1	23.3	13.1	7
52	6.528	7.416	55	51833	30236	41.7	21.6	12.1	12
54	6.950	7.480	55	60514	37458	38.1	23.1	13.0	10
56	6.985	7.683	55	58153	37875	34.9	20.3	11.4	12
58	7.025	7.580	55	59264	33292	43.8	26.0	14.6	8
61	7.023	7.824	54	60514	35167	41.9	25.3	14.3	9
63	6.950	7.824	53	55792	32458	41.8	23.3	13.1	13
65	7.053	7.950	54	58153	29403	49.4	28.8	16.2	10
70	6.957	8.115	55	55653	30931	44.4	24.7	13.9	12
71	7.110	7.826	55	54958	31347	43.0	23.6	13.3	9
75	6.921	8.242	55	59264	35514	40.1	23.8	13.4	8
78	7.015	8.175	55	59264	34542	41.7	24.7	13.9	9
81	7.011	8.016	55	58986	30653	48.0	28.3	15.9	9
83	7.025	8.007	55	55514	29681	46.5	25.8	14.5	11
85	7.057	8.202	57	55792	27181	51.3	28.6	16.1	10
88	6.975	8.347	55	55931	28986	48.2	26.9	15.2	10
90	6.994	8.000	55	57875	29958	48.2	27.9	15.7	5
92	7.034	7.907	55	56347	29264	48.1	27.1	15.2	7
95	7.047	7.980	56	58708	30375	48.3	28.3	15.9	10
97	7.045	7.954	55	58153	33431	42.5	24.7	13.9	9
99	7.083	7.820	50	54264	30375	44.0	23.9	13.4	9
102	7.090	7.893	54	56069	30375	45.8	25.7	14.5	11
105	7.035	8.114	66	55514	31000	44.2	24.5	13.8	8
106	7.025	7.768	65	53153	31208	41.3	21.9	12.3	11
109	7.091	7.960	66	52875	29681	43.9	23.2	13.0	9
111	7.190	8.030	65	53153	27319	48.6	25.8	14.5	12
113	6.890	8.100	66	52875	25375	52.0	27.5	15.5	10
115	6.935	8.098	67	55375	26069	52.9	29.3	16.5	11
117	6.557	7.905	65	53014	26764	49.5	26.3	14.8	13
119	6.591	7.995	66	53847	25375	52.9	28.5	16.0	9

Fuente: Esta investigación

En el día 106 se midieron 12 litros de metano y el valor teórico corresponde a 12.5 L. Para R2 las producciones de metano medidas se incrementaron con respecto al R1, pero tampoco alcanzan los valores teóricos.

En la Tabla 4.12 correspondiente a R3 se presentan valores medidos más cercanos a que lo mostrado en las dos tablas anteriores. Es importante mencionar que la utilización del sistema Mariotte no permite obtener valores exactos de la producción de metano, debido principalmente a la medición “gruesa” de los volúmenes de agua desplazados y, en ocasiones, a fugas generadas en los orificios utilizados para el paso de las mangueras y al tipo de material sellante utilizado. Se empleó silicón pero éste presentaba una tendencia a despegarse en tiempos relativamente cortos generando escapes. Los valores obtenidos para la desviación estándar entre los valores medidos de producción de metano y los calculados en los días de estabilidad de los reactores se presentan en la Tabla 4.14.

Tabla 4.14. Desviaciones estándares de la producción de metano

Reactor	Mínimo			Máximo		
	V CH ₄ teórico	V CH ₄ medido	Desviación estándar	V CH ₄ teórico	V CH ₄ medido	Desviación estándar
R1 (45°C)	12.5	12	0.35	15.20	7	5.80
R2 (55°C)	15.4	15	0.28	15.40	8	5.23
R3 (65°C)	12.3	11	0.92	15.70	5	7.57

Fuente: Esta investigación

4.3 Cálculo de la energía de activación basado en la ecuación de Arrhenius

La evaluación de la actividad metanogénica a cada una de las temperaturas de operación permite la obtención de la K_H o constante de velocidad de la metanogénesis ajustando la metodología empleada por Veecken y Hamelers (1999). Ésta ajusta la producción acumulada de metano a una ecuación no lineal. La ecuación no lineal debe ser resuelta mediante el empleo de herramientas de computación como Matlab para, de esta forma, obtener un sistema de dos ecuaciones no lineales a resolverse en un método numérico iterativo como Newton multivariado o Solver de Excel y para finalizar con la combinación de las constantes obtenidas a cada una de las temperaturas obtener la energía de activación según lo expresado en el apartado 2.11. A partir de este punto se presentan los datos de cada uno de los pasos a seguir.

4.3.1 Determinación de sólidos suspendidos volátiles de los lodos anaerobios.

Una vez llegado al punto de estabilización basado en los porcentajes de remoción de DQO, el valor de alcalinidad y alfa alcalinidad, se realiza una purga de lodos de los reactores con el fin de obtener el lodo necesario para determinar los sólidos suspendidos volátiles y de esta forma preparar la cantidad de substrato en este caso vinazas y todas la condiciones necesarias para reproducir los reactores a escala en viales.

Los resultados promedio obtenidos para tres repeticiones de los SSV para los lodos anaerobios de los tres reactores se presentan en la Tabla 4.15. Se observa una disminución de las comunidades microbianas a medida que se incrementa la temperatura de operación.

Tabla 4.15. Sólidos suspendidos de los lodos anaerobios a las tres temperaturas de operación

Reactor	SST (mg/L)	SSF (mg/L)	SSV (mg/L)
R1 45 °C	149963	52175	97788
R2 55 °C	139675	45655	94020
R3 65 °C	119350	42950	76400

Fuente: Esta investigación

4.3.2 Volumen de sustrato utilizando en las pruebas de actividad metanogénica específica (AME) a las temperaturas de operación

La carga empleada en esta prueba varía según la literatura empleada en esta investigación se emplea 0.4 mgDQO/mgSSV, empleada en el procedimiento estándar del laboratorio de bioprocesos ambientales del Edificio 5 del Instituto de Ingeniería de la UNAM, se calculan los requerimientos de sustrato, que se muestran en la Tabla 4.16.

Tabla 4.16. Volumen utilizado de sustrato a cada una de las tres temperaturas

Reactor	V de vinaza (mL)	V de ácido acético (mL)
R1 45 °C	3.1	4.2
R2 55 °C	3.0	4.0
R3 65 °C	2.4	3.2

Fuente: Esta investigación

4.3.3 Determinación de la actividad metanogénica específica de los lodos anaerobios

La Tabla 4.17 muestra el promedio de los datos por triplicado de la velocidad o rapidez de producción de metano para los dos sustratos empleados, vinaza y ácido acético, al cumplirse aproximadamente 120 días de iniciada la adaptación en continuo y que las condiciones de los parámetros de seguimiento alcanzaron los valores de estabilidad establecidos. Para la actividad metanogénica de ambos sustratos no existen diferencias significativas entre los valores obtenidos (Apéndice F4). Claramente se puede observar que para los dos sustratos existe una disminución de la rapidez de la reacción a la temperatura de 55°C.

Tabla 4.17. Actividad metanogénica específica para vinazas y ácido acético

Reactor	AME (Acido Acético) g DQO-CH ₄ /gSSV*d	AME (vinazas) g DQO-CH ₄ /gSSV*d
R1 45 °C	0.262	0.131
R2 55 °C	0.110	0.054
R3 65 °C	0.193	0.089

Fuente: Esta investigación

4.3.4 Determinación de las constantes de rapidez de reacción

Utilizando la herramienta “Solver” de Excel se emplea la ecuación 24 presentada por Veeken y Hamelers (1999), con la cual con los datos de producción de metano acumulado y el tiempo de acumulación para cada reactor, se ajustan los datos obtenidos a partir de las actividades metanogénicas realizadas para las tres temperaturas. Esta ecuación, de tipo exponencial, no permite obtener soluciones por sustitución. Los valores a obtener por solución de mínimos cuadrados no lineales se presentan en el Apéndice D, así como el modelo de solución empleado. La Tabla 4.18 presenta el valor de las constantes de metanogénesis obtenidas en esta investigación.

Tabla 4.18. Constantes de rapidez de reacción para metanogénesis

Reactor	T (°C)	K_H (d ⁻¹)
R1	45	0.034
R2	55	0.044
R3	65	0.059

Fuente: Esta investigación

La Tabla 4.19. muestra la comparación de los valores de la rapidez de reacción para la metanogénesis obtenidos en otras investigaciones y en ésta. Se puede observar claramente que el tratar un agua residual diluida disminuye los valores de rapidez con respecto a la misma agua residual sin diluir. Se puede decir que la toxicidad disminuye con la dilución y esto facilitaría la acción de los microorganismos y de ahí la rapidez de reacción pero, de la misma, forma al diluir el agua la cantidad de material biodegradable disminuye por unidad volumétrica aumentando la complejidad de la transformación de la materia a metano y, por ende, creando un retraso con la rapidez de reacción.

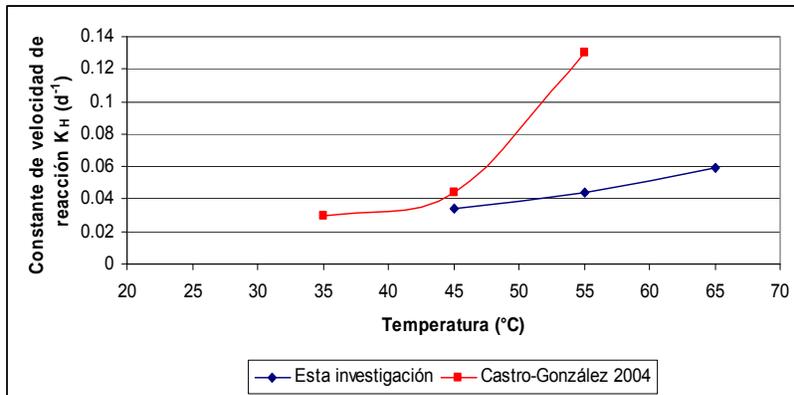
De la misma forma, el tratamiento de aguas residuales industriales complejas como las vinazas presenta velocidades de reacción menores en un orden de magnitud comparadas con aguas residuales cuyos componentes son moléculas simples, en su mayoría fácilmente degradables.

Tabla 4.19. Comparación de constantes de rapidez de reacción para metanogénesis con esta investigación

T (°C)	Rapidez de reacción K_H (d ⁻¹)					Referencia
	20	35	45	55	65	
Tratamiento anaerobio de vinazas diluidas 50%			0.034	0.044	0.059	Esta investigación
Tratamiento anaerobio de vinazas sin diluir		0.03	0.05	0.13		Castro-González, 2004
Diversos materiales orgánicos	0.15	0.28 ³⁰	0.47 ⁴⁰			Veeken y Hamelers, 1999

En la Figura 4.10 se presentan los resultados para la constante de velocidad de metanogénesis con respecto a la temperatura para la investigación de Castro-González (2004) en la cual se trata vinaza sin diluir y esta investigación tratando vinazas diluidas con agua de la llave en un 50%. Puede observarse que la vinaza diluida presenta una tendencia lineal, mientras que la vinaza pura presenta una tendencia de crecimiento exponencial. El dato correspondiente al reactor de 65°C se tomo al inicio del período de estabilidad y por

razones de tiempo, debió permitirse un lapso prudente y de esta forma la tendencia exponencial se hubiese presentado en el análisis de este sistema.



Fuente: Esta investigación

Figura 4.10 Efecto de la dilución en la constante de rapidez de metanogénesis en el tratamiento anaerobio de vinazas

4.3.5 Obtención de la energía de activación basado en la ecuación de Arrhenius

La ecuación de Arrhenius permitió conocer el efecto que la temperatura tiene sobre la velocidad de reacción de la metanogénesis en el tratamiento anaerobio de vinazas diluidas en un 50%. Empleando la formulación presentada en el Capítulo 2 y graficando el logaritmo natural de la constante de metanogénesis contra el inverso de la temperatura de operación en grados Kelvin permite ajustar este modelo a la ecuación 24 y graficando similarmente a la Figura 2.4 se puede obtener el valor de la energía de activación del sistema y objeto de esta investigación. La Tabla 4.20 tabula los valores empleados la realización de esta gráfica.

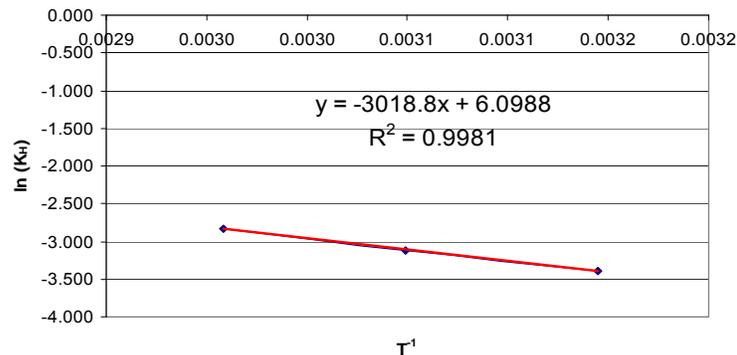
Tabla 4.20. Datos empleados para la obtención gráfica de la energía de activación (E_a)

Reactor	T (°C)	T(K)	K _H (d ⁻¹)	T ⁻¹	ln (K)
R1	45	318	0.0338	0.0031	-3.387
R2	55	328	0.0442	0.0030	-3.119
R3	65	338	0.0593	0.0030	-2.825

Fuente: Esta investigación

Al graficar se obtiene una pendiente m de -3018.8, la cual según la ecuación linealizada de Arrhenius representa la relación entre la energía de activación del sistema (E_a) y la constante universal de los gases (R), que para este caso tomará el valor de $8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, es decir:

$$m = -3018.8 = -\frac{E_a}{R}$$



Fuente: Esta investigación

Figura 4.11. Linealización de la ecuación de Arrhenius para obtener la energía de activación E_a

Al despejar se obtiene que la energía de activación E_a para este sistema de tratamiento anaerobio de vinazas es de **25.1 kJ mol⁻¹**. El valor obtenido en esta investigación es menor que el obtenido en investigaciones anteriores de 62.8 kJ mol⁻¹ para 35-55°C (Castro-González, 2004) debido principalmente a que las constante de velocidad de metanogénesis de esta investigación no presenta diferencias considerables.

