



**PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD ACIDOGÉNICA Y
METANOGÉNICA DE SEDIMENTOS OBTENIDOS POR
FLOCULACIÓN QUÍMICA DE VINAZA ALCOHOLERA**

TESIS

Para obtener el grado de Especialización en Biotecnología

PRESENTA

I.B.I. David Alejandro Contreras Guerrero

DIRECTORA:

Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz

ASESORA:

Dra. Mónica Alicia Meraz Rodríguez

Julio/2016

Ciudad de México, a 12 de Julio del 2016

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad aprobó la tesis

**PRUEBAS DE BIODEGRADABILIDAD ACIDOGÉNICA Y METANOGÉNICA DE
SEDIMENTOS OBTENIDOS POR FLOCULACIÓN QUÍMICA DE VINAZA ALCOHOLERA**

que presentó
DAVID ALEJANDRO CONTRERAS GUERRERO

Comité Tutorial:

Director: Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz


Asesor: Dra. Mónica Meraz Rodríguez


Jurado:


Presidente: Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz

Secretario: Dra. Mónica Meraz Rodríguez

Vocal: Dra. Patricia Castilla Hernández







AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme vida y salud y permitirme alcanzar mis metas para superarme y ser mejor día a día.

A mi madre por ser incondicional, guiarme y aconsejarme a diario para ser una mejor persona fomentando en mí, valores y principios; a mi padre por ayudarme a continuar mis estudios, creer en mí y ser un ejemplo de vida, así como de superación y constancia. A ambos les doy gracias por estar a mi lado y brindarme el apoyo, cariño y amor, que a diario me demuestran y de ser el motor para crecer como persona y profesionalista.

A mis profesores por ayudarme y guiarme durante la parte experimental y la redacción de la tesis. A la Dra. Mónica Meraz por su apoyo y colaboración, así como asesoramiento en la parte experimental y teórica durante la especialidad, a la Dra. Patricia Castilla por compartir sus conocimientos y tiempo, durante la elaboración de la tesis. En especial y sinceramente a la Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz por ser parte de mi formación académica, y brindarme su amistad, consejos, conocimientos dedicación y paciencia durante la elaboración de la tesis. Y ser un ejemplo de un profesionalista dedicado y exitoso en su área.

A Iván Sánchez Valencia por ser mi amigo y compartir tantos momentos agradables en el transcurso de la carrera y especialidad, así como su apoyo y hermandad que siempre me ha demostrado.

Y a la Universidad Autónoma Metropolitana por aceptarme y abrirme las puertas para estudiar en ella mi carrera y especialidad.

RESUMEN

En los últimos años la producción de bebidas alcohólicas ha incrementado. Durante este proceso se generan alrededor de 15 litros de vinazas por litro de etanol destilado. Este efluente se caracteriza por un alto contenido de materia orgánica (de 50 a 150 g DQO/L; de 25 a 80 g DBO₅/L) lo cual implica un grave problema de contaminación en cuerpos acuíferos y suelos donde generalmente es descargado. Por lo que la floculación química es un pretratamiento que reduce la carga contaminante de este efluente. Generando sedimentos y sobrenadante, los cuales al ser tratados anaeróbicamente producen biocombustibles tales como H₂ y CH₄ y se reduce su carga contaminante. La vinaza utilizada proveniente de melaza de caña se colectó en el ingenio de San José de Abajo ubicado en el municipio de Amatlán de los Reyes en el estado de Veracruz en año 2013; la cual se caracterizó fisicoquímicamente, y se determinó la biodegradabilidad anaerobia acidogénica-metanogénica de los sedimentos y el sobrenadante formados en la floculación química de la vinaza. Para posteriormente determinar la cantidad de H₂ y CH₄ producidos. Durante la acidogénesis el sobrenadante presentó la mayor producción de H₂ con un 63.04% y la mayor eficiencia de remoción de SV (62.82%). Mientras que los sedimentos en metanogénesis con un 87.67% tuvieron la mayor producción de CH₄, pero la mayor eficiencia de remoción de SV se obtuvo en el sobrenadante con un 38.68%.

En la acidogénesis los principales alcoholes y AGV's formados fueron: etanol, propanol, acético, butírico y valerico. En metanogénesis los principales alcoholes y AGV's fueron: etanol, propanol, butanol, acético, propiónico y butírico.

ÍNDICE

	Pág.
1. Introducción.....	1
1.1 Tipos de vinaza.....	2
1.1.1 Vinazas de caña de azúcar.....	2
1.1.2 Vinazas de remolacha azucarera.....	2
1.1.3 Vinazas de uva.....	3
1.1.4 Vinazas de agave.....	3
1.1.5 Vinazas de sorgo dulce.....	3
1.1.6 Vinazas de maíz.....	4
1.2 Disposición y uso de vinazas.....	7
1.2.1 Fertirriego.....	7
1.2.2 Suplemento alimenticio.....	7
1.2.3 Composteo.....	7
1.2.4 Producción de biogás.....	7
2. Antecedentes.....	9
2.1 Tratamientos biológicos.....	9
2.1.1 Digestión anaerobia.....	9
2.1.2 Tratamiento de vinazas por digestión anaerobia.....	10
2.1.3 Tratamientos con hongos.....	10
2.2 Tratamientos fisicoquímicos.....	11
2.2.1 Adsorción.....	11
2.2.2 Coagulación-floculación.....	11
2.2.3 Proceso de ozonización.....	12
2.2.3.1 Fenton.....	12
2.2.4 Oxidación electroquímica.....	12
3. Justificación.....	13
4. Hipótesis.....	13
5. Objetivos.....	13
5.1 Objetivo general.....	13
5.2 Objetivos específicos.....	13

6. Metodología.....	14
6.1 caracterización de vinaza cruda.....	14
6.2 Obtención de sedimentos por coagulación-floculación-sedimentación.....	14
6.2.1 Análisis de sedimentos y sobrenadante obtenidos por coagulación-floculación-sedimentación.....	15
6.3 Pruebas de biodegradabilidad acidogénica y metanogénica.....	15
6.4 Muestreo de biogás.....	16
6.5 Técnicas analíticas.....	18
6.5.1 Demanda química de oxígeno.....	18
6.5.2 pH.....	18
6.5.3 Sólidos totales.....	18
6.5.4 Sólidos suspendidos.....	18
6.5.5 Sólidos disueltos	29
6.5.6 Sólidos sedimentables.....	19
6.5.7 Composición del biogás por cromatografía de gases con detector de conductividad térmica (TCD).....	19
6.5.8 Determinación de alcoholes y AGV'S por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (FID).....	20
7. Resultados.....	20
7.1 Caracterización de vinaza cruda.....	20
7.2 Coagulación-floculación-sedimentación (prueba de jarras).....	21
7.3 Pruebas de biodegradabilidad.....	23
7.3.1 Acidogénesis.....	23
7.3.1.1 Producción de biogás.....	23
7.3.1.2 Volumen y Composición del biogás.....	26
7.3.1.3 Perfil de alcoholes.....	28
7.3.1.4 Perfil de AGV's.....	29
7.3.2 Metanogénesis.....	33
7.3.2.1 Producción de biogás.....	33
7.3.2.2 Volumen y Composición del biogás.....	35
7.3.2.3 Perfil de alcoholes.....	37
7.3.2.4 Perfil de AGV's.....	39

8 Conclusiones.....	42
9. Bibliografía.....	43
10. Anexos.....	47

TABLAS

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de distintas vinazas de acuerdo a la materia prima utilizada.....	5
Tabla 2. Compuestos orgánicos solubles presentes en la vinaza.....	6
Tabla 3. Resumen de usos de las Vinazas.....	8
Tabla 4. Parámetros y métodos para la caracterización de la vinaza.....	15
Tabla 5. Caracterización de sedimentos.....	18
Tabla 6. Diseño experimental pruebas de biodegradabilidad con los diferentes sustratos.....	17
Tabla 7. Caracterización de vinaza cruda.....	21
Tabla 8. Caracterización de sedimentos y sobrenadante obtenidos de la prueba de jarras.....	23
Tabla 9. Velocidades y actividades específicas en acidogénesis.....	25
Tabla 10. Sólidos iniciales y finales en acidogénesis.....	26
Tabla 11. Volumen de biogás y porcentaje de H ₂ producidos en la cinética acidogénica.....	27
Tabla 12. Resultados obtenidos en acidogénesis	33
Tabla 13. Velocidades y actividades específicas en metanogénesis.....	34
Tabla 14. Sólidos iniciales y finales en metanogénesis.....	35
Tabla 15. Volumen de biogás y porcentaje de CH ₄ producido en la cinética metanogénica.....	37

Tabla 16. Resultados obtenidos en metanogénesis.....	41
--	----

FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo de prueba de jarras.....	15
Figura 2. Perfiles de producción de biogás en acidogénesis.....	24
Figura 3. Perfiles de composición de biogás en acidogénesis.....	27
Figura 4. Perfiles de producción de alcoholes en acidogénesis.....	29
Figura 5. Perfiles de producción de AGV's en acidogénesis.....	31
Figura 6. Perfiles de producción de biogás en metanogénesis.....	34
Figura 7. Perfiles de composición de biogás en metanogénesis.....	36
Figura 8. Perfiles de producción de alcoholes en metanogénesis.....	38
Figura 9. Perfiles de producción de AGV's en metanogénesis.....	40
Figura 10. Curvas estándar de alcoholes y AGV's.....	51