Una energía de activación de 25.1 kJ mol⁻¹ se encuentra en el rango de valores reportados en la literatura, la cual presenta valores de 80 kJ mol⁻¹ para 20-35°C utilizando organismos puros (*Methanobacterium arboriphilus*), En otros casos la energía fue de 28 a 50 kJ mol⁻¹ para sedimentos de lago adaptados y lodos respectivamente en temperaturas de 15-30°C (Lubberding and Stams, 1995).

4.4 Evaluación de las constantes cinéticas empleando la ecuación de Monod

Basado en la metodología planteada en esta investigación la prueba se realizará con un período de duración de 20 días, evaluando DQO al sustrato, y la biomasa presente en cada uno de los puntos expresada como gSSV L⁻¹ y con los fundamentos del Capítulo 2 obtener los valores en gDQO L⁻¹ para K_s y de k en d⁻¹.

Paralelamente con la realización de las pruebas de actividad metanogénicas para las tres temperaturas de operación (45, 55 y 65°C) se colocaron los viales con las mismas características que la empleadas en la prueba de AME con la diferencia de que no se empleó un medio de cultivo, solamente el lodo anaerobio proveniente de los reactores y la cantidad de sustrato, en este caso vinazas diluidas a un 50% con agua de la llave, en una atmósfera anaerobia creada con gas nitrógeno (N₂).

En la Tabla 4.21 se hace una recopilación de los datos principales de las tres corridas empleadas para la obtención de las constantes cinéticas. Se muestran los valores inicial y final de la demanda química de oxígeno soluble en gO₂ L⁻¹, el porcentaje de remoción

obtenido y el valor promedio de sólidos suspendidos volátiles en gSSV L⁻¹. El desglose completo del procedimiento de obtención de estos valores se presenta en el Apéndice E.

Tabla 4.21. Datos empleados en la obtención de las constantes cinéticas K_s y k

Reactor	DQOs inicial (mgO ₂ L ⁻¹)	DQOs final (mgO ₂ L ⁻¹)	% de remoción de DQOs	SSV (mg L ⁻¹)
R1 45 °C	51208	20792	59.4	94000
R2 55 °C	51208	20653	59.7	86400
R3 65 °C	51208	25250	48.2	74939

Fuente: Esta investigación

4.4.1 Desarrollo del método gráfico de determinación de K_s y k

Una vez conocidos los valores de los parámetros fisicoquímicos necesarios para determinar las constantes cinéticas se desarrolla el método gráfico presentado en el apartado 2.10. Es necesario realizar las operaciones que conducen a la ecuación 22. La Tabla 4.22 presenta los valores utilizados en cada uno de los ejes del plano. La Figura 4.12 permite observar el empleo del método gráfico para obtener los valores de las constantes cinéticas, en las cuales se presenta una tendencia similar para los reactores R1(45°C) y R3(65°C), mientras para el reactor R2 (55°C) se presenta una tendencia casi lineal.

$$\frac{X\theta}{S_o - S} = -\frac{K_s}{k} * \frac{1}{S} + \frac{1}{k}$$

Tabla 4.22. Datos empleados en la obtención de las constantes cinéticas K_s y k

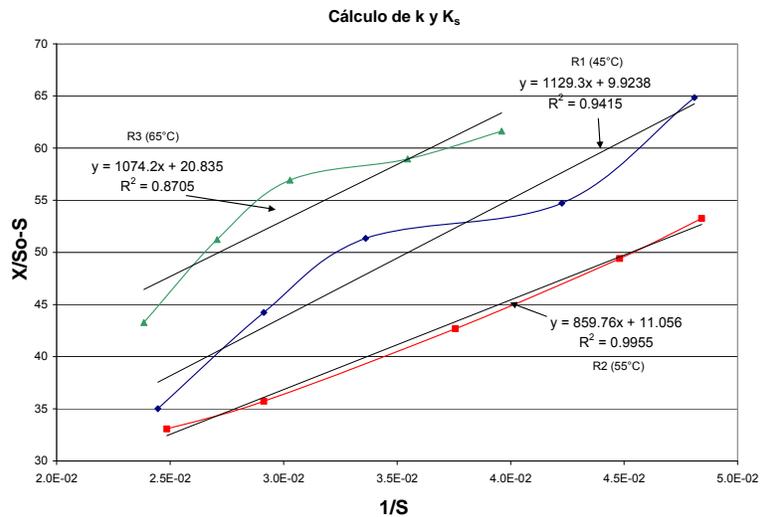
R1 (45 °C)		R2 (55 °C)		R3 (65 °C)	
(X*θ)/(S _o -S)	1/S	(X*θ)/S _o -S	1/S	(X*θ)/S _o -S	1/S
35.02	2.4E-02	33.1	2.5E-02	43.3	2.4E-02
44.23	2.9E-02	35.7	2.9E-02	51.2	2.7E-02
51.34	3.4E-02	42.7	3.8E-02	56.9	3.0E-02
54.72	4.2E-02	49.4	4.5E-02	59.0	3.5E-02
64.83	4.8E-02	53.3	4.8E-02	61.6	4.0E-02

Fuente: Esta investigación

A partir de los valores de la pendiente y del intercepto obtenido en cada una de las rectas que demarcan la línea de tendencia de los puntos experimentales se pueden encontrar los valores presentados en la Tabla 4.23.

Singh y Viraraghavan (2002) estudiaron el efecto de la temperatura en los coeficientes biocinéticos en reactores del tipo *UASB* para aguas residuales en temperaturas desde 6 a 32°C y, en uno de sus apartados, presentan una recopilación de citas nombradas a continuación en la cual se hay conceptos y tendencias que la **constante de velocidad media** K_s presenta, de la siguiente forma: Actualmente K_s cuantifica concentraciones orgánicas de aguas residuales en la tasa de “crecimiento” (proliferación); sin embargo, el valor de K_s

también indica la afinidad relativa de los microorganismos a un sustrato. A un valor de K_s grande, menor es la afinidad por el sustrato y viceversa. Topiwala y Sinclair (1971) relacionaron K_s con el proceso de transporte de sustrato dentro de las células microbianas y sugieren que este parámetro puede ser descrito satisfactoriamente por el modelo de Arrhenius. Su gráfica del modelo de Arrhenius indica un decrecimiento en K_s con el incremento de la temperatura.



Fuente: Esta investigación

Figura 4.12. Determinación gráfica de las constantes cinéticas

Tabla 4.23. Constantes cinéticas K_s y k para la degradación de vinazas diluidas en un 50%

Reactor	k (d^{-1})	K_s ($gDQO L^{-1}$)
R1 45 °C	0.101	113.8
R2 55 °C	0.090	77.76
R3 65 °C	0.048	51.57

Fuente: Esta investigación

Lawrence y McCarty (en Viraraghavan y Varadarajan, 1995) reportaron resultados similares al tratar ácido acético con bacterias metanogénicas. Viraraghavan y Varadarajan (1995) mencionan que también que los valores de K_s se incrementaron con el aumento de temperatura, mientras trataban efluentes de tanques sépticos por medio de filtros anaerobios, en el intervalo de temperatura de 5 a 20°C. Grant y Lin (1995) también encontraron que el valor de K_s se incrementa al aumentarse la temperatura de operación tratando aguas residuales sintéticas en un reactor de tipo UASB. Basados en los resultados obtenidos en el pasado, la constante de velocidad media puede incrementarse o disminuirse con la disminución de la temperatura dependiendo de los organismos, las condiciones medioambientales y la geometría del reactor. El valor de K_s también puede ser asociado con la difusión y otros mecanismos de transporte indicando que una variación con la temperatura puede depender también del régimen de flujo al interior del reactor UASB.

De la misma forma que para Castro-González (2004), los valores de la constante K_s fueron para 35, 45 y 55°C, de 119.49, 106.02 y 88.97 gDQOL⁻¹ respectivamente, y en esta investigación disminuyeron al incrementarse la temperatura de la misma forma como se observa en la Tabla 4.23.

El término k , definido como la tasa máxima de utilización de sustrato por unidad de masa de microorganismos, se encuentra a partir de la siguiente relación:

$$k = \frac{\mu_{max}}{Y}$$

donde:

μ_{max} = máxima tasa de crecimiento específica (tiempo⁻¹)

Y = coeficiente de producción máxima medio (masa de células formadas/masa de sustrato consumido)

La tasa máxima de crecimiento específico (μ_{max}) no es una constante, pero si está relacionada con la concentración de sustrato residual en el sistema. El coeficiente de producción de biomasa (Y) presenta una alta significancia en las consideraciones económicas en los procesos de tratamiento, indicando el volumen de lodo en exceso producido, el cual requiere un tratamiento y disposición. Un bajo valor del coeficiente indica que el material carbonoso del influente está siendo convertido a gas metano y sólo una pequeña cantidad del lodo resultante es acumulado. Pero, de esta misma forma, un valor bajo de Y vuelve al sistema sensible a choques por carga. La disminución del valor de K_s está directamente relacionado con el valor de la máxima tasa de crecimiento específico, siendo K_s el valor medio de este parámetro a medida que K_s , disminuye con el incremento de temperatura el valor de $\mu_{max}/2$ debe incrementarse y considerando que el valor de Y es bajo en un sistema anaerobio con una buena remoción de DQO y producción de metano. Esto indicaría que el valor de μ_{max} se encuentra disminuyendo.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

El objetivo planteado para esta investigación era evaluar la cinética anaerobia de vinazas durante el proceso de adaptación con una alimentación diluida al 50% con agua de la llave en el intervalo termofílico a las temperaturas de 45,55 y 65°C y terminada la investigación se puede concluir lo siguiente:

- La energía de activación de un sistema tratando vinazas diluidas disminuye con respecto a los valores presentados por un sistema con vinaza pura. El valor de energía de activación E_a obtenido en esta investigación, de 25.1 kJ mol⁻¹, es menor de un 50% comparado con el valor obtenido en anteriores investigaciones para alimentación con vinazas puras, sin diluir. Esto deja entender claramente que la dilución disminuye el valor de inicio para la metanogénesis según lo mencionado en los fundamentos teóricos (pág. 54), donde se presenta que la E_a es la cantidad necesaria de energía que requiere un sistema para llevar a cabo una reacción. Esto puede ser benéfico al momento de considerar el tiempo requerido para el arranque de un reactor anaerobio a escala industrial, el cual disminuiría y con esto los costos económicos del mismo. Es importante realizar una comparación de beneficios entre un sistema de alimentación con vinazas puras y uno de alimentación con vinazas diluidas en el campo de producción de metano y su reutilización.
- Los valores que se obtienen para pruebas de actividad metanogénica específica (AME) al lodo adaptado a cada una de las temperaturas de operación (45, 55 y 65°C) en sistemas tratando aguas residuales industriales complejas son bajos comparados con los obtenidos en cualquier sistema con moléculas de fácil degradación, aún al diluir las vinazas y, por ende, disminuir la toxicidad presente en los diferentes compuestos que hacen parte de ella.
- La disminución de la rapidez de velocidad de la metanogénesis con respecto de una vinaza diluida con respecto a una sin diluir afecta directamente los valores obtenidos para las constantes cinéticas de Monod.
- La temperatura de 45°C favorece una mayor producción de metano para vinazas diluidas al 50% y bajo las condiciones operacionales presentadas en esta investigación durante la etapa dinámica de estabilización con respecto a 55 y 65°C.
- Los valores descendentes obtenidos para la constante cinética K_s dan una idea de incremento en la afinidad de los microorganismos por la vinaza al incrementarse la

temperatura, pero no favorece de la misma forma la producción de metano en cada uno de los reactores.

- Los valores de k también disminuyen con el aumento de la temperatura y como su valor procede de la relación entre la tasa máxima de crecimiento específico ($\mu_{m\acute{a}x}$) y el coeficiente de producción máxima de biomasa (Y). Siendo el valor de Y en los sistemas anaerobios muy bajo, se puede concluir que el valor de k disminuye por la disminución de la tasa de crecimiento específico al incrementarse la temperatura en este sistema.
- Los sólidos suspendidos volátiles del lodo anaerobio disminuyen a medida que la temperatura se incrementa mostrando directamente una disminución de las comunidades generadoras de metano sin tener la misma relación con la producción de metano. Esto pareciera indicar que, a altas temperaturas, la velocidad de producción de metano se incrementa aún cuando la proliferación de los microorganismos disminuye.

5.2 Recomendaciones

El tratamiento anaerobio de aguas residuales industriales complejas como las vinazas está sujeto a una infinidad de variables en el proceso. Por ello, ahora que esta fase de la investigación está terminada, se recomienda:

- Realizar un seguimiento a la variabilidad de las constantes biocinéticas de producción de metano para cada una de las etapas de estabilización de los reactores.
- Estudiar los beneficios económicos para la operación de reactores anaerobios alimentados con vinaza pura y diluida al 50%, basados en los valores de la energía de activación para cada sistema determinar la viabilidad económica y ambiental de cada uno de ellos.
- Analizar en un sistema en igualdad de condiciones a las utilizadas en esta investigación, las posibles inhibiciones a las cuales se somete un lodo anaerobio según lo presentado en el Capítulo 2, haciendo énfasis en una posible inhibición por sustrato competitivo o no competitivo.

Apéndice A.
**PRINCIPALES METODOLOGÍAS EMPLEADAS EN LA
CARACTERIZACIÓN DE VINAZAS**

A1. Demanda química de oxígeno (DQO)
Método rápido colorimétrico (reflujo cerrado)



- **INTRODUCCIÓN**

La llamada demanda química de oxígeno es una determinación química de la cantidad de sustancias fuertemente oxidantes requeridas para oxidar la fracción orgánica de una muestra susceptible al dicromato o permanganato en medio ácido y, considerando que es una reacción equimolecular, se espera que esta cantidad sea equivalente a la materia orgánica oxidada.

Para la determinación de DQO existen diferentes métodos, dividiéndose principalmente en tres categorías, los métodos de reflujo abiertos, los métodos de reflujo cerrado y los métodos instrumentales.

Para la determinación de reflujo abierto es adecuado para una amplia gama de residuos líquidos en los que se refiere un gran tamaño de muestra y en donde la variación del material oxidante remanente se efectúa por titulometría de la materia oxidante. Los métodos de reflujo cerrado son más económicos en cuanto al uso de reactivos, la valoración se puede efectuar por titulometría de la materia oxidante remanente o bien por colorimetría del ion que se produce por la reducción del componente oxidante (APHA, 1995).

- **MATERIAL Y EQUIPO**

- ✓ Espectrofotómetro UV-Vis GBC-911
- ✓ Horno de calentamiento para usar a 165°C (estufa de secado)
- ✓ Centrifuga (micro y macrocentrifuga)
- ✓ Tubos de reacción (micro)
- ✓ Celda de cuarzo de 10mm para espectrofotómetro

- **REACTIVOS**

- ✓ Ácido sulfúrico concentrado
- ✓ Dicromato de potasio
- ✓ Sulfato de mercurio hidrógenoftalato de potasio (solución de digestión)

✓ Sulfato de plata

• CURVA DE CALIBRACION

En primera instancia se procede a la preparación de los reactivos, para lo cual se muestra su diagrama de flujo a continuación:

a) Solución de digestión 0.21N

Disolver en agua destilada 10.216 g de $K_2Cr_2O_7$, previamente secado a $103^\circ C$ durante 2 horas, junto a 167 mL de ácido sulfúrico concentrado y 33.3 g de sulfato de mercurio, aforar con agua destilada a 1 litro

b) Reactivo ácido sulfúrico

Pesar 10.12 g de sulfato de plata y adicionar un litro de ácido sulfúrico concentrado.

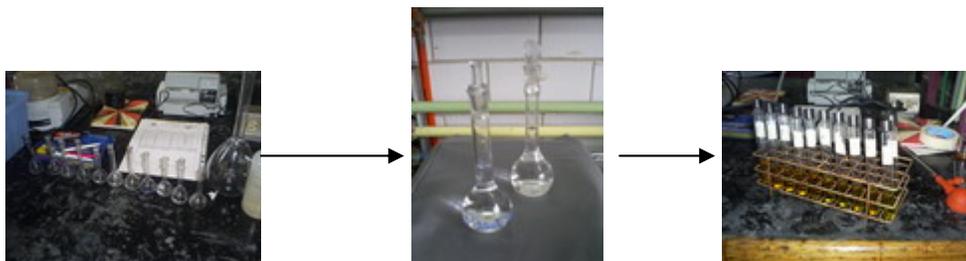
c) Hidrógenoftalato de potasio patrón (HFP)

Disolver en agua destilada 0.68 g de $(C_8H_5KO_4)$ previamente secado a $120^\circ C$ una hora, y aforar a un litro.



d) Preparación de la curva de calibración

Preparar una serie de patrones con una solución de $(C_8H_5KO_4)$ con DQO equivalentes que oscilen entre 20 y 800 mgO_2/mg completando el volumen con agua destilada; utilizando los mismos volúmenes de reactivos, los mismos tubos y el mismo procedimiento de digestión que para la tabla de muestra de problemas (Tabla A1.1).



Para determinar la concentración de una muestra problema se gráfica una curva de calibración utilizando muestras estándares de concentración conocida. De tal manera que la absorbancia de la muestra problema se obtiene en el espectrofotómetro y sus concentraciones se obtendrán por la interpolación de la absorbancia en la curva de calibración.

Tabla A1.1 Elaboración de curva de calibración

matraz	concentración de mgO_2/L	mL ($\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$)	mL agua destilada
1	0	0	25
2	60	1.87	23.13
3	80	2.5	22.5
4	100	3.12	21.88
5	200	6.25	18.75
6	300	9.37	15.63
7	400	12.5	12.5
8	500	15.62	9.38
9	600	18.75	6.25
10	700	29.87	3.13
11	800	25	0

Fuente: PIQA y QA (2005)

- DETERMINACION DE DQO

1. Tomar 2 mL de la muestra a analizar en tubo de digestión(o de la dilución preparada)
2. Adicionar 1 mL de la solución de digestión al tubo de digestión con la muestra a analizar.
3. Adicionar 3 mL del reactivo de ácido sulfúrico.
4. Una vez tapados los tubos se deben agitar fuertemente.
5. Colocar los tubos a digestión en un horno por espacio de 30 minutos a 165°C (reflujo cerrado)
6. Una vez enfriada la muestra, centrifugar por espacio de 30 minutos a 3500 rpm
7. Efectuar lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro a 620 nm.
8. Almacenar los residuos del procedimiento para su posterior tratamiento.

A2. Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)
Prueba respirométrica



1. Preparar 6 frascos como los que se observan en la foto superior.
2. Colocar 1 mL de la muestra a analizar en 5 de los 6 frascos de la prueba y el frasco restante dejarlo como blanco.
3. En un vaso de precipitados de 5 litros colocar 3 litros a oxigenar y con agitación constante.



4. Colocar una cápsula de agente nutritivo (previamente preparado para ser utilizado en 300 mL) en cada uno de los 6 frascos.
5. Colocar 1 gramo de hidróxido de litio en las copas de caucho a colocar en cada uno de los frascos.



6. Completar a 300 mL de agua destilada cada uno de los 6 frascos: 5 de ellos con 299 mL y 1 con 300 mL (blanco).
7. Colocar las copas de caucho en los frascos y tapanlos con cuidado de forma que el hidróxido de litio no caiga al fondo.
8. Ajustar la escala de medida de mercurio a cero.
9. Tomar las mediciones mostradas en la escala durante 5 días consecutivos.

A3. Determinación de cloruros

Método argentométrico (APHA, 1985) 4500-Cl⁻ B

- PRINCIPIO

En una solución neutra o ligeramente alcalina, el cromato de potasio puede indicar el punto final de la titulación de cloruros con nitrato de plata. Se precipita cloruro de plata cuantitativamente antes de formarse el cromato de plata rojo.

- INTERFERENCIA

Iones sulfato, tiosulfato y sulfito interfieren, pero se pueden eliminar con un tratamiento de H₂O₂. El ortofosfato > 25 mg/L precipita fosfato de plata. El Fe > 10 mg/L enmascara el punto final

- INSTRUMENTAL

Matraz Erlenmeyer de 250 mL
Bureta de 50 mL

- REACTIVOS

- a) *Solución indicadora de cromato de potasio*: disolver 50 g de K₂CrO₄ en agua destilada, añadir solución de AgNO₃ hasta formar precipitado rojo, dejar reposar 12 horas y dilúyase a 1 litro de agua destilada.
- b) *Titulante patrón de AgNO₃* 0.0141M (0.0141N). Disolver 2.395 g de AgNO₃ en agua destilada y diluir a 1000 mL. Estandarizar con NaCl por titulación 1 mL = 500 µg Cl⁻
- c) *Cloruro de sodio patrón* 0.0141M disolver 824 mg de NaCl (secado a 140°C) en agua destilada y dilúyase a 1000 mL (1 mL = 500 µg Cl⁻)
- d) *Reactivos de eliminación de interferencias*:
 1. Suspensión de hidróxido de aluminio. Disuélvanse 125 g de sulfato de aluminio y potasio en 1 litro de agua destilada. Caliéntese a 60°C y añádanse 55 mL de hidróxido de amonio concentrado lentamente y con agitación reposar por una hora lávese el precipitado por adiciones sucesivas de agua destilada mezclando bien y decantando.
 2. Solución indicadora de fenoftaleína. Disuélvanse 80 mg de fenoftaleína en 100 mL de metanol absoluto.
 3. Hidróxido de sodio 1 N.
 4. Ácido sulfúrico 1N.

5. Peróxido de hidrógeno al 30%.

- PROCEDIMIENTO

- a) *Preparación de la muestra:* Utilizar 100 mL de muestra o una porción adecuada diluida a 100 mL. Añadir 3 mL de suspensión de $Al(OH)_3$ a muestras coloreadas, mezclar, dejar sedimentar y filtrar. Para evitar interferencias por sulfuros adicionar 1 mL de H_2O_2 y agitar por 1 minuto.
- b) *Titulación:* Valorar las muestras con pH 7 ajustándolas con H_2SO_4 O $NaOH$. Añadir 1 mL de solución indicadora de K_2CrO_4 . Titúlese con $AgNO_3$ patrón hasta un punto final amarillo rosado. Estandarizar el $AgNO_3$ titulante y establecer el valor del blanco de reactivo por el mismo método utilizado en este apartado.

- CÁLCULOS

$$mgCl^- = \frac{(A - B) * N * 35450}{ml(muestra)}$$

donde:

A = mL valoración para la muestra

B = mL de valoración para el blanco, y

C = normalidad de $AgNO_3$

$$mgNaCl/l = (mgCl^- / l) * 1.65$$

A4. Determinación de sulfuros

Método yodométrico (Lab. 301 del Edificio E de la Facultad de Química)

- REACTIVOS

1. Acido clorhídrico HCl 6N
2. Solución patrón de yodo, 0.0250 N: disuélvanse de 20 a 25 g KI en un poco de agua y añádanse 3.2 g de yodo. Después de la solución de yodo, dilúyase a 1000 mL y estandarícese frente a $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.0250 N utilizando solución de almidón como indicador.
3. Solución patrón de tiosulfato de sodio 0.0250 N: disuélvanse 6.205 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada.
4. Solución de acetato de zinc: disolver 220 gramos de $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ en 870 mL de agua destilada para obtener una solución de 1 litro.
5. Solución de NaOH 6N.
6. Solución de almidón: disolver 2 gramos de almidón calidad laboratorio y 0.2 gramos de ácido salicílico, como conservador en 100 mL de agua destilada caliente.

- ESTANDARIZACIÓN

Disuélvanse aprox. 2 g de KI, exento de yodato, en un Erlenmeyer con 100 a 150 mL de agua destilada. Añádase 1mL de H_2SO_4 6N o unas gotas de H_2SO_4 concentrado y 20 mL de solución patrón de biyodato.

Dilúyase a 200 mL y titúlese el yodo liberado con tiosulfato, añadiendo almidón hacia el final de la titulación, cuando se produzca un color paja pálido. Cuando las soluciones tengan igual concentración, se necesitara 20 mL de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.025 M, si no es así ajústese la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ a 0.025 M.

- PROCEDIMIENTO

1. Colocar 5 mL de muestra en un frasco Winkler con $\frac{3}{4}$ de agua destilada
2. Agregar:
1mL de HCl 6N
2 mL de $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y,
2 mL de NaOH o hasta pH igual a 9.
3. Agitar y dejar reposar por 30 minutos.
4. Tirar el sobrenadante y filtrar lo sedimentado en un papel filtro, recuperando este con un volumen aproximado de agua destilada de 100 mL en un vaso de precipitado
5. Agregar:
3 mL de HCl al 50%
5 mL de KI 0.025 N y,
1 mL de almidón.

6. Titular con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0.0250 N.

- CÁLCULO

Un mililitro de solución de yodo 0.0250 N reacciona con 0,04 mg S^{2-}

$$\text{mgS}^{2-} / L = \frac{[(A \times B) - (C \times D)] \times 16000}{\text{ml muestra}}$$

donde:

A = mL de solución de yodo

B = normalidad de la solución de yodo

C = mL de solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

D = normalidad de la solución $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

A5. Determinación de sulfatos

Método turbidimétrico (APHA, 1985) 4500-SO₄⁻²-E

- RESUMEN DEL MÉTODO

Éste es el método más conocido y se fundamenta en la precipitación de los sulfatos en medio ácido con cloruro de bario. La absorbancia de la suspensión de sulfato de bario se mide con turbidímetro o fotómetro y la concentración de sulfato se determina por comparación con una curva estándar.

- INTERFERENCIAS

La materia suspendida en exceso puede eliminarse por filtración y el color se corrige corriendo un blanco de la misma muestra sin añadir el BaCl₂. La sílice puede evitar la formación total de BaSO₄.

- MATERIAL Y EQUIPO

Balanza analítica
Capsulitas para pesar
Vaso de precipitados 150 mL
Matraces aforados 100 mL
Pipetas 5, 10, 25,50 mL
Cronómetro
“Mosca” (barra de agitación)
Espectrofotómetro

- REACTIVOS

- 1) Solución acondicionadora: mezclar 50 mL de glicerol con 30 mL de HCl conc., 300mL de agua destilada, 100 mL de etanol al 95% y 75 g NaCl
- 2) Cristales Cl₂Ba , 20-30 mallas
- 3) Solución estándar de sulfatos. Disolver 147.9 mg de NaSO₄ anhidro en un matraz aforado de 1000 mL, aforar con agua destilada. Esta solución contiene 100 mg/L de SO₄.

- PROCEDIMIENTO

- 1) Tomar una alícuota de la muestra que contenga más de 1 pero menos de 4 mg de SO₄⁼ y llevarla a un vaso de precipitados a 80 mL aproximadamente.
- 2) Adicionar 5 mL de la solución acondicionadora, 130 ± 10mg BaCl₂ y agitar durante 1 minuto a velocidad constante. Transcurrido el minuto traspasar rápida y cuantitativamente, la solución a un matraz aforado de 100 mL y llevar a la marca

con agua destilada. Homogenizar la solución e inmediatamente leer la absorbancia a 420 nm durante 4min a intervalos de 30 segundos.

- 3) Generalmente la máxima turbidez se obtiene a los 2 minutos y se mantiene constante. Del minuto 3 al 10, considerar la lectura máxima dentro de los primeros cuatro minutos.

- CURVA ESTÁNDAR

- 1) Tomar, independientemente, 0,10,20,30 y 40 mL de la solución de NaSO_4 y tratar a cada uno de acuerdo al procedimiento anterior para obtener concentraciones 0,10,20,30,40 mg/L de SO_4^{2-} .
- 2) Trazar la curva patrón de absorbancia en función de la concentración de sulfatos y determinar la concentración de las muestras por comparación con la curva. Es recomendable ajustar con el blanco cada 3 a 4 lecturas, tener especial cuidado con la cantidad de BaCl_2 pesada y en la homogenización completa de la solución.

- LÍMITE DE DETECCIÓN

Aunque algunos manuales indican 1mg/L como límite inferior y 50 o hasta 100 mg/L de SO_4^{2-} como límite superior es preferible trabajar en el intervalo de 10 a 40 mg/L ya que en este intervalo la curva presenta un comportamiento satisfactorio. Si es necesario trabajar a concentraciones menores de 10 mg/L se recomienda utilizar 128 ± 2 mg de BaCl_2 y no rebasar el límite inferior de 2.5 mg/L.

Apéndice B.