ANEXOS

10.1. Demanda química de oxígeno.....	47
10.2. pH.....	47
10.3. Sólidos totales.....	47
10.4. Sólidos suspendidos	48
10.5 Sólidos disueltos totales.....	49
10.6 Sólidos sedimentables	50
10.7 Prueba de jarras.....	50
10.8 Porcentaje de biogás H ₂ y CH ₄	50
10.9 Curva de estándar de alcoholes y ácidos grasos volátiles.....	50

NOMENCLATURA

AGV's	Ácidos grasos volátiles
DBO₅	Demanda bioquímica de oxígeno
DQO	Demanda química de oxígeno
F₄₂₀	Coenzima F420 u 8-hidroxi-5-deazaflavina
N_T	Nitrógeno total
P_T	Fósforo total
S_T	Azufre total
S/X	Relación sustrato-biomasa
ST	Sólidos totales
SF	Sólidos Fijos
SV	Sólidos volátiles
SDT	Sólidos disueltos totales
SDF	Sólidos disueltos fijos
SDV	Sólidos disueltos volátiles
SST	Sólidos suspendidos totales
SSF	Sólidos suspendidos fijos
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
FID	Detector de ionización de flama
TCD	Detector de conductividad térmica
TRH	Tiempo de retención hidráulica
UASB	Upflow Anaerobic Sludge Blanket
\bar{X}	Media
σ	Desviación estándar

1. INTRODUCCIÓN

La producción de etanol para bebidas alcohólicas ha aumentado en los últimos años. En 2008, la producción mundial alcanzó 79 mil millones de litros y aproximadamente el 95% de esta producción fue producida por fermentación- destilación. La producción de etanol genera de 8 a 15 litros de vinaza por litro de etanol destilado (Sarayu 2009).

La vinaza puede definirse como el efluente resultante de la producción de alcohol a partir de la fermentación y la destilación del caldo de fermentación y, se caracteriza por un alto contenido de materia orgánica, además de un color marrón oscuro que se debe a los compuestos producidos durante la caramelización de los azúcares residuales y la destilación. La vinaza generalmente se descarga de los destiladores a una temperatura cercana a los 100° C.

El contenido de materia orgánica en la vinaza varía según la materia prima empleada y la eficiencia de los procesos de fermentación–destilación. Está compuesto por un 93% de agua, 2% de compuestos inorgánicos (K^+ , SO_4^{2-} , Cl^- , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+}) y un 5% de compuestos orgánicos (García 2006). Expresado como demanda química de oxígeno (DQO) oscila entre 50 y 150 g/L y como demanda bioquímica de oxígeno (DBO_5) entre 25 y 80 g/L. Además contiene concentraciones por encima de 750 mg/L de sulfatos, 100 mg/L de nitrógeno total, 345 mg/L de potasio, un pH entre 3.5 y 5.0, esto debido al contenido de ácidos orgánicos (España y col., 2011).

La composición química de la vinaza indica que la materia orgánica es el principal constituyente y entre los minerales, el potasio en conjunto con el calcio son los más sobresalientes.

Las características de las vinazas dependen principalmente de la materia prima utilizada para la producción de bio-etanol. Por otro lado, vinazas con altas concentraciones de sólidos solubles se pueden obtener cuando se utiliza caña de azúcar, remolacha azucarera, uva, agaves o sorgo dulce.

En general los factores que influyen en las variaciones del contenido de los diversos componentes en las vinazas son:

- Calidad de la materia prima.
- Tipo de levadura y productos químicos utilizados en la fermentación.
- Características del proceso fermentativo.

1.1 TIPOS DE VINAZAS

1.1 .1 Vinazas de caña de azúcar

El jugo de la caña de azúcar fresca tiene un alto contenido de sacarosa por lo que se utiliza para la producción de etanol. Mientras que la melaza y las mieles finales de la producción de sacarosa pueden tener hasta 60° Brix por lo que también se utilizan para la producción de etanol (España y col., 2011).

La melaza es un líquido denso y viscoso, producto de la refinación de la caña de azúcar, de color oscuro, que contiene azúcares como sacarosa, glucosa, fructuosa.

La vinaza es el líquido resultante de la producción de alcohol etílico, ya sea por la destilación de la melaza fermentada o de la fermentación directa del jugo de caña, donde se produce un volumen de 11 a 15 litros de vinaza por cada litro de alcohol producido. La vinaza de melaza de caña y jugo de caña están compuesta por materiales orgánicos y nutrientes minerales y constituyentes vegetales como aminoácidos, proteínas, lípidos, ceras, azúcares, etc. La composición fisicoquímica de la vinaza depende de las características de la materia prima utilizada en la producción de alcohol, ya sea de melaza, jugo de caña o de la combinación de ambas, del sustrato empleado en la fermentación y destilación y maduración de la caña (Molina y col., 2012).

1.1.2 Vinazas de remolacha azucarera

La remolacha azucarera se utiliza para producir azúcar de mesa en países donde no es posible cultivar caña de azúcar. Este tipo de vinazas contienen una alta concentración de un aminoácido llamado betaína por lo que presentan mayor contenido de nitrógeno. Su producción es de 13 L de vinaza por litro de etanol (España y col., 2011).

1.1.3 Vinazas de uva

La uva es un fruto con alto contenido de azúcar y por lo tanto el caldo de fermentación y vinificación poseen una grande cantidad de materia orgánica, mientras que el contenido total de nitrógeno es bajo en comparación con otras materias primas, como la remolacha azucarera. Las vinazas de vino son un residuo líquido compuesto por un conjunto de subproductos de la elaboración del vino como del tratamiento del mosto de la uva (Álvarez y col., 2007). Los ácidos orgánicos que generalmente se encuentran en este tipo de vinaza son ácido láctico, ácido tartárico, ácido succínico, ácido acético y ácido málico. Los compuestos fenólicos van desde 742 a 1330 mg/L y poseen un 70% de materia orgánica y un 23% de materia inorgánica (Álvarez y col., 2007).

1.1.4 Vinazas de agave

El mezcal es definido por la NOM-070-SCFI-1994 como bebida alcohólica regional de Oaxaca obtenida por destilación de mostos preparados con azúcares extraídos de las cabezas maduras de los agaves, previamente cocidas, y sometidas a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas. Para la obtención del mezcal, son necesarios cuatro procesos, el cocimiento de las piñas, macerado, fermentación y destilación; en este último proceso, se lleva a cabo la separación del alcohol del mosto fermentado, obteniéndose de 6 a 15 litros de vinazas por cada litro de alcohol obtenido. Las vinazas de agave están constituidas por diferentes compuestos orgánicos tales como ácido acético, ácido láctico, glicerol, fenoles, polifenoles, melanoidinas, sulfatos y fosfatos. (Villalobos 2009).

1.1.5 Vinazas de sorgo dulce

El sorgo dulce contiene dos tipos de carbohidratos: azúcares en el jugo del tallo y almidón de los granos. Sin embargo, los azúcares del jugo del tallo son la principal fuente de etanol. Durante la producción de 1 L de etanol, se generan 16L de vinazas, con 79.9 g/L de DQO, y un pH de 4.5, además de un alto contenido de nitrógeno total y de fósforo (800 y 1990 mg/L, respectivamente). Los carbohidratos que contienen son sacarosa, glucosa y fructosa (España y col., 2011).

1.1.6 Vinazas de maíz

La vinaza de maíz contiene fibra, aceite, proteína y restos de almidón no fermentado. Este residuo de la producción de etanol es un valioso ingrediente de alimentación para el ganado, aves y peces.

En la tabla 1 se presentan los valores de DBO₅, DQO, NT, PT, SO₄²⁻, K⁺, pH y volumen generado de vinazas por litro de etanol producido, correspondientes a los diferentes tipos de vinazas antes mencionadas.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica de distintas vinazas de acuerdo a la materia prima utilizada (López y col., 2012, España y col., 2011).

TIPO DE VINAZA	PARÁMETROS							
	DBO ₅ (g/L)	DQO (g/L)	N _T (g/L)	P _T (mg/L)	S _T (g/L)	SO ₄ ²⁻ (g/L)	pH	L _{vinaza} / L _{etanol}
Melaza de caña	39	85	1.2	190	5.1	3.5	4.46	12-20
Jugo de caña	17	30	0.6	130	2,0	1.47	4.04	13
Melaza de remolacha	45	91	3.6	160	10.0	3.7	5.35	9-15
Vinaza de uva	16.3	50.2	0.65	118	na	0.12	4.2	11-12
Vinaza de agave	20.6	66.3	Na	41	na	0.88	3.4	6-15
Vinaza de sorgo dulce	46	79.9	0.8	1990	na	na	4.5	16
Vinazas de maíz	Na	65	Na	Na	7	2	4.3	10

N_T= Nitrógeno total

P_T= Fósforo total

S_T= Azufre total

na= no analizado

Otros componentes solubles presentes en las vinazas, como son ácidos orgánicos y azúcares, se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Compuestos orgánicos solubles presentes en la vinaza (García 2006).

COMPUESTO	CONCENTRACIÓN
	(%, p/p)
No volátiles	
Glicerol	2.70
Ácido aconítico	1.76
Sorbitol	1.39
Fructuosa + glucosa	1.30
Ácido láctico	1.28
Ácido cítrico	0.80
Ácido 2,4 dihidroxipentanedioico	0.71
Trehalosa	0.31
Ácido málico	0.23
Sucrosa	0.21
2,3 butanodiol	0.21
Ácido succínico	0.07
Ácido glicónico	0.06
Fenólicos:	(mg/kg)
Ácido piroglutámico	165
Ácido itacónico	93
Ácido fumárico	93
3-metoxi-4 hidroxifenilglicerol	54
Ácido p-hidroxi-benzoico	48
Ácido palmítico	34

1.2. DISPOSICIÓN Y USO DE VINAZAS

La disposición de vinazas es muy variada, ya que se han usado como abono de suelos (fertirriego), para la producción de biogás, suplemento alimenticio de ganado y como composta (tabla 3).

1.2.1 Fertirriego

La aplicación de la vinaza en suelo se considera como una fertilización de elevada eficiencia, pues, además de proveer a la tierra los nutrientes necesarios, causa una mejoría en las condiciones físicas, químicas y bacteriológicas del suelo, presentando como desventaja que sólo puede aplicarse a suelos relativamente ácidos. Es necesario tener en cuenta que debe encontrarse una dosis adecuada en cada caso para evitar la salinización del suelo, cambios en la microbiología propia del suelo y la contaminación del manto acuífero, así como de generación de malos olores (Pérez 2008).

1.2.2 Suplemento alimenticio

Por el contenido de azúcares residuales las vinazas mezcladas con otros ingredientes son usadas como suplemento alimenticio para animales, también pueden utilizarse para sustituir parte de la melaza utilizada en la suplementación de ganado bovino, porcino y conejos (Ginette 2009).

1.2.3 Composteo

Es la degradación anaeróbica de residuos por procesos microbiológicos, que acontecen en 3 etapas conocidas como: fase termófila, fase mesófila y fase de curado. Este tratamiento consiste en remover agua por evaporación y concentrar el material sólido de las vinazas, para posteriormente mezclarlas con residuos agrícolas (paja o bagazo) y residuos sólidos de animales, ya sean porcinos o vacunos produciendo un producto rico en materia orgánica. El cual es una alternativa para el mejoramiento de suelos, con el consiguiente efecto positivo sobre los rendimientos agrícolas (Pérez 2008).

1.2.4 Producción de biogás

La producción de biogás se basa en la degradación anaerobia de la materia orgánica contenida en un efluente de agua residual, en este proceso, se logra la disminución de la

misma y por tanto disminuye el impacto ambiental que produce el efluente al ser descargado sin tratamiento. Del tratamiento se obtiene: agua residual tratada (vinaza tratada) la cual se utiliza para riego de áreas verdes y tierras de cultivo, un lodo o biomasa estabilizada que tiene propiedades fertilizantes y se utiliza como inóculo para otros reactores anaerobios, y biogás el cual está constituido principalmente por metano (CH₄), además contiene dióxido de carbono (CO₂), y pequeñas cantidades de nitrógeno (N₂), hidrógeno (H₂), sulfuro de hidrógeno (H₂S), vapor de agua, amoníaco (NH₃) y otros compuestos aromáticos. Por la presencia mayoritaria de CH₄ este gas tiene un alto valor dado que se puede emplear como combustible y para generación de energía eléctrica (Pérez 2008).

Tabla 3. Resumen de usos de las Vinazas (García 2006).

USOS	QUÉ APORTA	QUÉ HACE
Fertilización	Materia orgánica <ul style="list-style-type: none"> • Potasio • Calcio • Sulfatos • Micronutrientes 	-Fomenta la reproducción de microorganismos en el suelo. -Aporte de nutrientes.
Sustrato para Composta		-Sirve como fuente de energía y nutrientes a los microorganismos que compostan el material vegetal residual de las cosechas.
Producción de biogás y biosólidos		<ul style="list-style-type: none"> • Generan biogás con contenidos utilizables de CH₄. • Producen sólidos ricos en carbono, nitrógeno y azufre asimilables por las plantas.
Medio de cultivo		Suplementadas con urea y sacarosa son un excelente sustrato para promover el crecimiento de levaduras, algas del género <i>Chlorella</i> , bacterias como <i>Pseudomonas</i> y <i>Methanomonas</i> y hongos filamentosos.
Suplemento Alimenticio	<ul style="list-style-type: none"> • Sales minerales 	<ul style="list-style-type: none"> • Mezcladas con otros ingredientes se emplean para elaborar concentrados para animales. • Sustituye parte de la melaza usada en la suplementación de ganado bovino, porcino y conejos.
Otros	Agentes plastificantes de concretos reforzados. Fabricación de ladrillos. Materia prima para obtener ácido glutámico y glutamina vía fermentativa.	

2. ANTECEDENTES

Se han aplicado tratamientos físico-químicos y biológicos a las vinazas, con los cuales el contenido de materia orgánica se reduce a través de su degradación. Los tratamientos físico-químicos suelen utilizar oxidantes químicos fuertes con el fin de oxidar los contaminantes orgánicos, mientras que los tratamientos biológicos utilizan microorganismos capaces de degradar la materia orgánica contaminante. Los tratamientos biológicos se pueden clasificar en aerobios y anaerobios, dentro de los aerobios, se encuentran el de lodos activados, el cual requiere una aeración. Los tratamientos anaeróbicos proporcionan una alternativa más barata ya que producen biocombustibles como H_2 Y CH_4 ; los cuales se pueden utilizar para generar energía eléctrica o calorífica (España y col., 2011).

Actualmente no existe un proceso que permita reducir eficientemente la alta cantidad de materia orgánica presente en las vinazas. Los tratamientos físico-químicos o biológicos logran remover del 30 al 60% de la DQO (López y col, 2012).

2.1 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

Los tratamientos biológicos anaerobios de efluentes de aguas residuales son reconocidos como métodos eficaces para la disminución de contaminantes.

2.1.1 Digestión anaerobia.

La degradación anaerobia de la materia orgánica es realizada por bacterias y arqueas metanogénicas. El proceso se lleva a cabo en varias etapas:

a) Hidrólisis y fermentación.

Los polímeros complejos que constituyen la materia orgánica son transformados en monómeros simples a través de exo-enzimas. Durante la fermentación se generan productos que comprenden diversos ácidos grasos volátiles (AGV'S) como el acético, propionico, butírico, valérico, caproico ácido láctico, pirúvico, succínico, así como alcoholes, H_2 y CO_2 , (Sträuber y col., 2012).

Las principales bacterias involucradas en este proceso son anaerobias estrictas o facultativas y pertenecen a diferentes géneros como: *Clostridium*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pelobacter* y *Acetobacterium* (Fajardo 1997).

b) Acidogénesis.

Los compuestos generados en la etapa anterior tales como, etanol, ácido láctico, ácido pirúvico continúan su degradación a ácidos grasos volátiles, CO₂ e H₂. La mayoría de las bacterias y arqueas que participan en ésta etapa utilizan la vía de Entner-Doudoroff (ED), que finaliza en la síntesis de ácido pirúvico y de ahí se sintetizan ácido acético, propionico, butírico a través de la acetil CoA (Kim y Gadd, 2008).

c) Acetogénesis.

Los compuestos orgánicos como el ácido láctico, propiónico, butírico o etanol son oxidados por bacterias acetogénicas a ácido acético, sustrato que utilizan las arqueas metanogénicas (Campos 2001).

d) Metanogénesis

Es la etapa de transformación del ácido acético a CH₄ y CO₂ por medio de *arqueas* metanógenas acetoclastas, mientras que el H₂ y CO₂ son utilizados por arqueas metanógenas hidrogenotrofas para producir CH₄ (Zinder 1993).

2.1.2 Tratamiento de vinazas por digestión anaerobia.

Los tratamientos anaerobios de vinazas alcoholeras en reactores UASB muestran que es posible disminuir la carga contaminante hasta en un 82.3% utilizando un TRH de 48 horas, con una producción de metano de 0.28 m³/Kg DQO hasta 0.38 m³/KgDQO (Rivera y col., 2002). Bernal y col., (2002) probaron el efecto de la temperatura, en tres reactores UASB a 35 °C, 45 °C, y 55 °C, obteniendo una remoción del 72, 74 y 67% , con una producción de biogás de 20, 31 y 28 mol/L, respectivamente.

2.1.3 Tratamientos con hongos

En los últimos años, varios basidiomicetos y ascomicetos se han utilizado en la decoloración de melanoidinas naturales y sintéticas, y en aguas residuales de destilerías. El objetivo del tratamiento con hongos es purificar el efluente por el consumo de sustancias orgánicas y reducir la concentración de DQO y DBO, y al mismo tiempo obtener algún producto, como la biomasa fúngica para la alimentación animal rica en proteína. Entre los hongos que se han utilizado se encuentran, *Aspergillus niger*, *Phanerochaete chrysosporium* y *Mycelia sterilia* (Pant 2007).

2.2 TRATAMIENTOS FISICOQUÍMICOS

Durante el tratamiento biológico aplicado a la vinaza proveniente de la fermentación de melaza se remueve una gran cantidad de materia orgánica, sin embargo, el color marrón de la vinaza no es removido por los procesos biológicos y puede incrementarse debido a la polimerización de las melanoidinas por lo que es necesario aplicar métodos alternativos para la decoloración siendo algunos de ellos la absorción, ozonización, oxidación electroquímica y la coagulación-floculación (López 2010).

2.2.1 Adsorción

El carbón activado se utiliza como un adsorbente de los contaminantes orgánicos de las aguas residuales. El carbón activado, con una distribución significativa de microporos y mesoporos, ha demostrado ser muy eficiente en la adsorción de melanoidinas y compuestos oscuros en vinazas debido a su área superficial extendida (Sarayu 2009).

Debido al alto precio del carbón activado se han hecho estudios con carbón activado casero hecho con bagazo y un tratamiento de ácido fosfórico para la reducción de color en vinazas, la cual tratada en un reactor anaeróbico consigue una decoloración del 50.3% y una reducción de DQO del 23,6%; sin embargo, estas eficiencias fueron inferiores a las obtenidas con carbón activado comercial, que van desde 93 a 95% para la eliminación de color y un 76 a un 88% para la reducción de la DQO (España y col., 2011).