PARÁMETROS INSTRUMENTALES UTILIZADOS EN LA DETERMINACIÓN DE ELEMENTOS EN LAS VINAZAS UTILIZADAS

Tabla B1. Parámetros de análisis para determinar elementos en las vinazas

COBRE	
Longitud de onda (nm)	324.8
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.5
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno

NIQUEL	
Longitud de onda (nm)	232.0
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.2
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama acetileno/óxido nitroso

COBALTO	
Longitud de onda (nm)	240.7
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.2
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno

MANGANESO	
Longitud de onda (nm)	279.5
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.2
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno

HIERRO	
Longitud de onda (nm)	248.3
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.2
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno

ZINC	
Longitud de onda (nm)	213.9
Ancho de ventana (Slit) (nm)	1.0
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno

Equipo empleado Varian SpectrAA 220

Para el análisis de cobre, cobalto, níquel, manganeso, hierro, zinc y plomo se emplea el aditamento denominado SIPS (Simple Introduction Pump System)

Arsénico es analizado empleando el sistema VGA (Generador de hidruros)

Plomo y aluminio, fue necesario concentrar a 10 mL para poder realizar el análisis empleando el sistema de atomización con flama. Esto en virtud que el horno de grafito, en este momento se encuentra fuera de operación.

ARSENICO	
Longitud de onda (nm)	193.7
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.5
Método	curva de calibración
Método atomización	Generados de hidruros, Flama

CALCIO	
Longitud de onda (nm)	422.7
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.5
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama N ₂ O/acetileno
Supresor de ionización	KCl

SODIO	
Longitud de onda (nm)	589.0
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.5
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno
Supresor de ionización	KCl

POTASIO	
Longitud de onda (nm)	766.5
Ancho de ventana (Slit) (nm)	1.0
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno
Supresor de ionización	CsCl

MAGNESIO	
Longitud de onda (nm)	282.5
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.5
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno
Supresor de ionización	La ₂ O ₃

PLOMO	
Longitud de onda (nm)	217.0
Ancho de ventana (Slit) (nm)	1.0
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama aire/acetileno

ALUMINIO	
Longitud de onda (nm)	309.0
Ancho de ventana (Slit) (nm)	0.5
Método	curva de calibración
Método atomización	Flama N ₂ O/acetileno
Supresor de ionización	KCl

Apéndice C.
ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA

C1. Medio de cultivo y soluciones anaerobias

- MEDIO DE CULTIVO (1 litro)
 - Solución mineral 1 50 mL
 - Solución mineral 2 (Balch con cloruros) 50 mL
 - Solución de oligoelementos sin sulfatos 10 mL
 - Solución de vitaminas de Balch 10 mL
 - Solución de resarzurina (0.1%) 1.0 mL
 - Extracto de levadura 1.0 g
 - Bio-tripcase (peptona trípica de caseína) 1.0 g
 - NaHCO₃ 3.0g
 - Solución de FeSO₄.7H₂O 1 mL
 - Solución de NiCl₂ (5 mg/100 mL) 10 mL
 - Cisteína 0.5g

- PREPARACIÓN DE SOLUCIONES
 - Solución mineral 1
 - K₂HPO₄ 6.0g
 Disolver completamente en agua destilada y aforar a 1 L

 - Solución mineral 2 Balch (sin sulfatos*)
 - K₂HPO₄ 6.0g
 - NH₄Cl 2.4g
 - MgCl₂.6H₂O 2.1g
 - CaCl₂.2H₂O 0.16g
 - NaCl 12g

Diluir en 1 litro de agua destilada, preparar en anaerobiosis, almacenar en refrigeración a 4°C *para evitar inhibición por bacterias sulfatorreductoras

 - Solución de oligoelementos (sin sulfatos*)
 - Ácido nitrilotriacético** 1.5g
 - MgCl₂.6H₂O 2.5g
 - MnCl₂.4H₂O 0.6g
 - NaCl 1.0g
 - FeCl₂.4H₂O 0.1g

- | | |
|--|-------|
| • $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 0.1g |
| • $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.1g |
| • ZnCl_2 | 0.1g |
| • $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.01g |
| • AlCl_3 | 0.01g |
| • H_3BO_3 | 0.01g |
| • $\text{NaMoO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 0.01g |

*para evitar inhibición por bacterias sulfatorreductoras

** Se disuelven 1.5 g de ácido nitrilotriacético con KOH 10 N o 1 N hasta pH 6.5

La solución se prepara en anaerobiosis. Después de adicionar todo, ajustar el pH a 7.0 con KOH 1N, almacenar en refrigeración a 4°C.

➤ Solución de resazurina (0.1%), volumen 50 mL:

- | | |
|---|-------|
| • Resazurina | 0.05g |
| Se disuelven en 50 mL de agua destilada | |

Almacenar a temperatura ambiente, proteger de la luz con papel aluminio.

➤ Solución diluida de vitaminas de Balch, volumen de 1 Litro

- | | |
|----------------------------------|--------|
| • Resazurina | 0.05g |
| • Biotina (Vitamina H) | 2mg |
| • Ácido p-aminobenzoico (PABA) | 5mg |
| • Cianocobalamina (Vitamina B12) | 1.0mg |
| • Tiamina HCl (Vitamina B1) | 5.0mg |
| • D.L. Pantotenato de Ca | 5.0mg |
| • Ácido nicotínico | 5.0mg |
| • Piridoxina-HCl (Vitamina B6) | 10.0mg |
| • Ácido fólico | 2.0mg |
| • Riboflavina (Vitamina B2) | 5.0mg |
| • Ácido lipoico (Tioico) | 5.0mg |

Apéndice C.
ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA

C2. Procedimiento de preparación de medios de cultivo



- a) Calcular el volumen aproximado de medio que se requiere, de acuerdo con el número de botellas que se trabajarán, teniendo en cuenta lo siguiente:
 - Cada botella debe tener 16 mL de medio de cultivo.
 - Se recomienda trabajar por duplicado para cada tipo de ácido (acético, propiónico y/o butírico).
 - Se debe hacer por lo menos un testigo.
 - Es conveniente preparar al menos tres botellas en exceso
- b) Calcular los volúmenes y pesos necesarios de cada reactivo y solución a utilizar para cada medio.
- c) Mezclar los reactivos y soluciones, excepto la cisteína en un matraz Erlenmeyer de capacidad adecuada para el volumen de medio a preparar, se recomienda:
 - Para volúmenes entre 400 y 600 mL utilizar un matraz de 1000 mL
 - Para volúmenes entre 150 y 350 mL utilizar un matraz de 500 mL
 - Poco común será la preparación de volúmenes menores a 100 mL, en este caso utilizar un matraz de 250 mL
- d) Agregar agua destilada en un exceso de aproximadamente un tercio de volumen a preparar, disolver, y mezclar perfectamente, el medio presentará una coloración de violeta ligero a rosa intenso.
- e) Colocar a ebullición el medio en una parrilla caliente, en la zona donde está el distribuidor (“manifold”), se debe introducir una de las jeringa sin aguja y dejarla por encima del nivel del líquido, para esto:
 - Cubrir la boca del matraz y la jeringa del “manifold” con papel aluminio: confeccionar un embudo que permita mover la jeringa del “manifold” para así favorecer la reducción del medio sin que éste proyecte fuera del matraz.
- f) Al empezar la ebullición del medio, se debe iniciar el burbujeo con N₂:
 - Revisar que la llave de paso del tanque se encuentre cerrada.
 - Abrir la llave general del tanque
 - Encender el controlador del “manifold”

-
- Abrir lentamente la llave de paso, sumergir la manguera en el medio, permitir un burbujeo intenso, pero sin que se presenten proyecciones al medio.
 - g) Cuando el líquido alcance el volumen deseado, normalmente tendrá un color rosa muy pálido o amarillo paja, de no ser así, agregar más agua destilada y permitir que se siga reduciendo.
 - h) Permitir el enfriamiento con la corriente de nitrógeno.
 - i) Cuando el medio se encuentre tibio agregar la cisteína. Tapar adecuadamente y dejar una orilla libre que permita su manipulación al interior de la cámara anaerobia.
 - j) Colocar el medio de cultivo en la precámara, junto con los viales, septos de hules, aros de aluminio y el dosificador.
 - k) Realizar los cambios de atmósfera en la precámara e introducir el material en la cámara.
 - l) Llenar los viales con el dosificador y tapar el septo y aro de aluminio en cada uno de ellos.
 - m) Sacar los viales con el medio y el resto del material de la cámara.
 - n) Cambiar la atmósfera de las botellas durante tres minutos para cada una:
 - Emplear la mezcla $N_2 - CO_2$ (80-20 %)
 - Colocar una aguja que permita la evacuación el gas.
 - o) Esterilizar en autoclave durante 15 minutos con una presión de 202 kPa (15 psig) y a $120^\circ C$
 - p) Permitir que se enfríen las botellas y medir el pH a una de ellas, éste debe estar en un intervalo de 6 a 7, de no ser así, normalmente ocurre que es mayor, entonces es necesario colocar a enfriar los viales en un baño maría y cambiar atmósferas con la mezcla de $N_2 - CO_2$ (80-20 %) durante cinco minutos.

Apéndice C.
ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA

C3. Procedimiento de inoculación

- a) Colocar el lodo bajo una presión de 101.3 kPa (15 psia) 24 horas antes de la inoculación.
- b) Determinar previamente la concentración de sólidos suspendidos volátiles SSV del lodo anaerobio.
- c) Determinar la cantidad de sustrato , para esto se deben hacer los siguientes cálculos:
 - Conociendo la concentración de SSV realizar las siguientes operaciones:
$$M \text{ DQO (mg)} = (\text{carga orgánica, mgDQO/mgSSV}) (\text{Vol del lodo, mL})$$

(Concentración de lodo, mg SSV/mL) donde M DQO son los gramos del sustrato por adicionar
Se recomienda una carga de 0.4 mgDQO/mgSSV para la actividad con ácido acético y de 0.2 para la actividad con ácidos propiónico y butírico.
- d) Introducir todo el material a la cámara anaerobia, no olvidar etiquetar los viales.
- e) Destapar los viales y adicionar 0.4 mL de sulfuro de sodio a cada uno de ellos.
- f) Colocar 4 mL de lodo en cada uno de los viales, tomando una muestra homogénea del lodo
- g) Tapar los viales utilizados como testigo
- h) Purgar de 2 a 3 veces la jeringa antes de tomar el sustrato, inyectar el gas a la botella de sustrato y tomar el mismo volumen del líquido.
- i) Adicionar la cantidad de sustrato calculada a cada uno de los viales utilizados en la prueba.
- j) Sacar el material de la cámara anaerobia, registrando fecha y hora de inoculación.
- k) Incubar las botellas a 35 – 37 °C (En caso de pruebas de biodegradación a la temperatura deseada)
- l) Una hora después de inocular, tomar con una jeringa una primera muestra de biogás y determinar por cromatografía de gases si hubo producción de metano.
- m) Hacer un seguimiento constante de la producción de metano para cada vial, se recomienda:
 - para un lodo que en la primera hora o tres horas, el pico de metano se puede interpolar en la curva, inyectar cada hora o cada dos horas.
 - para un lodo cuyo pico de metano se puede interpolar hasta las cinco u ocho horas inyectar dos o tres veces en el día.
 - para un lodo cuyo pico de metano se puede interpolar hasta las 12 o 24 horas entonces inyectar una vez al día.

Apéndice D.

OBTENCIÓN DE LA RAPIDEZ DE REACCIÓN DE LA METANOGENÉISIS PARA LAS TEMPERATURAS DE 45,55 Y 65°C A NIVEL DE VIALES EN EL TRATAMIENTO ANAEROBIO DE VINAZAS

D1. Modelo de ajuste de datos por mínimos cuadrados no lineales

La ecuación de la cual se partió es del tipo exponencial, la cual no permite una solución por mínimos cuadrados de sustitución, entonces se procede utilizando la solución por mínimos cuadrados no lineales, utilizando las bases matemáticas presentadas en cualquier libro de análisis estadísticos para experimentos y desarrollados en esta investigación.

$$CH_4(t) = CH_{4,MAX} [1 - \exp(-K_{CH_4} * t)]$$

$$CH_4(t) = CH_{4,máx} - CH_{4,max} * \exp(-K_{CH_4} * t)$$

Para comodidad en su manejo cambiaremos los componentes de la ecuación por letras:

$$Y(t) = A - A * e^{-BX} \quad (D1)$$

$$Dif^2 = (A - Ae^{-BX} - Y)^2 \quad (D2)$$

$$\sum Dif_j^2 = (A - Ae^{-BX} - Y_j)^2 = \text{mínimos_cuadrados} \quad (D3)$$

$$\frac{\partial \sum dif_j^2}{\partial A} = \sum_1^m 2(A - Ae^{-BX_j} - Y_j)(1 - e^{-BX_j}) = 0 \quad (D4)$$

$$\frac{\partial \sum dif_j^2}{\partial B} = \sum_1^m 2(A - Ae^{-BX_j} - Y_j)(Ae^{-BX_j} X_j) = 0 \quad (D5)$$

A partir de D4, se resuelven las operaciones y se divide en 2:

$$\frac{\partial \sum dif_j^2}{\partial A} = \sum_1^m (A - Ae^{-BX_j} - Y_j - Ae^{-BX_j} + Ae^{-2BX_j} + e^{-BX_j} Y_j) = 0 \quad (D6)$$

$$\frac{\partial \sum dif_j^2}{\partial A} = \sum_1^m (A - 2Ae^{-BX_j} - Ae^{-2BX_j} + Y_j + e^{-BX_j} Y_j) = 0 \quad (D7)$$

A partir de D5 y dividiendo en 2:

$$\frac{\partial \sum dif_j^2}{\partial B} = \sum_1^m \left(A^2 e^{-BX_j} X_j - Y_j - A^2 e^{-2BX_j} - A e^{-BX_j} X_j Y_j \right) = 0 \quad (D8)$$

Tomando D7 y ordenándola se obtiene:

$$mA - 2A \sum_{j=1}^m e^{-BX_j} - A \sum_{j=1}^m e^{-2BX_j} + \sum_{j=1}^m Y_j + \sum_{j=1}^m e^{-BX_j} = 0 \quad (D9)$$

Tomando D8, dividiendo en A y ordenándola se obtiene:

$$A \sum_{j=1}^m e^{-BX_j} X_j - A \sum_{j=1}^m e^{-2BX_j} X_j - \sum_{j=1}^m e^{-BX_j} X_j Y_j = 0 \quad (D10)$$

En donde D9 y D10 corresponden a los valores de residuos para las dos ecuaciones del sistema planteado, y utilizando la herramienta solver de Excel con la tabulación de los datos obtenidos del seguimiento en las pruebas de actividad metanogénica se obtiene el valor de la constante de velocidad media para cada una de las temperaturas y presentada en el cuadro superior de las tablas a continuación como K_H .