2.2.2 Coagulación-floculación

Es una metodología útil para reducir la carga contaminante de corrientes líquidas. Se basa en la adición de un agente coagulante inorgánico, generalmente aluminio o hierro, los cuales inducen la formación del flóculos, dando origen a un sedimento que es separado del sobrenadante, generando un efluente líquido clarificado. El sedimento contiene un alto contenido de sólidos y debe aplicársele un tratamiento antes de su disposición (Andia 2000).

En el tratamiento de vinaza se ha reportado la aplicación del proceso de coagulación-floculación. En este caso, se ha propuesto como el floculante más adecuado para la eliminación de color y materia orgánica, al permanganato de potasio (KMnO_4), con el cual se han obtenido eficiencias de eliminación del 90% de color y 55% de DQO. Sin embargo, por

aspectos económicos, ha resultado más factible la utilización del sulfato de aluminio $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, con eficiencias del 70% en color y 30% en DQO (www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EC/TAC-51.pdf).

Mientras que utilizando como agente floculante FeCl_3 a concentraciones de 1.66 g/L en vinazas tequileras a pH 6 se logró remover un 60% del color y un 53% de la DQO total según lo reportado por Meza y col. (<http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/mexico/01336e14.pdf>)

2.2.3 Proceso de ozonización

El ozono es un oxidante potente para el tratamiento de agua potable y para aguas residuales. Una vez disuelto en agua, el ozono reacciona con un gran número de compuestos orgánicos en dos formas diferentes: por oxidación directa como ozono molecular o mediante reacción indirecta a través de la formación secundaria de oxidantes como radicales hidroxilo (Sarayu 2009).

Se llevaron a cabo experimentos en laboratorio a vinazas con un tratamiento aeróbico y ozono, en donde hubo una reducción del 79% de DQO y una decoloración completa de la vinaza (Sangave y col., 2007).

2.2.3 Fenton

El método de oxidación Fenton se basa en la producción de radicales hidroxilo (OH^\cdot), que tienen un potencial de oxidación extremadamente alto. El reactivo de Fenton, el cual es una mezcla de peróxido de H_2 y sales de hierro (Fe^{2+} o Fe^{3+}) produce radicales hidroxilo, que en última instancia conducen a la decoloración del efluente (Sarayu 2009).

2.2.4 Oxidación electroquímica

Este tratamiento se utiliza ampliamente para eliminar el color de efluentes industriales. Durante el proceso electroquímico, los contaminantes son destruidos por oxidación. Utilizando la oxidación electroquímica como tratamiento se logró la degradación del color de vinazas diluidas 10 veces, con un ánodo insoluble de titanio, con una reducción del 92% de DQO y 98.2% en la de DBO (Manisankar y col., 2003)

3. JUSTIFICACIÓN

La floculación química es un pretratamiento utilizado para reducir la carga contaminante de aguas residuales. Sin embargo, se generan residuos que contienen el agente precipitante y deben ser tratados antes de su disposición.

Un tratamiento anaerobio puede conducir a la producción de biocombustibles como H_2 y CH_4 . Además algunas de las enzimas involucradas en la producción de estos biocombustibles, tales como las hidrogenasas y las enzimas responsables de la producción de metano (F_{420}) utilizan Fe^{3+} como cofactor enzimático.

4. HIPÓTESIS

El sedimento y el sobrenadante generados en el pre-tratamiento de la vinaza alcoholera por floculación-coagulación, contendrán materia orgánica biodegradable, la cual bajo condiciones de degradación acidogénica y metanogénica, generarán H_2 y CH_4 .

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la biodegradabilidad de los sedimentos y sobrenadante formados por coagulación-floculación de vinaza alcoholera y evaluar la producción de H_2 y CH_4 comparándolo con la biodegradabilidad en las mismas condiciones de la vinaza sin pretratamiento.

5.2 Objetivos específicos

- Determinar la composición fisicoquímica de una vinaza alcoholera.
- Realizar un tratamiento fisicoquímico a la vinaza alcoholera por medio de coagulación-floculación-sedimentación, bajo condiciones controladas de pH y $[Fe^{3+}]$.
- Evaluar el contenido de sólidos y pH de los residuos generados (sedimentos y sobrenadante) en el tratamiento fisicoquímico.
- Evaluar la biodegradabilidad en condiciones acidogénicas y metanogénicas, en microcosmos de los residuos generados en el tratamiento fisicoquímico.

6. METODOLOGÍA

6.1 Caracterización de vinaza cruda

Se colectó vinaza de melaza de caña en el ingenio de San José de Abajo ubicado en el municipio de Amatlán de los Reyes en el estado de Veracruz en enero del 2013. Se llevó a cabo su caracterización midiendo los siguientes parámetros: DQO_{TOTAL} , $DQO_{SOLUBLE}$, pH, sólidos totales y sólidos suspendidos (tabla 4).

Tabla 4. Parámetros y métodos para la caracterización de la vinaza.

PARÁMETRO	MÉTODO
DQO_{TOTAL}	Reflujo Cerrado (APHA-AWWA-WEF 1999)
$DQO_{SOLUBLE}$	Reflujo Cerrado (APHA-AWWA-WEF 1999)
pH	Potenciometría
SÓLIDOS TOTALES	Método gravimétrico (APHA-AWWA-WEF 1999)
SÓLIDOS SUSPENDIDOS	Método gravimétrico (APHA-AWWA-WEF 1999)
SÓLIDOS DISUELTOS	Método gravimétrico (APHA-AWWA-WEF 1999)
SÓLIDOS SEDIMENTABLES	Método gravimétrico (APHA-AWWA-WEF 1999)

6.2 Obtención de sedimentos por coagulación-floculación-sedimentación

La obtención de los sedimentos por coagulación/floculación/sedimentación (prueba de jarras) se llevó a cabo en jarras de 1 L y como agente coagulante se empleó $FeCl_3$ a una concentración de 1000 ppm, controlando el pH a 4 durante la prueba de jarras (Figura 1) (Anexo 10.7).

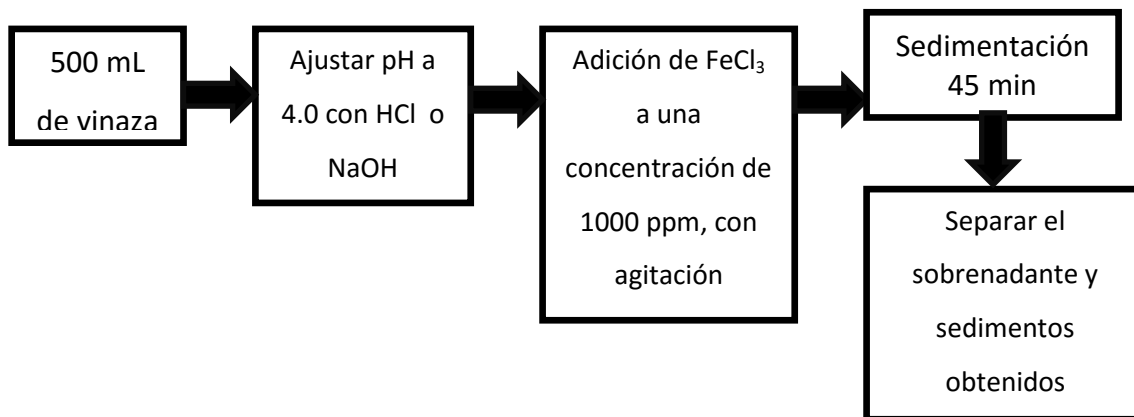


Figura 1. Diagrama de flujo de prueba de jarras.

6.2.1 Análisis de sedimentos y sobrenadante obtenidos por coagulación-floculación-sedimentación.

Una vez obtenidos los sedimentos y sobrenadante por medio de la prueba de jarras, se realizó su caracterización midiendo el pH y sólidos totales (Tabla 5).

Tabla 5. Caracterización de sedimentos.

PARÁMETRO	MÉTODO
pH	Potenciometría
SÓLIDOS TOTALES	Método gravimétrico (APHA-AWWA-WEF 1999)

6.3 Pruebas de biodegradabilidad acidogénica y metanogénica.

Se llevaron a cabo pruebas de bio-degradabilidad acidogénica y metanogénica, con los residuos generados en el pre-tratamiento, sedimento y sobrenadante, además de un control con la vinaza sin tratar.

Se utilizaron reactores de 250 mL, inoculados con el volumen necesario de lodos metanogénicos para ajustar una S/X de 4.0 en la prueba acidogénica y de 2.0 para la prueba metanogénica (tabla 6). Para el caso del sedimento y sobrenadante, se consideró el contenido de sólidos volátiles como la concentración de sustrato (S), debido a que contienen Fe^{3+} , el cual interfiere en la determinación de DQO. Los reactores fueron purgados durante 3

minutos con nitrógeno para favorecer condiciones anaerobias e incubados a 30 ° C a 100 rpm.

6.4 Muestreo de biogás

En los tres sustratos probados se midió el volumen producido de biogás (H₂, CH₄ y CO₂) 3 veces al día durante 2 semanas, conectando la botella serológica a una columna de Mariotte con solución salina saturada, con un diámetro de 3 cm, midiendo el desplazamiento de la solución por el biogás producido. Se tomó una muestra de 3 mL de biogás el cual se inyectó en un tubo HACH con solución salina, para posteriormente llevar a cabo la identificación de la composición del biogás por cromatografía de gases con detector de conductividad térmica (TCD) (Apartado 6.5.7)

Para el seguimiento de los AGV'S y alcoholes de cada botella serológica se tomó una vez al día una alícuota de 1 mL, las cuales se centrifugaron a 13,000 rpm durante 10 minutos, el sobrenadante se separó y congeló para su posterior identificación por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (FID) (Apartado 6.5.8).

Tabla 6. Diseño experimental para las pruebas de biodegradabilidad con los diferentes sustratos.

	ACIDOGÉNICA		METANOGENICA	
pH	4.5		7.0	
°T	30 °C		30 °C	
INÓCULO	Lodo anaerobio metanogénico		Lodo anaerobio metanogénico	
S/X	4.0		2.0	
	GAS	AGV's	GAS	AGV's
VINAZA CRUDA	60 mL buffer 60 mL sustrato 15 mL lodos	60 mL buffer 60 mL sustrato 15 mL lodos	16 mL lodos 50 mL buffer/sustrato de la acidogénesis	26.90 mL lodos 90 mL buffer/sustrato de la acidogénesis
SEDIMENTOS	49 mL buffer 49 mL sustrato 15 mL lodos	49 mL buffer 49 mL sustrato 15 mL lodos	31 mL lodos 80 mL buffer/sustrato de la acidogénesis	26.15 mL lodos 70 mL buffer/sustrato de la acidogénesis
SOBRENADANTE	61 mL buffer 61 mL sustrato 15 mL lodos	61 mL buffer 61 mL sustrato 15 mL lodos	9 mL lodos 60 mL buffer/sustrato de la acidogénesis	17.20 mL lodos 90 mL buffer/sustrato de la acidogénesis
PARÁMETROS	<ul style="list-style-type: none"> - Ph - Producción y composición del biogás - Sólidos - AGV'S 			

6.5 Técnicas analíticas

6.5.1 Demanda química de oxígeno

Se define como la cantidad de oxígeno equivalente a la materia orgánica contenida en una muestra que es susceptible a oxidación por un oxidante fuerte, llevada cabo en condiciones ácidas. Se reporta como la cantidad equivalente de oxígeno, expresado en mg/L (Bylund, 1996). Para la caracterización de la vinaza se utilizó el método colorimétrico, por reflujo cerrado, de acuerdo APHA-AWWA-WEF (1999) (Anexo 10.1).

6.5.2 pH

El pH es una medida de la acidez o naturaleza básica de una solución. El pH fue determinado en la vinaza cruda, sedimentos y sobrenadante, mediante un potenciómetro de la marca Thermo Scientific modelo Orion Star A215 (Anexos 10.2).

6.5.3 Sólidos totales

La determinación de los sólidos totales (ST) permite estimar el contenido de materia disuelta y suspendida presente en una muestra. La determinación de sólidos totales se basa en una medición cuantitativa de la diferencia de peso que experimenta una muestra tras la evaporación y secado a peso constante a 110°C. La calcinación de la muestra a 550°C permite determinar los sólidos fijos (SF); por diferencia de peso entre ambos, se estiman los sólidos volátiles (SV) (APHA-AWWA-WEF, 1999) (Anexo 10.3).

6.5.4 Sólidos suspendidos

La determinación de los sólidos suspendidos totales (SST) se basa en el incremento de peso que experimenta un filtro de fibra de vidrio tras la filtración al vacío, el residuo retenido en el filtro se seca a peso constante a 110°C. El aumento de peso del filtro representa los sólidos totales en suspensión. Por calcinación y diferencia de peso, adicionalmente se cuantifican los sólidos suspendidos fijos (SSF) y volátiles (SSV) (APHA-AWWA-WEF, 1999) (Anexo 10.4).

6.5.5 Sólidos disueltos

Los sólidos disueltos totales (SDT), son las sustancias que permanecen después de filtrar y evaporar a sequedad una muestra bajo condiciones específicas. Para cuantificar los SDT, se determina el incremento de peso que experimenta una cápsula tarada, tras la evaporación en ella de una alícuota de la muestra previamente filtrada y que posteriormente es secada a peso constante. Al igual que los anteriores se pueden determinar los sólidos disueltos fijos (SDF) y los volátiles (SDV) (Anexo 10.5).

6.5.6 Sólidos sedimentables

Los sólidos sedimentables son los materiales que sedimentan de una suspensión en un período de tiempo definido en un cono Imhoff (Aguinaga y col., 1996) (Anexo 10.6).

6.5.7 Composición del biogás por cromatografía de gases con detector de conductividad térmica (TCD)

La determinación de la composición del biogás obtenido durante las cinéticas se llevó a cabo por cromatografía de gases, donde se utilizó un cromatógrafo Gow-Mac 580 serie II, con detector de conductividad térmica (TCD); para determinar H_2 se utilizó una columna de Sílica gel 60/80 de 18' x 1/8" x 0.085" SS, nitrógeno como gas acarreador y para determinar CH_4 y CO_2 una columna Porapak Q 80/100, helio como gas acarreador y un detector de conductividad térmica (TCD). Las condiciones del cromatógrafo para H_2 fueron las siguientes: Columna 90°C, Detector 100°C, Inyector 110°C, una corriente de 80 mA, y 100 μ L de muestra. Mientras que las condiciones del cromatógrafo para CH_4 y CO_2 fueron las siguientes: Columna 40°C, Detector 90°C, Inyector 90°C, una corriente de 120 mA, y 100 μ L de muestra.

6.5.8 Determinación de alcoholes y AGV'S por cromatografía de gases con detector de ionización de flama (FID)

El contenido de alcoholes y ácidos grasos formados se determinó por cromatografía de gases, utilizando un cromatógrafo PerkinElmer, modelo Clarus 580, con detector de ionización de flama (FID), una columna AT-1000 de 15 m de largo y 0.53 mm de diámetro interno, 1.25 μm de fase estacionaria y nitrógeno como gas acarreador. Las condiciones de operación del cromatógrafo fueron: Detector 250°C, Inyector 200°C. Para la columna se utilizó una rampa de temperatura: $T^{\circ}_{\text{inicial}}$ 75°C, incremento 30°C/min, T°_{final} 180 °C con un tiempo de estabilización 1.5 min. El tiempo de corrida para cada muestra fue de 8.5 minutos.

7. RESULTADOS

7.1 Caracterización de vinaza cruda

La tabla 7 muestra la caracterización realizada a la vinaza cruda, ésta presenta un pH ácido de 4.16, característico de las vinazas de melaza de caña. La DQO total es de 91.75 g/L y la soluble de 91.25 g/L. Estos resultados son superiores a los reportados por López y col. (2012) quienes reportan una concentración de 85 g DQO/L para vinaza procedente de melaza de caña. Al comparar la concentración de la DQO total con la soluble se puede observar que la mayor parte de la materia orgánica presente en la vinaza está en forma disuelta.

Un comportamiento similar se puede observar en el contenido de sólidos, el 82% de los sólidos totales corresponden a los sólidos volátiles, así como en los sólidos disueltos volátiles y suspendidos volátiles, 64% y 86%, respectivamente. Esto sugiere que la vinaza contiene una alta concentración de material biodegradable.

En la tabla 7 se aprecia que el 9% de los sólidos totales corresponden a los sólidos sedimentables, estos según APHA-AWWA-WEF (1999) están formados principalmente por material flotante. Mientras tanto los sólidos disueltos, son sólidos menores a 2 μm , y representan el 95.4% de los sólidos totales.

Tabla 7. Caracterización de vinaza cruda.

PARÁMETROS	(g/L)	RELACIÓN
DQO_{Total}	91.75	
DQO_{Soluble}	91.25	DQOs/DQOt= 0.99
pH	4.16	
ST	82.22	
SF	14.75	
SV	67.47	SV/ST=0.82
SST	6.85	
SSF	0.95	
SSV	5.90	SSV/SST=0.86
SDT	78.47	
SDF	28.22	
SDV	50.25	SDV/SDT=0.64
Sólidos sedimentables	8.0	SSed/ST=0.09

7.2 Coagulación-floculación-sedimentación (prueba de jarras)

Se realizaron un total de 21 pruebas de jarras, durante las cuales se registró el pH inicial y se controló a 4.0 con NaOH (2N), durante la adición del Fe³⁺ (1000 ppm). El volumen de sedimento obtenido varió de una prueba a otra, donde se obtuvo un volumen promedio de 20.14 ± 11.31 mL.

La baja producción de sedimentos puede ser debida a la dosis de agente coagulante y al pH, así como a la naturaleza propia de la muestra. Song y col. (2004) realizaron varios ensayos de pruebas de jarras, con aguas residuales de curtiembre, con valores de pH de 4 a 10 y diferentes concentraciones de coagulante (de 400 a 1200 mg/L FeCl_3); sus resultados muestran que para ese tipo de agua, a un pH de 4 y una concentración de 1000 mg/L Fe^{3+} obtienen 14 mL de sedimentos, volumen que es semejante a los obtenidos en este estudio.

Por otro lado Rodríguez y col. (2008) probaron distintas concentraciones de FeCl_3 como agente coagulante (de 70 a 95 mg/L) a diferentes valores de pH (de 5.5 a 6.5), en aguas residuales de industria papelera, sus resultados muestran que para ese tipo de agua a un pH 6.0 y a concentración 80 mg/L del agente coagulante, disminuye la DQO de 850 a 575 mg/L. Mientras que Zayas y col. (2007), llevan a cabo un pos-tratamiento a vinaza "tequilera" por coagulación/floculación con FeCl_3 . Ellos encuentran una eficiencia de remoción de DQO cercano al 80% con dosis de 20 g. Por lo anterior se puede concluir que para cada tipo de agua residual la cantidad de coagulante y pH deben ser optimizados para obtener una mejor eficiencia en el proceso.