Apéndice D.

OBTENCIÓN DE LA RAPIDEZ DE REACCIÓN DE LA METANOGÉNESIS PARA LAS TEMPERATURAS DE 45,55 Y 65°C A NIVEL DE VIALES EN EL TRATAMIENTO ANAEROBIO DE VINAZAS

D2. Obtención de K_H utilizando la herramienta Solver de excel

Tabla D2.1. Obtención de K_H por “solver” para la temperatura de 45°C

K_H	0.0338
CH_4_{max}	49.48
m	12

m	t	CH ₄ (mL)	EXP(-BX)	EXP(-2BX)	EXP(-BX)*Y	EXP(-BX)*X	EXP(-2BX)*X	EXP(-BX)*XY
1	7.1	4.28	0.8	0.6	3.4	5.6	4.4	23.9
2	7.9	6.27	0.8	0.6	4.8	6.1	4.6	38.1
3	10.0	11.2	0.7	0.5	8.0	7.1	5.1	80.0
4	13.0	12.8	0.6	0.4	8.3	8.4	5.4	107.4
5	14.0	17.2	0.6	0.4	10.7	8.7	5.4	150.3
6	14.9	18.3	0.6	0.4	11.1	9.0	5.4	164.6
7	15.9	26.6	0.6	0.3	15.5	9.3	5.4	246.9
8	17.0	21.7	0.6	0.3	12.2	9.6	5.4	207.4
9	17.9	23.6	0.5	0.3	12.9	9.8	5.3	230.0
10	20.0	37.6	0.5	0.3	19.1	10.2	5.2	381.6
11	21.0	24.5	0.5	0.2	12.0	10.3	5.1	252.6
12	22.0	22.0	0.5	0.2	10.4	10.4	5.0	229.6
suma =	180.7	226.0	7.3	4.6	128.4	104.4	61.7	2112.5

R1	3.15E-09	R2	1.02E-08
----	----------	----	----------

Fuente: Esta investigación

Tabla D2.2. Obtención de K_H por “solver” para la temperatura de 55°C

K_H	0.0442
CH_4_{max}	33.19
m	12

m	X	Y	EXP(-BX)	EXP(-2BX)	EXP(-BX)*Y	EXP(-BX)*X	EXP(-2BX)*X	EXP(-BX)*XY
1	7.1	3.6	0.7	0.5	2.7	5.2	3.8	18.9
2	7.4	4.9	0.7	0.5	3.5	5.3	3.8	26.0
3	7.9	5.3	0.7	0.5	3.8	5.6	3.9	29.9
4	8.4	5.9	0.7	0.5	4.1	5.8	4.0	34.1
5	9.0	6.6	0.7	0.5	4.4	6.0	4.1	39.9
6	10.0	9.0	0.6	0.4	5.8	6.4	4.1	57.8
7	10.4	11.4	0.6	0.4	7.2	6.6	4.1	74.9
8	13.0	11.6	0.6	0.3	6.5	7.3	4.1	84.7
9	14.0	16.2	0.5	0.3	8.7	7.5	4.1	122.5
10	15.9	20.6	0.5	0.2	10.2	7.9	3.9	162.2
11	17.9	24.9	0.5	0.2	11.3	8.1	3.7	202.1
12	22.0	30.2	0.4	0.1	11.4	8.3	3.1	251.0
suma =	142.9	150.4	7.2	4.5	79.7	80.0	46.8	1104.0

R1	1.21E-07	R2	3.82E-07
----	----------	----	----------

Fuente: Esta investigación

Tabla D2.3. Obtención de K_H por “solver” para la temperatura de 65°C

K_H	0.0593
$CH4_{max}$	6.27
m	12

m	X	Y	EXP(-BX)	EXP(-2BX)	EXP(-BX)*Y	EXP(-BX)*X	EXP(-2BX)*X	EXP(-BX)*XY
1	0.0	-2.96	1.0	1.0	-3.0	0.0	0.0	0.0
2	3.8	-2.07	0.8	0.6	-1.7	3.0	2.4	-6.3
3	4.8	-1.85	0.8	0.6	-1.4	3.6	2.7	-6.7
4	6.8	-1.38	0.7	0.4	-0.9	4.5	3.0	-6.3
5	9.8	-0.49	0.6	0.3	-0.3	5.5	3.1	-2.7
6	12.8	-0.08	0.5	0.2	0.0	6.0	2.8	-0.5
7	13.8	1.32	0.4	0.2	0.6	6.1	2.7	8.0
8	14.8	3.05	0.4	0.2	1.3	6.2	2.6	18.7
9	15.8	4.82	0.4	0.2	1.9	6.2	2.4	29.9
10	16.8	6.72	0.4	0.1	2.5	6.2	2.3	41.7
11	17.8	9.32	0.3	0.1	3.2	6.2	2.2	57.7
12	18.8	10.30	0.3	0.1	3.4	6.2	2.0	63.5

suma =	135.7	26.7	6.5	4.1	5.6	59.6	28.2	197.2
--------	-------	------	-----	-----	-----	------	------	-------

R1	2.21E-08	R2	-8.56E-08
----	----------	----	-----------

Fuente: Esta investigación

Apéndice E.

TABLAS DE CÁLCULOS PARA LA OBTENCIÓN DE LAS CONSTANTES CINÉTICAS K_s Y k

Tabla E1. Datos del cálculo cinético de K_s y k para R_1 (45°C)

	lectura 1	lectura 2	lectura 3	promedio	mgDQO/L (dil)	mgDQO/L	gDQO/L	%	θ
vinazas D0t	0.13	0.141	0.122	0.131	443.00	55375	55		
vinazas D0s	0.111	0.115	0.137	0.121	409.67	51208	51		0
vinazas D4	0.093	0.098	0.098	0.096	327.07	40884	41	20.2	4
vinazas D8	0.091	0.074	0.077	0.081	274.67	34333	34	33.0	8
vinazas D12	0.066	0.069	0.074	0.070	238.00	29750	30	41.9	12
vinazas D16	0.056	0.057	0.051	0.055	189.30	23662	24	53.8	16
vinazas D20	0.048	0.05	0.046	0.048	166.33	20792	21	59.4	20

	SSVA	SSVB	SSVC	promedio
lodo D0	ND	95575	100000	98
lodo D4	91933	92314	86886	90
lodo D8	105067	83920	90920	93
lodo D12	103633	86657	85143	92
lodo D16	91200	97200	ND	94
lodo D20	88520	106640	100640	99

X θ	So-S	X θ /(So-S)	1/S
362	10	35.02	2.4E-02
746	17	44.23	2.9E-02
1102	21	51.34	3.4E-02
1507	28	54.72	4.2E-02
1972	30	64.83	4.8E-02

m =	1129.3
b =	9.9238
Entonces	
k =	0.101
ks =	113.80

Fuente: Esta investigación

Tabla E2. Datos del cálculo cinético de K_s y k para R_2 (55°C)

	lectura 1	lectura 2	lectura 3	promedio	mgO2/L (dil)	mgO2/L		%	θ
vinazas D0t	0.13	0.141	0.122	0.131	443.00	55375			
vinazas D0	0.111	0.115	0.137	0.121	409.67	51208	51		0
vinazas D4	0.095	0.090	0.099	0.095	321.89	40236	40	21.4	4
vinazas D8	0.079	0.076	0.087	0.081	274.67	34333	34	33.0	8
vinazas D12	0.066	0.065	0.055	0.062	213.00	26625	27	48.0	12
vinazas D16	0.05	0.051	0.054	0.052	178.56	22319	22	56.4	16
vinazas D20	0.045	0.049	0.049	0.048	165.22	20653	21	59.7	20

	SSVA	SSVB	SSVC	promedio
lodo D0		92640	95400	94020
lodo D4	90300	93267	88533	90700
lodo D8	77150	84040	64875	75355
lodo D12	82320	89720	90240	87427
lodo D16	ND	81960	96480	89220
lodo D20	87000	ND	75720	81360

X θ	S0-S	X θ /So-S	1/S
362.8	11	33.1	2.5E-02
602.84	17	35.7	2.9E-02
1049.12	25	42.7	3.8E-02
1427.52	29	49.4	4.5E-02
1627.2	31	53.3	4.8E-02

m =	859.76
b =	11.056
Entonces	
k =	0.090
ks =	77.8

Fuente: Esta investigación

Tabla E3. Datos del cálculo cinético de K_s y k para R_3 (65°C)

	lectura 1	lectura 2	lectura 3	promedio	mgO ₂ /L (dil)	mgO ₂ /L		%	θ
vinazas D0t		0.115	0.125	0.120	423.67	52958			
vinazas D0		0.105	0.115	0.110	390.33	48792	49		0
vinazas D4	0.094	0.105	0.081	0.094	335.52	41940	42	14.0	4
vinazas D8	0.089	0.082	0.074	0.082	295.52	36940	37	24.3	8
vinazas D12	0.073	0.077	0.067	0.072	264.22	33028	33	32.3	12
vinazas D16		0.064	0.058	0.061	225.61	28201	28	42.2	16
vinazas D20	0.059	0.048		0.054	202.00	25250	25	48.2	20

	SSVA	SSVB	SSVC	promedio
lodo D0		76400		76400
lodo D4	72280	71480	78657	74139
lodo D8	76240	75160	76286	75895
lodo D12	74967	67160	82240	74789
lodo D16	84950	60750	81920	75873
lodo D20	71700	79800	66120	72540

X θ	S ₀ -S	X θ /S ₀ -S	1/S
296.6	7	43.3	2.4E-02
607.2	12	51.2	2.7E-02
897.5	16	56.9	3.0E-02
1214.0	21	59.0	3.5E-02
1450.8	24	61.6	4.0E-02

m =	1074.2
b =	20.83

Entonces	
k =	0.048
k _s =	51.6

Fuente: Esta investigación

Apéndice F.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

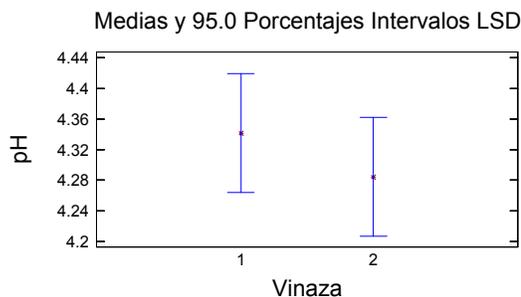
F1. análisis estadístico de los resultados de los principales parámetros de caracterización de las vinazas empleadas en esta investigación

A continuación se presenta los valores obtenidos en las repeticiones hechas para los parámetros de caracterización de las vinazas, y a la vez se realiza una comparación de los parámetros para los dos lotes de vinazas empleados.

Tabla F1. Determinación del valor de pH para los lotes de vinazas empleados

vinaza 1		vinaza 2	
Repetición	pH	Repetición	pH
1	4.306	1	4.111
2	4.363	2	4.278
3	4.351	3	4.390
4	4.345	4	4.357
promedio	4.341	promedio	4.284
DS	0.025	DS	0.125

Fuente: Esta investigación



Fuente: Esta investigación

Figura F.1. Gráfico de medias para el valor de pH de los dos lotes de vinazas empleados

Tabla F2. Contraste múltiple de rango para pH según vinaza

Contraste Múltiple de Rango para pH según vinaza				
Método: 95.0 porcentaje LSD				
Vinaza	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos	
2	4	4.28	X	
1	4	4.34	X	
Contraste			Diferencias	+/- Límites
1 - 2			0.057	0.1553
* indica una diferencia significativa				

Fuente: Esta investigación

En el análisis de varianza, “andeva” (ANOVA, en inglés), puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las pH medias de un nivel de vinaza a otro para un 95.0%.

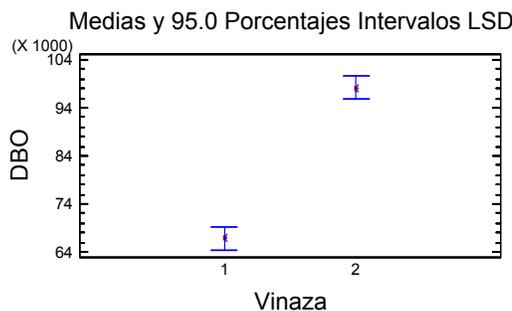
La Tabla F3 presenta los valores obtenidos en la determinación de DBO, es importante notar que la vinaza 2 presenta un valor más alto de DBO que la vinaza 1.

Tabla F3. Determinación de DBO para los lotes de vinazas empleados

vinaza 1		vinaza 2	
Repetición	DBO	Repetición	DBO
1	66000	1	99000
2	65400	2	99000
3	67500	3	93000
4	68400	4	102000
promedio	66825	promedio	98250
DS	1372	DS	3775

Fuente: Esta investigación

A diferencia del gráfico de medias para el valor de pH, se puede observar la diferencia presentada por los dos lotes de vinazas para el valor de DBO (Figura F.2).



Fuente: Esta investigación

Figura F.2 Gráfico de medias para el valor de DBO de los dos lotes de vinazas empleados

Tabla F4. Contraste múltiple de rango para DBO según vinaza

Contraste Múltiple de Rango para DBO según vinaza				
Método: 95.0 porcentaje LSD				
Vinaza	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos	
1	4	66825	X	
2	4	98250		X
Contraste			Diferencias	+/- Límites
1 - 2			*31425	4914.06
* indica una diferencia significativa				

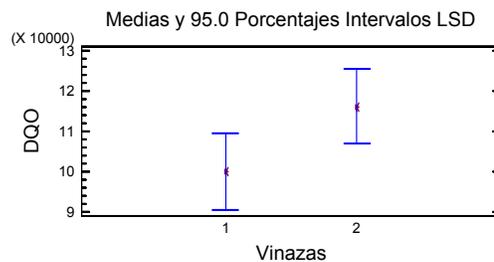
Fuente: Esta investigación

De la tabla análisis de varianza, “andeva” (ANOVA, en inglés), puesto que el valor p del test F es inferior a 0.05 hay diferencia estadísticamente significativa entre las DBO medias de un nivel a otro de vinaza para un nivel de significancia del 95%.

Tabla F5. Determinación de DQO para los lotes de vinazas empleados

vinaza 1		vinaza 2	
Repetición	DQO	Repetición	DQO
1	95263	1	112500
2	101875	2	128750
3	102500	3	107500
promedio	99879	promedio	116250
DS	4010	DS	11110

Fuente: Esta investigación



Fuente: Esta investigación

Figura F.3 Gráfico de medias para el valor de DQO de los dos lotes de vinazas empleados

De la Figura F3 se puede decir que hay una ligera similitud entre los valores de DQO de las dos vinazas. Se procede a realizar un contraste múltiple de rango y de esta forma aclarar la presencia de grupos homogéneos o no.

Tabla F6. Contraste múltiple de rango para DQO según vinaza

Contraste Múltiple de Rango para DQO según vinaza				
Método: 95.0 porcentaje LSD				
Vinaza	Frecuencia	Media	Grupos Homogéneos	
1	3	99879	X	
2	3	116250	X	
Contraste			Diferencias	+/- Límites
1 - 2			- 16370	18934.1
* indica una diferencia significativa				

Fuente: Esta investigación

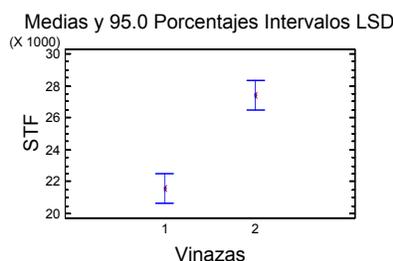
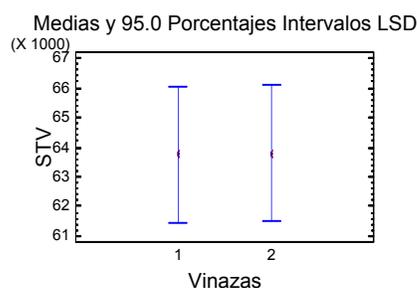
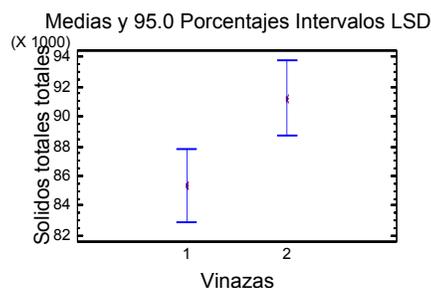
No hay diferencias significativas entre ningún par de medias a un nivel de confianza del 95.0%.

En la Tabla F7 se presenta un resumen de los principales valores de sólidos obtenidos en este caso para los sólidos totales (STT), sólidos totales volátiles (STV) y sólidos totales fijos (STF).

Tabla F7. Valores de sólidos obtenidos para las vinazas empleadas

vinaza 1				vinaza 2			
Repetición	STT (mg/L)	STV (mg/L)	STF (mg/L)	Repetición	STT (mg/L)	STV (mg/L)	STF (mg/L)
1	85351	64010	21341	1	95090	68510	26580
2	85560	63870	21690	2	87070	59790	27280
3	85510	63940	21570	3	94260	64620	29640
4	84940	63160	21780	4	88490	62250	26240
promedio	85340	63745	21595	promedio	91227	63792	27435
DS	281	394	190	DS	4037	3712	1532

Fuente: Esta investigación



Fuente: Esta investigación

Figura F.4 Gráfico de medias para el valor de sólidos de los dos lotes de vinazas empleados

Tabla F8. Contraste múltiple de rango para sólidos según vinaza

Contraste Múltiple de Rango para sólidos según vinaza							
Método: 95.0 porcentaje LSD							
Vinaza	Frecuencia	Grupos Homogéneos (STT)		Grupos Homogéneos (STV)		Grupos Homogéneos (STF)	
1	4	X		X		X	
2	4		X	X			X
Contraste		*				*	

* indica una diferencia significativa

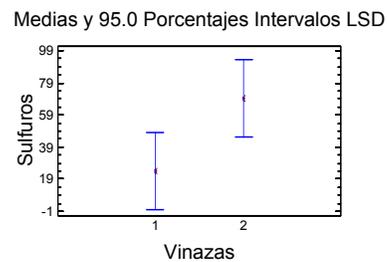
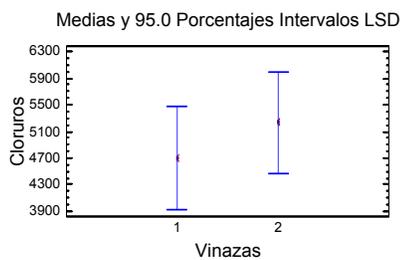
Fuente: Esta investigación

Puesto que el valor p del test F es inferior a 0.05 hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los STT para un nivel de confianza del 95%. De la misma forma para STV el valor de p del test F es mayor a 0.05 y por lo tanto no hay diferencias significativas. Para STF con un nivel de confianza del 95% existe diferencia significativa en las medias de los datos obtenidos. A continuación se presentan los resultados para las pruebas de cloruros y sulfuros.

Tabla F9. Valores de cloruros y sulfuros obtenidos para las vinazas empleadas

Cloruros (mg Cl/L)			Sulfuros (mg S ² /L)		
Repetición	vinaza 1	vinaza 2	Repetición	vinaza 1	vinaza 2
1	4998	6098	1	40	80
2	4898	4399	2	24	88
3	4199	5198	3	8	40
promedio	4699	5232	promedio	24	69
DS	436	850	DS	16	26

Fuente: Esta investigación



Fuente: Esta investigación

Figura F5 Gráfico de medias para el valor de cloruros y sulfuros de los dos lotes de vinazas empleados

Tabla F10. Contraste múltiple de rango para cloruros y sulfuros según vinaza

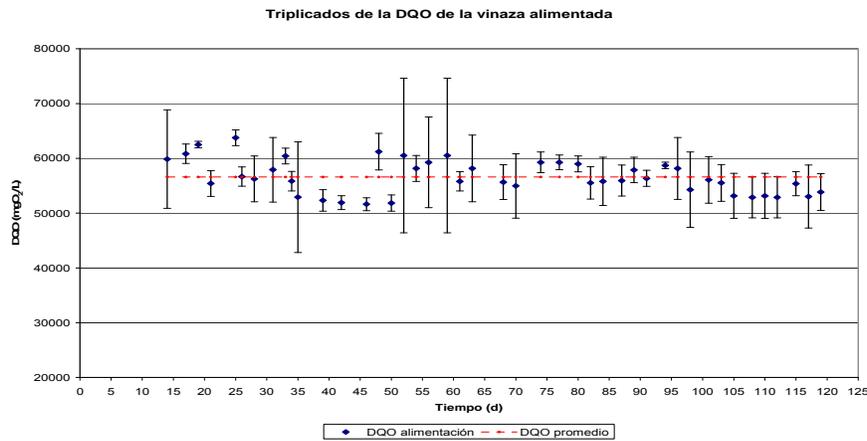
Contraste Múltiple de Rango para cloruros y sulfuros según vinaza					
Método: 95.0 porcentaje LSD					
Vinaza	Frecuencia	Grupos Homogéneos cloruros		Grupos Homogéneos sulfuros	
1	3	X		X	
2	3	X		X	
Contraste					
* indica una diferencia significativa					

Fuente: Esta investigación

Puesto que el valor p del test F es mayor a 0.05 no hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los cloruros para un nivel de confianza del 95%. Y, para los sulfuros, el valor de p es mayor a 0.05; por lo tanto, no diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los cloruros para un nivel de confianza del 95%.

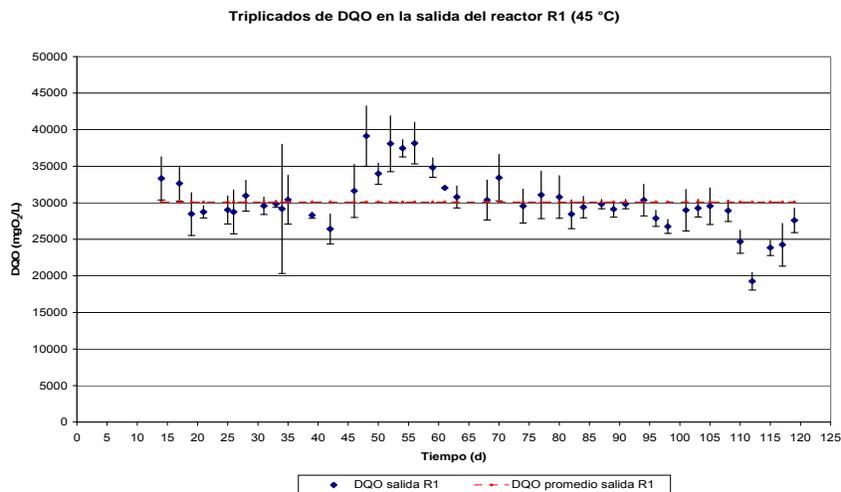
F2. Análisis gráfico estadístico de las pruebas por triplicado de los resultados de DQO en los reactores a 45, 55 y 65 °C durante el período de adaptación

Las Figuras F6, F7, F8 y F9 presentan el análisis gráfico para las mediciones del valor de DQO en la alimentación y el valor de DQO de la corrientes de salida para los reactores R1(45°C), R2 (55°C) y R3 (65°C), respectivamente.



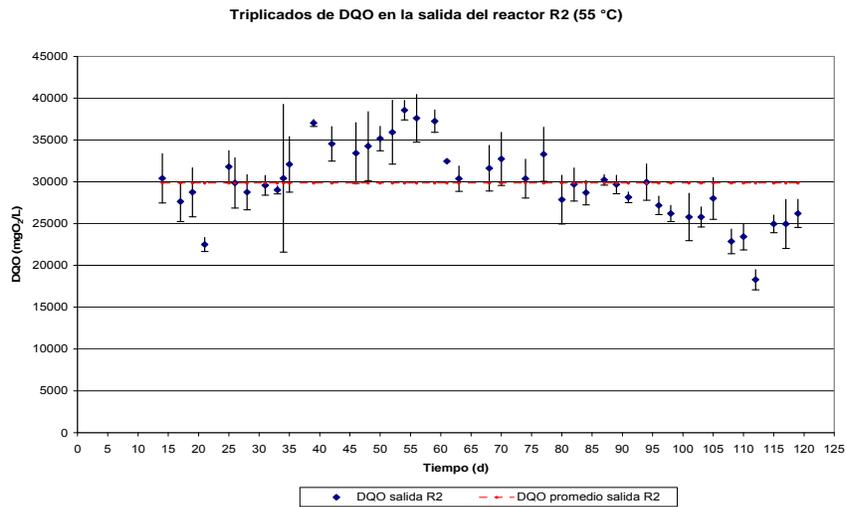
Fuente: Esta investigación

Figura F.6. Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicado para la DQO en la vinaza de alimentación



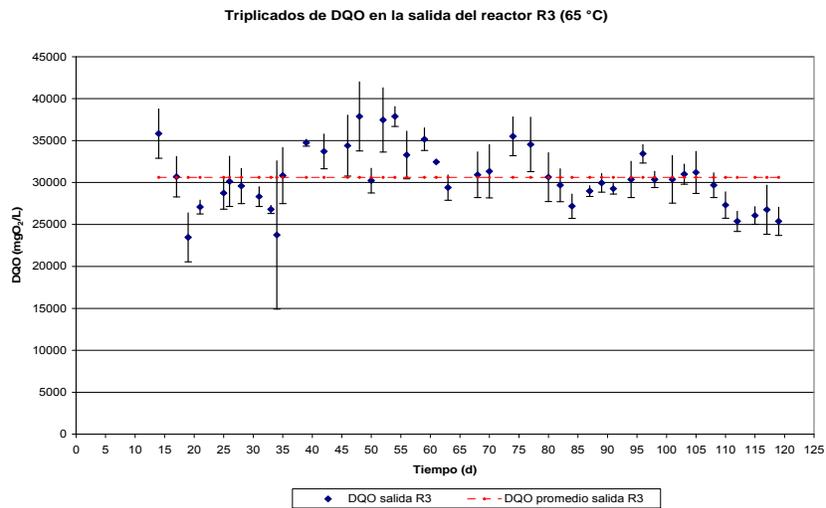
Fuente: Esta investigación

Figura F.7. Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicado para la DQO en la corriente de salida de R1(45°C)



Fuente: Esta investigación

Figura F.8. Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicado para la DQO en la corriente de salida de R2(55°C)

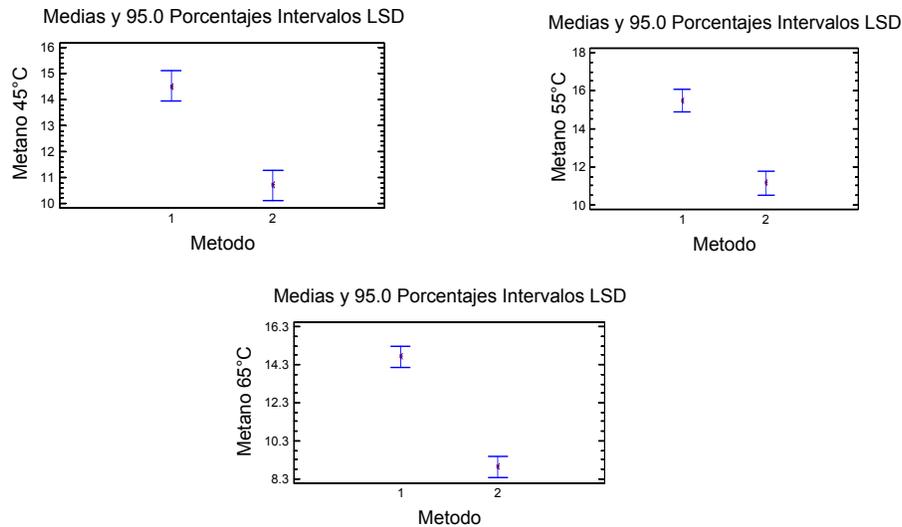


Fuente: Esta investigación

Figura F.9. Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicado para la DQO en la corriente de salida de R3(65°C)

F3. Análisis gráfico estadístico de los resultados obtenidos para la medición del metano producido en el sistema Mariotte y el valor teórico calculado a partir de la DQO removida

Para este análisis se emplearon los valores correspondientes al intervalo de 75 a 115 días presentados en el las Tablas 4.12, 4.13 y 4.14 del capítulo 4. El método 1 corresponde al valor teórico y el 2 al medido experimentalmente.