De las 21 pruebas de jarras se obtuvo un volumen total de sedimentos de 423 mL y de sobrenadante de 10,077 mL. La tabla 8 muestra la caracterización de los sedimentos y sobrenadante acumulados, donde el valor de pH al final de la prueba de jarras fue de 4.0 ± 0.08 para sedimentos y de 4.0 ± 0.2 para el sobrenadante. En cuanto al contenido de sólidos totales se puede apreciar que en los sedimentos la concentración es mayor con respecto al sobrenadante, 102.18 g ST/L y 84.90 g ST/L, respectivamente. Mientras tanto el contenido de sólidos volátiles fue 81.94 g SV/L en el sedimento y de 65.34 g SV/L en el sobrenadante; lo que indica que hay un mayor contenido de material biodegradable en los sedimentos, que pueden ser tratados por métodos biológicos.

Tabla 8. Caracterización de sedimentos y sobrenadante obtenidos de la prueba de jarras ($n=21$)

	Volume n (mL)	\bar{X}	σ	pH	Sólidos Totales (g/L)	Sólidos Fijos (g/L)	Sólidos Volátiles (g/L)
Sedimentos	423	20.14	11.31	4.00 ± 0.08	102.18	20.32	81.94
Sobrenadante	10077	479.85	11.31	4.00 ± 0.2	84.90	19.55	65.34

\bar{X} = media del volumen de sedimento o sobrenadante

σ = desviación estándar del volumen de sedimento o sobrenadante

7.3 Pruebas de biodegradabilidad

7.3.1 Acidogénesis

Con el sedimento y sobrenadante obtenidos en las pruebas de jarras, así como con vinaza cruda, como control, se realizaron pruebas de biodegradabilidad bajo condiciones acidogénicas a pH 4.5, siguiendo la producción y composición del biogás, así como el contenido de AGV'S y alcoholes.

A continuación se describen los resultados obtenidos.

7.3.1.1 Producción de biogás

En la figura 2 se muestra la producción de biogás con respecto al tiempo, donde se puede apreciar que en la cinética realizada con el sobrenadante se obtuvo la mayor producción de biogás en comparación con la vinaza cruda y sedimento. Los perfiles cinéticos fueron muy variados, para el caso del sedimento se registró la producción de biogás a partir del primer muestreo (4.5 horas), sin embargo fue el que menor volumen de biogás produjo (90.0 mL). Mientras que, con la vinaza cruda inició la producción de biogás a las 6 horas de incubación alcanzando su máxima producción a las 96 horas, con un volumen acumulado de 381.39 mL. Por otro lado el sobrenadante presentó dos puntos de máxima producción de biogás, uno a las 96 horas con 325.07 mL y otro a las 263.5 horas registrándose una producción máxima de 1090.73 mL al final de la cinética.

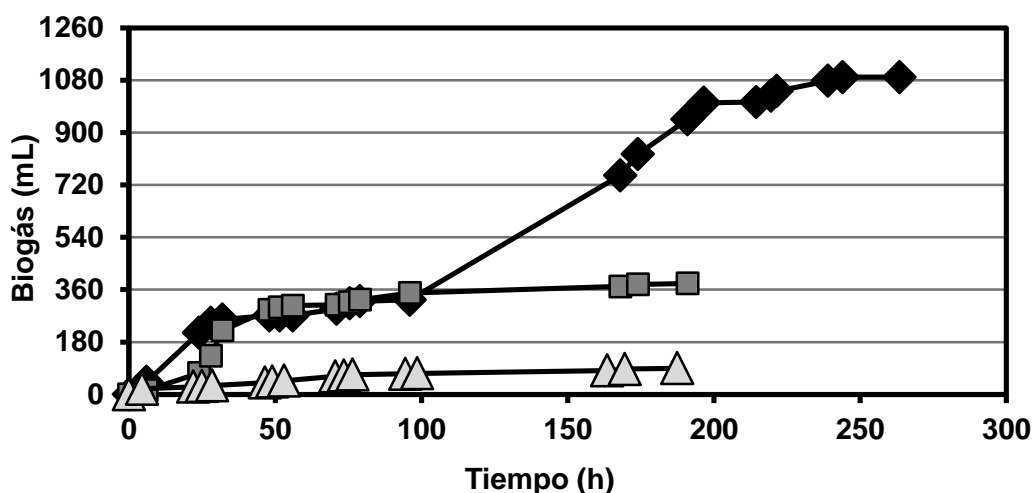


Figura 2. Perfiles de producción de biogás en acidogénesis.
Sobrenadante (◆), vinaza cruda (■) y sedimentos (▲)

Con los perfiles obtenidos de producción de biogás se calcularon las velocidades de producción de biogás para cada ensayo (tabla 9), el sobrenadante registró una velocidad promedio de 1.37 mL biogás/h, la cual es superior a la obtenida con la vinaza cruda y el sedimento, 1.3 y 0.2 mL biogás/h, respectivamente. Así mismo se calcularon las actividades específicas en las tres pruebas, la vinaza cruda presentó una actividad de 4.46 mL biogás/g SV * h y el sobrenadante 5.95 mL biogás/g SV * h en promedio, ambas actividades fueron superiores a la obtenida con el sedimento 0.69 mL biogás/ g SV * h.

De acuerdo al contenido de sólidos volátiles en el sedimento (81.94 g SV/L) se esperaba la mayor producción de biogás, así como una alta velocidad y actividad específica, sin embargo los resultados mostraron lo contrario, aun cuando el sedimento contiene el ion Fe^{3+} del agente coagulante, el cual está reportado como cofactor enzimático de las hidrogenasas, involucradas en la producción de H_2 (Rüdiger, 2009).

Tabla 9. Velocidades y actividades específicas en acidogénesis.

SUSTRATO	VELOCIDAD (mL biogás/h)	ACTIVIDAD ESPECÍFICA (mL biogás/g SV *h)
Vinaza cruda	1.30	4.46
Sedimentos	0.20	0.69
Sobrenadante	1.45	6.33
	1.29	5.63

La tabla 10 muestra la eficiencia de remoción de sólidos en la cinética acidogénica, donde se observa que hubo una reducción significativa en el contenido de sólidos volátiles en el sobrenadante (62.82%), que corresponde con la mayor producción de biogás (figura 2), velocidad de producción y actividad específica (tabla 9). Sin embargo se esperaba que en la cinética con vinaza cruda se obtuviera una eficiencia de remoción de sólidos mayor ya que se produjo una cantidad significativa de biogás, pero no fue así, la eficiencia de remoción fue nula, esta producción fue debida al alto contenido de azúcares, los cuales son los sustratos inmediatos para la producción de hidrógeno. Para el caso del sedimento apenas se registró un 0.17% de remoción de sólidos lo cual justifica la baja producción de biogás.

Tabla 10. Sólidos iniciales y finales en acidogénesis.

CINÉTICA ACIDOGÉNICA							
	SÓLIDOS INICIALES (g/L)			SÓLIDOS FINALES (g/L)			REMOCIÓN SV (%)
	ST	SF	SV	ST	SF	SV	
Vinaza cruda	36.38	11.07	25.30	38.08	12.66	25.42	0.0
Sedimentos	44.43	13.70	30.72	45.06	14.38	30.67	0.17
Sobrenadante	44.37	12.65	31.72	25.26	12.47	11.79	62.82

7.3.1.2 Volumen y composición del biogás

La figura 3 muestra los perfiles de producción de biogás así como su composición en las cinéticas acidogénicas; en la tabla 11 se reporta los volúmenes de biogás producido con los distintos sustratos, así como el porcentaje de H₂ obtenido en cada una de las cinéticas.

En la cinética con vinaza cruda se produjeron 381 mL de biogás, sólo el 5.84% fue identificado como hidrógeno, éste pudo haber sido producido a partir de los azúcares presentes en la vinaza, ya que no se registró remoción de sólidos (figura 3a tabla 10).

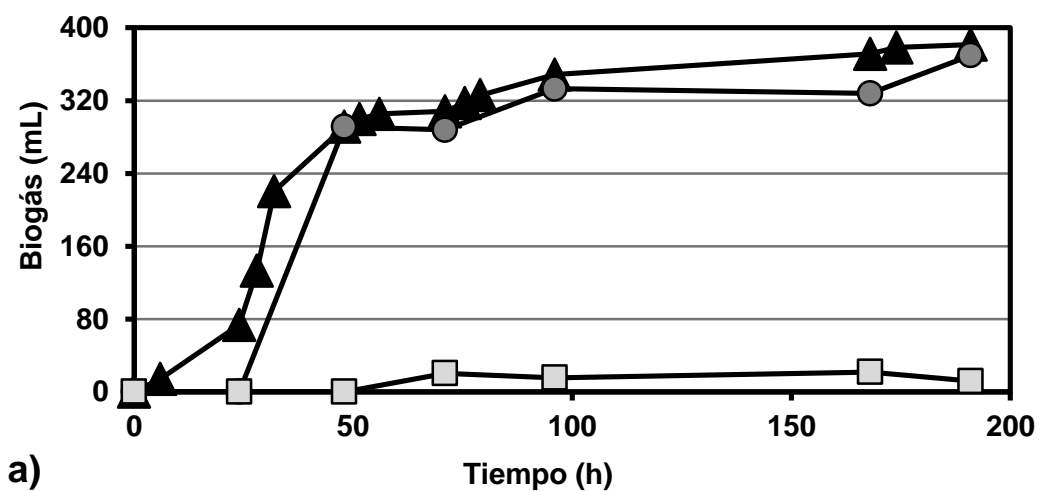
En el caso de los sedimentos, a pesar de que contenían una concentración de sólidos volátiles semejantes al sobrenadante, fue la cinética donde se produjo la menor cantidad de biogás, 82 mL, del cual el 20% fue identificado con H₂, este resultado es coherente con la remoción de sólidos la cual fue apenas del 0.17% (figura 3b tabla 10).