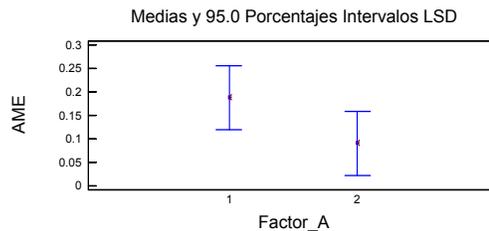


Fuente: Esta investigación

Figura F.10 Gráfico de medias para el valor de producción de metano teórico y medido experimentalmente por el sistema Mariotte

Puesto que el valor p del test F es inferior a 0.05 hay diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los valores obtenidos de metano por los dos métodos para un nivel de confianza del 95% en los reactores de 45, 55 y 65°C.

F4. Análisis estadístico de los resultados obtenidos para la medición de AME con dos sustratos diferentes (Vinazas y ácido acético)



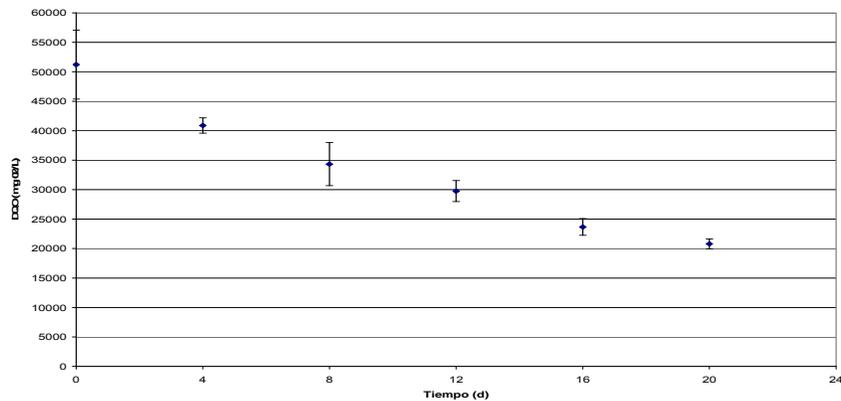
Fuente: Esta investigación

Figura F.11 Gráfico de medias para el valor de p de AME con dos sustratos diferentes (vinazas y ácido acético)

La relación F (F-ratio, en inglés), que en este caso es igual a 3.87805, es el cociente de la estimación entre grupos y la estimación dentro de los grupos. Puesto que el p-valor del test F es superior o igual a 0.05, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las AME medias de un nivel de Factor-sustrato a otro para un 95.0%.

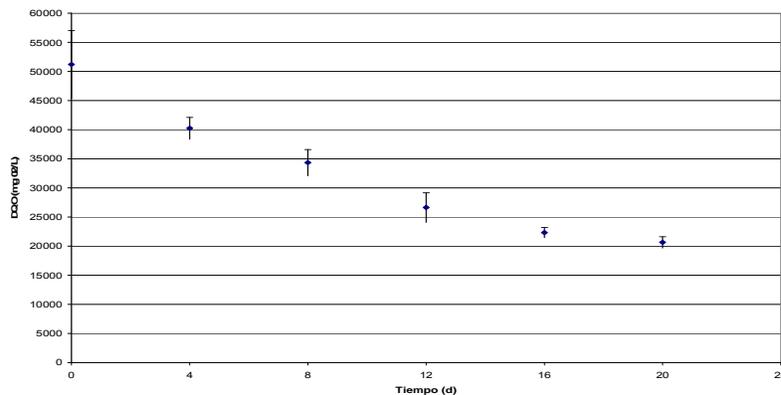
F5. Análisis gráfico estadístico de las pruebas por triplicado de los resultados de DQO en los reactores a 45, 55 y 65 °C empleados para la determinación de las constantes cinéticas.

Las Figuras F12, F13 y F14 presentan el análisis gráfico para las mediciones del valor de DQO de las determinaciones realizadas en las pruebas de biodegradabilidad de los reactores R1(45°C), R2 (55°C) y R3 (65°C), respectivamente, para la determinación de las constantes cinéticas.



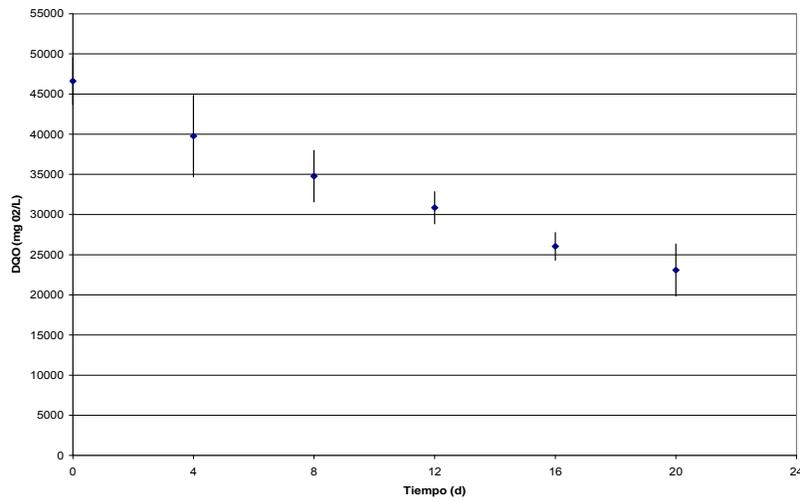
Fuente: Esta investigación

Figura F.12. Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicado para la DQO para R1 en determinación de constantes cinéticas



Fuente: Esta investigación

Figura F.13. Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicado para la DQO para R2 en determinación de constantes cinéticas



Fuente: Esta investigación

Figura F.14. Representación gráfica del análisis estadístico de las mediciones por triplicado para la DQO para R_3 en determinación de constantes cinéticas

Apéndice G.

TRATAMIENTO DE RESIDUOS PELIGROSOS GENERADOS AL REALIZAR LA PRUEBA DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

- 1) Utilizar bata de algodón, guantes de látex y lentes de protección
- 2) Colocar 1L de residuo en un vaso de precipitados de plástico de 4L
- 3) Agregar 20 mL de ácido clorhídrico 2N (hacerlo en la campana de gases)
- 4) Agitar durante 1 minuto por medio de un agitador de vidrio (hacerlo en la campana de gases)
- 5) Centrifugar el residuo a 3500 rpm, a -10°C por 5 minutos.
- 6) La fase líquida se coloca en un vaso de precipitados de plástico de 4L
- 7) La fase sólida es colocada en un frasco de plástico de exclusividad para esto.
- 8) A la fase líquida obtenida en el paso 6 se le agregan 20 g de sulfato ferroso amoniacal grado industrial y se agita durante 5 minutos por medio de un agitador de vidrio (hacerlo en la campana de gases)
- 9) Agregar hidróxido de sodio 8N, hasta obtener un $\text{pH} = 9.5$ (hacerlo en la campana de gases). Para realizar esto se debe proceder así:
 - a) Agregar 600 mL de hidróxido de sodio 8N lentamente debido a que la reacción es de tipo exotérmico.
 - b) Dejar enfriar en la campana de gases hasta alcanzar la temperatura ambiente.
 - c) Una vez frío se lleva al potenciómetro y se agrega hidróxido de sodio 8N hasta alcanzar un valor de pH de 9.5
 - d) Si por alguna razón el pH es mayor a 9.5 se debe agregar ácido sulfúrico concentrado hasta obtener el pH deseado.
 - e) Durante las adiciones de hidróxido de sodio o ácido sulfúrico se debe agitar constantemente con agitador de vidrio.
- 10) Una vez que el residuo tiene el pH deseado se centrifuga inmediatamente debido a que si se deja por mucho tiempo el residuo se cristaliza. La centrifugación se lleva a cabo a 3500 rpm, a -10°C durante 8 minutos.
- 11) El residuo líquido es colocado en un vaso de precipitados de plástico de 4L y se agrega ácido sulfúrico hasta un $\text{pH} = 7$
- 12) Una vez neutralizado, el líquido puede ser vertido por el drenaje sin ningún problema.
- 13) En una charola se coloca un plástico sobre el cual se depositará el residuo sólido.
- 14) En una parrilla de calentamiento a 75°C se coloca la charola con el residuo durante 24 horas hasta que logre sequedad total.
- 15) Una vez seco el residuo se coloca en un recipiente de almacenamiento para su reutilización por parte del fabricante.

BIBLIOGRAFÍA

Ahring, B.K., Sandberg, M., Angelidaki, I. 1995. Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied Microbiological Biotechnology*. 43(3):559-565.

Angelidaki, I., Ahring, B.K. 1994. Anaerobic thermophilic digestion of manure at different ammonia loads: Effect of temperature. *Water Research*. 28(3):727-731.

Angelidaki, I., Ellegaard, L., Ahring, B.K. 1997. Modeling anaerobic codigestion of manure with olive oil mill effluent. *Water Science and Technology*. 36(6-7):263-269.

APHA. 1985. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 16a Ed. American Public Health Association. Washington, DC, EEUUA.

Baetens, D., Vanrolleghem, P.A., Van Loosdrecht, M., Hosten, L. 1999. Temperature effects in bio-P removal. *Water Science and Technology*. 39(1):215-255.

Bautista-Zúñiga, F. 2000. Efecto de la aplicación de vinazas crudas y modificadas por microorganismos anaerobios y aerobios sobre las propiedades químicas de los suelos del municipio Miguel Alemán del Estado de Veracruz. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias. División de Estudios de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. México.

Bautista-Zúñiga, F., Durán-de-Bazúa, C. 1998. Análisis del beneficio y riesgo potenciales de la aplicación al suelo de vinazas crudas y tratadas biológicamente. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 14(1):13-19

Bailey, J.E., Ollis, D.F. 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*. McGraw-Hill Intl. Eds. Pp. 831-838, 847-853. Singapur.

Bryant, M., Tzeng, S., Robinson, M., and Joyner, A. 1971. Nutrient requirements of methanogenic bacteria. En: *Anaerobic biological treatment process (Advances in Chemistry Series 105)*. Pp. 23-40. American Chemical Society, Washington, D.C. EEUU.

Burgos, C. 1999. *Biorreactores*. Versión 2.0.0. Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. Colombia.

Cabirol, N., Fernández J., Mendoza, L., Noyola, A. 2003. Acclimation of mesophilic anaerobic sludge to thermophilic conditions: PCR genera detection methodology. *Water Science and Technology*. 48(6):81-86

Campos, P. A. 2001. Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria agroalimentaria. Tesis Doctoral. Facultad de Agronomía. Universidad de Lleida, España.

Casanova, D. M. 2005. Evaluación del impacto del protocolo de azúcar CE – ACP. Tesis doctoral. Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales. Universidad de Barcelona, España. http://www.tdx.cesca.es/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0407105-122429/

Castro-González, A. 2004. Efecto de la temperatura en la actividad metanogénica y sulfato-reductora de consorcios microbianos en condiciones anaerobias. Tesis doctoral. Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

Castro-González, A., Bernal-González, M., Durán-de-Bazúa, C. 2005. “Sisal” (‘Henequén’) liquor ethanol distilling plants vinasses treatment using anaerobic microbial consortia. Presentado en **ACHEMAMERICA 2005. II International Conference on Water and Wastewater Management**. DECHEMA. Abril 12-15. México D.F., México.

Castro-González, A., Bernal-González, M., Durán-de-Bazúa, C. 2004. Tratamiento de vinazas de plantas destiladoras de alcohol usando consorcios microbianos anaerobios. *Bebidas mexicanas*, 13(3):12-14, 16-20, 22-25.

Castro-González, A., Durán-de-Bazúa, C. 2001. Adaptación de biomasa anaerobia a un nuevo substrato en un reactor anaerobio de lecho de lodos. *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ)*. 16(1):49-55.

Castro-González, A., Durán-de-Bazúa, C. 2002. Procesos de separación: Aplicaciones para la cuantificación de biogases producidos en reactores anaerobios. *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ)*. 17(2):84-94.

Clark, R.H., Spencer, R.E., 1989. The pH tolerance of anaerobic digestion. En *Proceedings 5th Int. Conf. Advanced Water Pollution Research*. Pp. 27/1-27/14.

Cobos, B., 2007. Evaluación del potencial de la producción de biogás a partir de vinazas en un biodigestor anaerobio. Tesis de licenciatura. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.

Conil, P. 2006. Manejo de vinazas, metanización y compostaje, aplicaciones industriales. *Biotec Technology*. Nota Técnica. Colombia.

Cordovés-Herrera, M. A., Valdés-Jiménez, E. 2006. Aprovechamiento integral de los efluentes residuales de la producción de alcohol etílico. En *Memorias del IV Minisimposium Internacional sobre Remoción de Contaminantes de Aguas, Atmósfera y Suelos*. Pp. 156-160. C. Durán-de-Bazúa y L. Ramírez-Burgos, Eds. México D.F. México.

Crockford, H., Knight, S. 1964. Fundamentals of physical chemistry. Ed. John Wiley and Sons, Inc. Nueva York, EEUU.

Datagro. 2006. Servicios Informativos para la industria del azúcar y el alcohol. Brasilia, Brasil. http://www.datagro.com/r_home.php

Detor, M., Hernández, V. 2006. Comportamiento de cuatro reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA), bajo diferentes temperaturas de operación, 35, 45, 55 y 65°C. Tesis profesional en proceso (Química). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. México.

Díaz-B., M., Espitia, S., Molina, F. 2002 Digestión anaerobia, una aproximación a la tecnología. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Doucet, P., Sloep, B. 1992. Mathematics in the life sciences. Ellis Horwood Limited, Chichester, Inglaterra.

Durán-de-Bazúa, C., Durán-Moreno, A., Ramírez-Zamora, R.M. 2006. Tratamiento de aguas residuales de la industria química y de proceso. Serie: Química Ambiental del Agua. Volumen 7. Pub. UNAM-FQ-PIQAYQA. México D.F. México.

Espinel, C. 2005. La cadena de azúcar en Colombia, una mirada global de su estructura y dinámica. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Bogotá, Colombia.

Fannin, K.F. 1987. Start-up, operation, stability, and control. In Anaerobic digestion of biomass. Editado por Chynoweth, D. Y., Isaacson, R. Elsevier Applied Science Ltd. Amsterdam, Holanda.