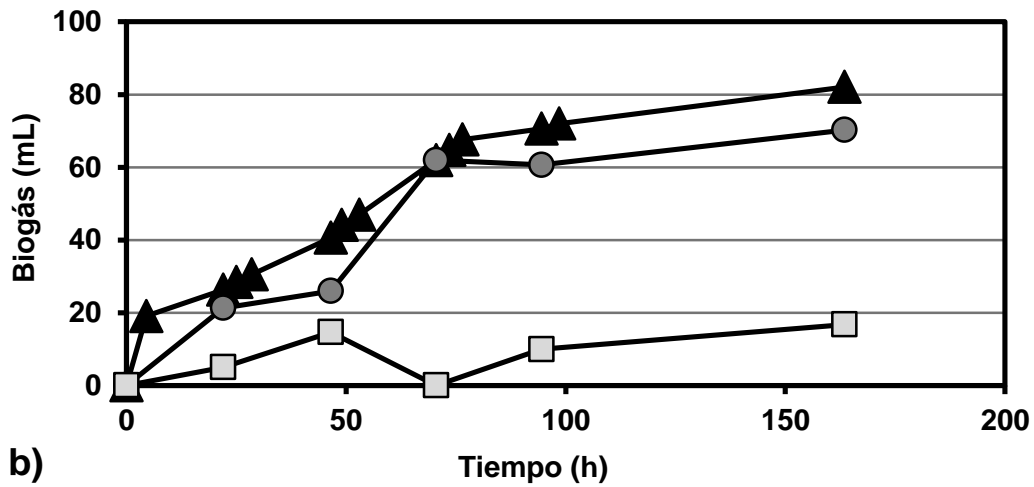
Y en el caso de la cinética realizada con el sobrenadante, fue el ensayo donde se produjo la mayor cantidad de biogás, 1005 mL, así mismo fue en éste ensayo donde se detectó el mayor porcentaje de H₂ (63.04%), que está estrechamente relacionado con la alta remoción de sólidos (figura 3c, tabla 10).

Nunes y col. (2014) Encontraron que utilizando vinazas alcohólicas como sustrato en reactores de lecho de flujo ascendente el porcentaje de H_2 fue aproximadamente del 24.3% a 36.9%.

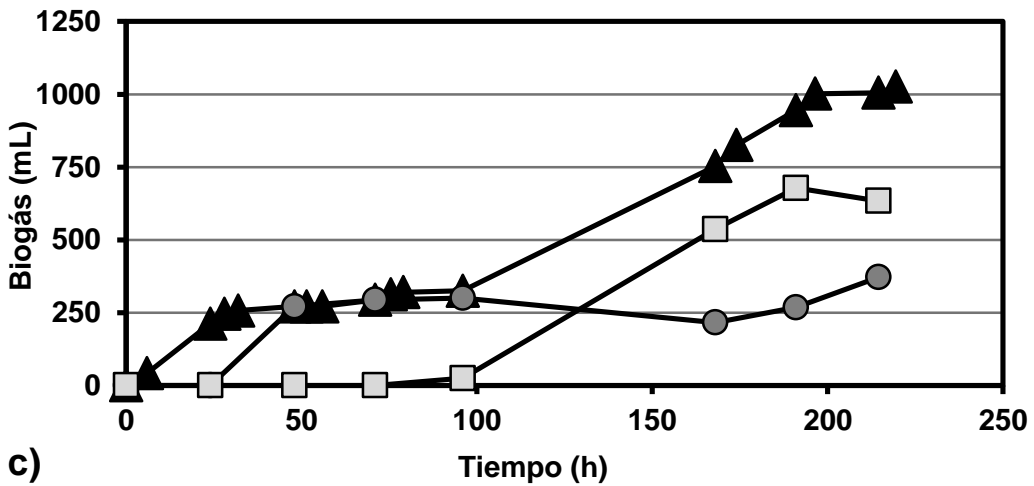
Tabla 11. Volumen de biogás y porcentaje de H_2 producidos en la cinética acidogénica

SUSTRATO	BIOGÁS (mL)	H_2 (%)
Vinaza cruda	381	5.84
Sedimentos	82	20.40
Sobrenadante	1005	63.04





b)



c)

Figura 3. Perfiles de composición de biogás en acidogénesis.
 a) Vinaza cruda, b) sedimentos y c) sobrenadante.
 biogás (▲), CO₂ (●) e H₂ (■)

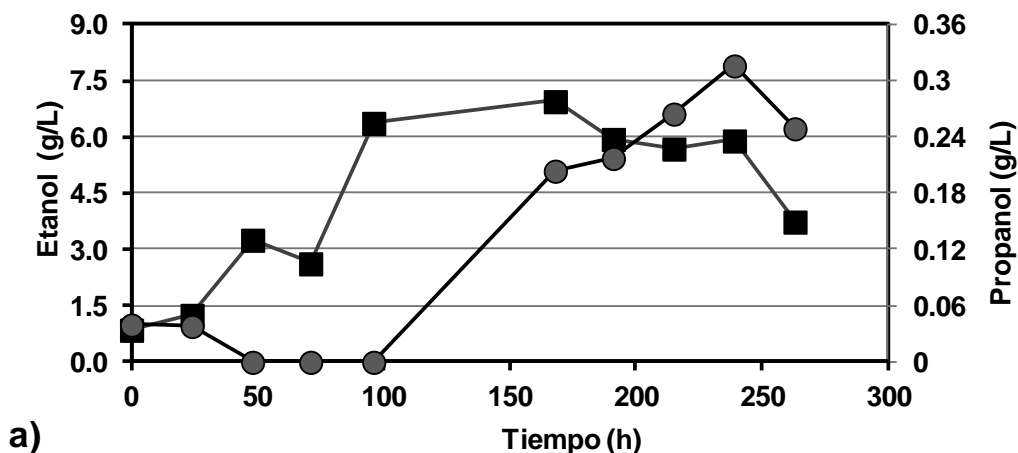
7.3.1.3 Perfil de alcoholes

La figura 4 muestra los perfiles de alcoholes, para el caso de la vinaza cruda se observa que los azúcares presentes se transformaron principalmente en etanol (6.96 g/L) y en menor concentración en propanol (0.32 g/L). Así mismo se observa que tanto el etanol como el propanol se consumieron durante y al final del ensayo, respectivamente. Mientras que en los sedimentos el etanol se mantiene constante durante el periodo de incubación (5.51 g/L), pero se detecta la formación de propanol, tres veces menos que el detectado en la vinaza. Para el caso del sobrenadante, se detecta un ligero incremento en la concentración de etanol a las 24 horas, disminuyendo en el siguiente muestreo y manteniéndose el resto del experimento.

7.3.1.4 Perfil de AGV's

En la figura 5 se presentan los perfiles de AGV'S. La vinaza cruda contenía una alta concentración de ácido acético (2.5 g/L) y en menor proporción ácido valérico

En las primeras 71 horas de incubación se observó el consumo de acético y la formación de butírico. Después de este tiempo se registró un incremento en la concentración de ácido acético alcanzando una concentración de 4.39 g/L a las 239 horas de incubación, observándose una tendencia a disminuir al final de la cinética. En cuanto al butírico, este alcanzó su máxima concentración a las 96 horas de incubación (0.59 g/L) y se consumió completamente a las 196 horas. Sin embargo este consumo no se reflejó en la producción de hidrógeno (figura 3a) pero sí puede justificar la producción de CO₂. En cuanto al ácido valérico, este se consumió completamente en las primeras horas de incubación, para detectarse nuevamente a las 168 horas, justo cuando se inicia el consumo de butírico, alcanzando una concentración de 0.46 g/L.