FAO. Food And Agriculture Organization of the United Nations, <http://www.fao.org/> 2006.

Ferry, J. 1992. Methane from acetate. Minireview. Journal of Bacteriology. 174(17):5489–5495.

Fang H y Chung C. 1999. Anaerobic treatment of proteinaceous wastewater under mesophilic and thermophilic conditions. Water Science and Technology. 40(1):77-84.

Flotats, X., Bonmatí, A., Campos, E., Teira, M.R. 2000. El proceso de secado de purines en el marco de gestión integral de residuos ganaderos. Residuos. Vol. 53, pag. 40-46. El Puerto de Santa María, Cádiz, España.

Fukuzaki, S., Nishio, N., Shobayashi, M., Nagai, S. 1990. Inhibition of fermentation of propionate to methane by hydrogen, acetate, and propionate. Applied and Environmental Microbiology. 56(3):719-723.

Gallert, C., Bauer, S., Winter, J. 1998. Effect of ammonia on the anaerobic degradation of protein by a mesophilic and thermophilic biowaste population. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 50:495-501.

García, A., Duarte, F., Magaña, A. 1991. Crecimiento y finalización de cerdos con diferentes niveles de vinaza. *Livestock Research for Rural Development*. 3(1). <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd3/1/mexico.htm>

Gavala, H., Angelidaki, I. 2003. Kinetics and modeling of aerobic digestion process. *Advances Biochemical Engineering/Biotechnology*. 81:58-93.

Hach. 2001. *Water Analysis Handbook*. Method 8038. Nessler method. Nitrogen, ammonia. Hach Company. Colorado, EEUU.

Hanaki, K., Matsuo, T., Nagase, M. 1981. Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process. *Biotechnology and Bioengineering*. 23(7):1591-1610.

Hansen, K., Angelidaki, I., Ahring, B.K. 1998. Anaerobic digestion of swine manure: Inhibition by ammonia. *Water Research*. 32(1):5-12.

Hill, D.T., Cobb, S.A., Bolte, J.P. 1987. Using volatile fatty acid relationships to predict anaerobic digester failure. *Transactions of the ASAE*. 30(2):496-501.

Hill, D.T., Holmberg, R.D. 1988. Long chain volatile fatty acid relationship in anaerobic digestion of swine waste. *Biological Wastes*. 23:195-214.

Hobson, P.N. 1990. The treatment of agricultural wastes. En *Anaerobic digestion: A waste treatment technology*. Editado por Wheatley, A. *Critical Reports on Applied Chemistry*. 31:93-138.

Hwu, C.-S., Donlon, B., Lettinga, G. 1997. Acute toxicity of oleate acetate-utilizing methanogens in mesophilic and thermophilic anaerobic sludges. *Enzyme and Microbial Technology*. 21:297-301.

Hulshoff Pol, L., Lettinga, G. 1988. Diseño de reactores UASB. *Depuración anaerobia de aguas residuales*. Secretariado de Publicaciones. Pp. 190-207. Universidad de Valladolid. Valladolid, España.

Hulshoff Pol, L., Lettinga, G. 1991. UASB process designs for various types of wastewater. *Water Science Technology*. 24(8):87-101.

Inazúcar. 2006. Instituto Azucarero Dominicano. Proceso productivo del azúcar de caña. Santo Domingo, República Dominicana. <http://www.inazucar.gov.do/>

Incauca. 2006. El ingenio de Colombia. Proceso productivo de azúcar a partir de la caña de azúcar. Cali, Valle del Cauca, Colombia. <http://www.incauca.com/>

Ingenio La Gloria, 2006. Estado de Veracruz. México.

Iza, J. 1995. Control del proceso anaerobio. I Curs d'enginyeria ambiental. Universitat de Lleida. Abril de 1995. Lleida, España.

Jewell, W.J., Switzenbaum, M.S., Morris, J.W. 1981. Municipal wastewater treatment with the anaerobic attached microbial film expanded bed process. *Journal WPCF*. 53(4):482-490.

Jiménez-Ambriz, R.M., Martínez-Garza, M.A., Espinosa-Fuentes, A., Noyola-Robles, A., Durán-de-Bazúa, C. 1995. La caña de azúcar, su entorno ambiental. Parte II. Tratamiento de vinazas en una planta piloto en México en un reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente. *INFORME TÉCNICO DE PROYECTO VIN-02-95*. Pub. Prog. Ing. Quím. Amb. y de Quím. Amb. 83 pags. Facultad de Química, UNAM. México D.F. México.

Krugel, S., Nemeth, L., Peddie, C. 1998. Extending thermophilic anaerobic digestion for producing class A biosolids at the greater Vancouver regional districts Annacis Island wastewater treatment plant. *Water Science Technology*. 38(8-9):409-416.

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

Lay, J.J., Li, Y.Y., Noike, T. 1997. Influences of pH and moisture content on the methane production in high-solids sludge digestion. *Water Research*. 31(10):1518-1524.

Lettinga, G., Hobma, S.W., Hulshoff Pol, L.W., de Zeeuw, W., de Jong, P., Grin, P., Roersma, R. 1983. Design operation and economy of anaerobic treatment. *Water Science Technology*. 15:177-195.

Lettinga, G. 1996. Sustainable integrated biological wastewater treatment. *Water Science Technology*. 33(3):85-98.

Lubberding, H., Stam, F. 1995. Microbiology. Proc. Intl. Course on Anaerobic Wastewater Treatment Fundamentals. Feb. 13 - March 18. Pp. 80-132. Santiago de Cali, Colombia.

Maestro-Durán, R., Borja, R., Luque, M y Martín, A. 1993. Phenolic compounds in waste water from wine distilleries (vinasse). *Rev. Española Ciencia Tecnol. Alimentos*. 35:517-528.

Malina, J., Pohland, F. 1992. Design of anaerobic processes for the treatment of industrial and municipal wastes. Ed. Technomic Publishing Inc. Vol 7. Lancaster, Pennsylvania, EEUUA

Manuelita, S.A. 2006. División azúcar refinada y alcohol. Proceso productivo. Grupo Empresarial Manuelita. Cali, Colombia. <http://www.manuelita.com/html/sitio/index.php>

McCarty, P. 1964. Anaerobic waste treatment fundamentals. *Public Works*. 95:107-112.

Metcalf & Eddy. 1995. Ingeniería de las aguas residuales. Tratamiento vertido y reutilización. Tercera edición. Mc Graw Hill. Madrid, España.

Muñoz-Valero, J.A., Ortiz-Cañavate, J., Vázquez-Minguela, J. 1987. Técnica y aplicaciones agrícolas de la biometanización. Serie Técnica. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, España.

Mussati, M., Aguirre, P., Scenna, N. 1999. Modelado, simulación y optimización de procesos químicos. Capítulo XVIII: Modelado del proceso de digestión anaerobia en reactores simples. Editor: Nicolás J. Scenna; Universidad Tecnológica Nacional-CONICET. pp. 697-739. Santa Fé, Argentina.

Nimbalkar, D. 2005. Distillery effluent treatment. Vasantdada Sugar Institute, Pune, India. <http://www.vsisugar.com/>

Noone, G.P. 1990. The treatment of domestic wastes. En *Anaerobic digestion: A waste treatment technology*. Editado por Wheatley, A. *Crit. Reports Appl. Chem.* 31:139-170.

Obaya, A. 2004. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA). *Tecnología del Agua*. XXIV(249):78-85.

Observatorio Agrocadenas Colombia. 2006. Información Mundial Agrocadena: Azúcar, producto: Caña de azúcar. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. República de Colombia. <http://agrocadenas.gov.co>

Pandiyar T., de Bazúa, C.D., Ilangovan, K., Noyola, A. 1999. ¹³C NMR Studies on vinasses effluent treated with iron. *Water Research*. 33(1):189-195.

Pavlostathis, S.G., Giraldo, E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment. *Water Science Technology*. 24:35-59.

Pérez, M., Rodríguez C., Romero. L., Sales D. 2006. Anaerobic thermophilic digestion of cutting oil wastewater: effect of co-substrate. *Biochem. Eng. J.* 29:250-257.

Perdigón, S. M. 2005. Impacto sobre el medio ambiente de las vinazas de jugos de caña energética más miel final en la destilería Paraíso. Tesis presentada en opción del grado de Master en Gestión Ambiental y Protección de los Recursos Naturales, Universidad de Matanzas. Matanzas, Cuba. <http://www.eumed.net/coursecon/ecolat/cu/smpm2.htm>

Ramallo, 1993. Tratamiento de aguas residuales. 2a edición. Editorial Reverté. Barcelona, España.

Rivas-Solórzano, H. 1996. Estudio y evaluación de algunas propiedades físicas y químicas de los suelos agrícolas aledaños al ingenio azucarero “El Potrero” en Córdoba, Veracruz, México. Tesis profesional (Biología). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. México.

Rodríguez-Rivera, J. 1993. Tratamiento de vinazas empleando reactores anaerobios avanzados (UASB y FA) con eliminación de H₂S. Tesis profesional, Facultad de Química, UNAM. México, D.F. México.

Romero, R., 1999. Tratamiento de Aguas Residuales: Teoría y Definiciones de Diseño. Ed. Escuela Colombiana de Ingeniería. Bogotá, Colombia.

Rosas C, L. 1998. Efecto de los micronutrientes en la transformación de ácidos grasos volátiles a metano en un proceso anaerobio para tratar vinazas. Tesis profesional, Facultad de Química. Universidad Nacional Autónoma de México.

Ruiz, I., Alvarez, J., Soto M., 2000. El potencial de la digestión anaerobia de aguas residuales urbanas y efluentes de baja carga orgánica. Presentación oral en el marco del II Congreso Ibérico sobre Planeamiento y Gestión del Agua. “Una cita europea con la nueva cultura del agua” Oporto, Portugal. http://www.centro.us.es/ciberico/archivos_acrobat/porto1isaruz.pdf

Seghezzo, L., Guerra, G., González, S., Trupiano, A., Figueroa, M., Cuevas, C., Zeeman, G., Lettinga, G., 2002. Removal efficiency and methanogenic activity profiles in a pilot-scale UASB reactor treating settled sewage at moderate temperatures. *Water Science Technology.* 45(10):243–248.

Señer, A. 2005. Obtención de biogás mediante la fermentación anaerobia de residuos alimentarios. Ainia. Departamento de Calidad y Medio Ambiente. Madrid. España.

Sierra-Álvarez, R., Field, J., Lettinga, G., 1988. Methanogenic toxicity of phenolic and lipidic compounds. En: *Proceedings of the 4th Seminar of Anaerobic Wastewater Treatment.* Pp. 83- 110. Universidad de Valladolid. Valladolid, España.

Singh, K., Viraraghavan T. 2002. Effect of treatment on bio-kinetic coefficients in UASB treatment of municipal wastewater. *Water, Air, and Soil Pollution*. 136:243-254

Sorlini, C., Andreoni, V., Ferrari, A., Ranalli, G. 1986. The influence of some phenolic acids present in oil mill water on microbic groups for the metanogénesis. En: International symposium on olive byproducts valorization. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia.

Soto, M., Mendez, R., Lema, J. 1993. Methanogenic and non-methanogenic activity tests. Theoretical basis and experimental set up. *Water Research*. 27(8):1361-1376.

Speece, R.E. 1983. Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environ. Sci. Technol.* 17(9):416-427.

Speece, R.E. 1987. Nutrient requirements. En *Anaerobic digestion of biomass*. Chynowth D. Y., Isaacson, R. Eds. Elsevier Applied Science. Amsterdam, Holanda.

Switzenbaum, M. 1995. Obstacles in the implementation of anaerobic treatment technology. *Biores. Technol.* 53:255-262.

Syutsubo, K., Hideki, S., Ohashi, A., Suzuki H. 1997. An effective start up of a thermophilic UASB reactor by seeding mesophilically-grown granular sludge. *Water Science Technology*. 36(6-7):391-398.

Turner, C., Burton, C.H. 1997. The inactivation of viruses in pig slurries: A review. *Biores. Technol.* 61:9-20.

Tsutsuki, K., Ponnamparume, F. 1987. Behavior of anaerobic decomposition products in submerged soils: Effects of organic material amendment, soil properties, and temperature. *Soil Sci. Plant Nutr.* 33:13-33.

Unión Nacional de Cañeros AC–CNPR. 2006. Estadísticas de la agroindustria de la caña de azúcar 1997–2006. Comité Ejecutivo Nacional 2004–2007. México D.F. <http://www.caneros.org.mx/>

Updegraff, K., Pastor, J., Bridgham, S.D., Johnston, C.A. 1995. Environmental and substrate controls over carbon and nitrogen mineralization in Northern wetlands. *Ecological Applications*. 5:151-163.

Van Lier, J.B. 1995. Temperature optima of thermophilic methanogenic sludge: Implications for reactor start-up and operation. Thermophilic anaerobic wastewater treatment; temperature aspects and process stability. Tesis doctoral. Universidad de Wageningen. Wageningen, Holanda.

Van Lier, J.B., Hulsbeek, J., Stams, A.J., Lettinga, G. 1993. Temperature susceptibility of thermophilic methanogenic sludge: Implication for reactor start-up and operation. *Biores. Technol.* 43:227-235.

Veeken, A., Hamelers, B. 1999. Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowaste components. *Biores. Technol.* 29:249-254.

Villatoro-Reséndiz, R. 1998. Estudio de la transformación de la materia orgánica biodegradable de la vinaza cruda y tratada en los suelos acrisol y vertisol del municipio Miguel Aleman en el estado de Veracruz, México. Tesis profesional (Biología). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. México.

Vollersten, J., Almeida, M., Hvitved-Jacobsen, T. 1999. Effects of temperature and dissolved oxygen on hydrolysis of sewer solids. *Water Research.* 33(14):3119-3126.

Von Sperling M. 1996. Comparison among the most frequently used systems for wastewater in developing countries. *Water Research.* 33(3):59-72.

Watanabe, H., Kitamura, T., Ochi, S., Ozaki, M. 1997. Inactivation of pathogenic bacteria under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science Technology.* 36(6-7):25-32.

Yasemin, F., Stremstrom, M. 2002. Anaerobic treatment of low strength wastewater. Department of Civil and Environmental Engineering, UCLA. Los Angeles, EEUU.