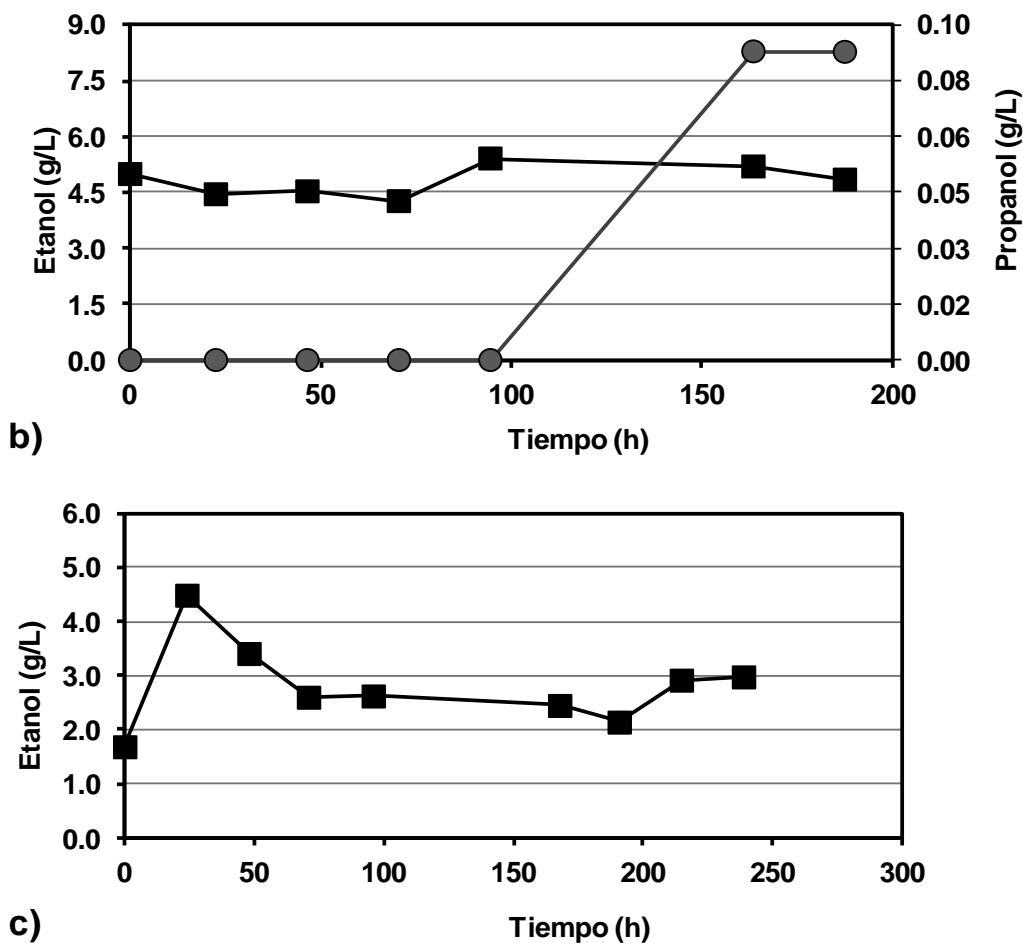
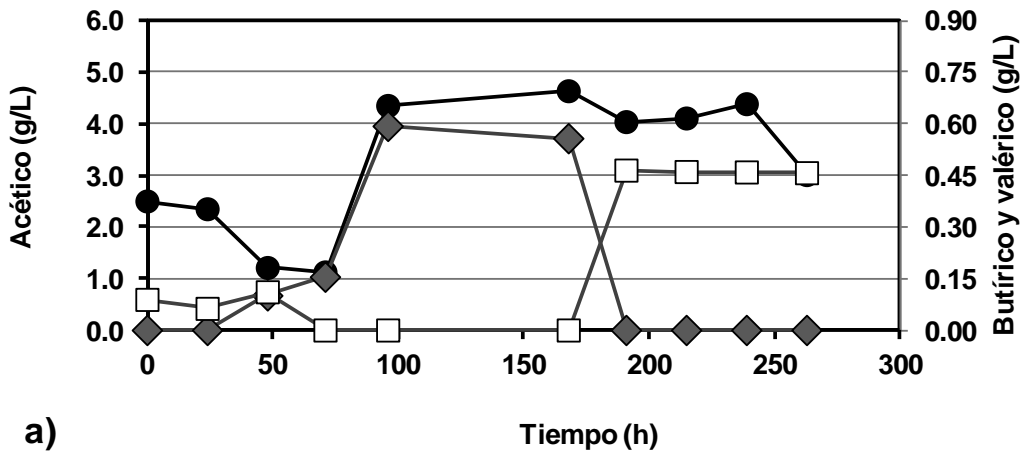


Figura 4. Perfiles de producción de alcoholes en acidogénesis. a) Vinaza cruda, b) sedimentos y c) sobrenadante. Etanol (■) y propanol (●)

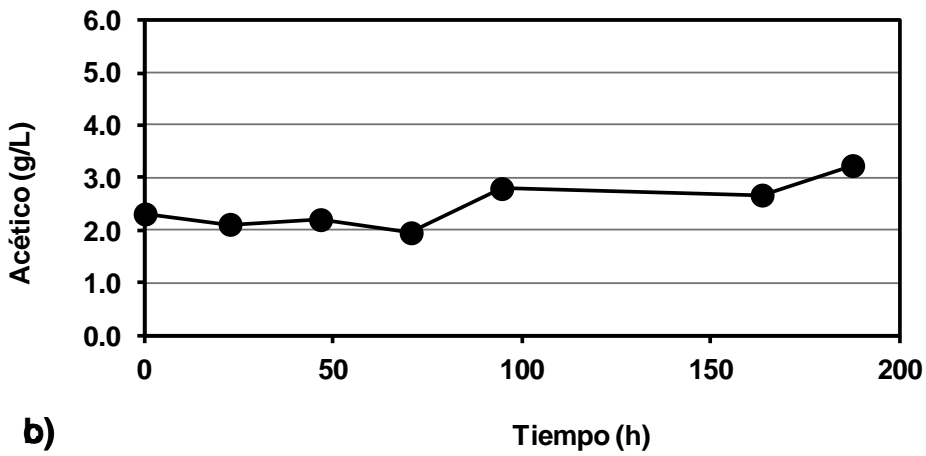
Para el sedimento sólo se detectó ácido acético el cual se incrementó de 2.32 a 3.23 g/L al final del periodo de incubación, lo que justifica la baja producción de hidrógeno (figura 3b). Así mismo en el sobrenadante se detectan únicamente ácido acético (2 g/L), el cual va disminuyendo gradualmente al mismo tiempo que se va produciendo ácido butírico, alcanzando una concentración de 3.16 g/L. De acuerdo a estos resultados no se justifica la producción de hidrógeno obtenido con el sobrenadante (figura 3c), lo cual indica que se utilizó otra fuente de carbono posiblemente los azúcares presentes en la vinaza.

Resultados semejantes han sido reportados previamente por Lappa y col. (2015) quienes encontraron que durante la acidogénesis de vinaza alcoholera en un reactor UASB, los AGV's predominantes fueron el ácido acético, iso-butírico, butírico y en cantidades muy

escasas iso-valerico; además de altas concentraciones de etanol. Mientras que Gil y col. (1986) determinaron que el ácido acético y butírico fueron los principales AGV's producidos durante la acidigénesis, seguidos en menor proporciones del iso-butírico y valerico en un reactor anaerobio con vinaza alcohólica como sustrato.



a)



b)

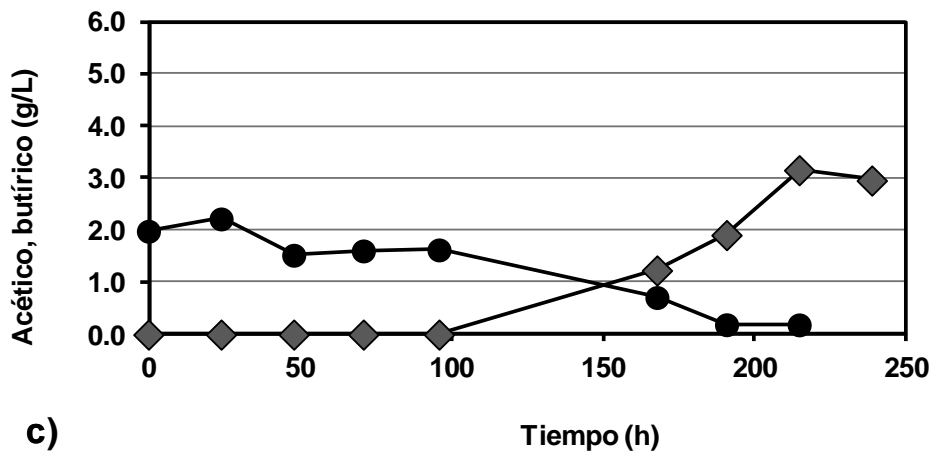


Figura 5. Perfiles de producción de AGV's en acidogénesis.
 a) Vinaza cruda, b) sedimentos y c) sobrenadante.
 Ácido acético (●), butírico (◆), valérico (□)

La tabla 12 muestra un resumen de los resultados obtenidos en las cinéticas acidogénicas. El sobrenadante fue el que presentó mayor producción de biogás, remoción de sólidos y un alto contenido de hidrógeno. Así mismo fue la cinética que presentó la mayor velocidad de producción de biogás y actividad específica.

El sedimento, que es el objetivo principal de este trabajo, fue el que presentó menor producción de biogás y remoción de sólidos, pero el porcentaje de hidrógeno en el biogás fue superior al detectado en la vinaza (20.4%).

La vinaza cruda fue el sustrato en con el cual se registró la menor eficiencia en la remoción de sólidos, y a pesar de que se produjo una cantidad considerable de biogás a una velocidad semejante a la obtenida con el sobrenadante, el contenido de hidrógeno fue apenas del 5.84%.

Tabla 12. Resumen de resultados obtenidos en acidogénesis.

	% Remoción SV	Biogás producido (mL)	Actividad Específica (mLbiogás/ g SV * h)	Velocidad Específica q (mLbiogás / h)	% H ₂	AGV'S formados (g/L)	Alcoholes formados (g/L)
Vinaza cruda	0.0	381	4.46	1.30	5.84	3.42	0.25
Sedimentos	0.17	82	0.69	0.20	20.40	3.23	0.09
Sobrenadante	62.82	1005	5.98	1.37	63.04	0.96	2.98

7.3.2 Metanogénesis

7.3.2.1 Producción de biogás

Una vez concluida la cinética acidogénica, el sobrenadante fue separado de los sólidos e inoculado con lodos metanogénicos bajo las condiciones especificadas en la tabla 6. Los parámetros analizados fueron, producción y composición del biogás, AGV'S y alcoholes.

En la figura 6 se muestra la producción de biogás en la cinética metanogénica con los tres sustratos a probar. Se puede apreciar que la cinética con sedimento fue la que presentó la mayor producción de biogás de 309.40 mL, en comparación a la vinaza cruda y el sobrenadante, 190.14 mL y 137.37 mL, respectivamente.

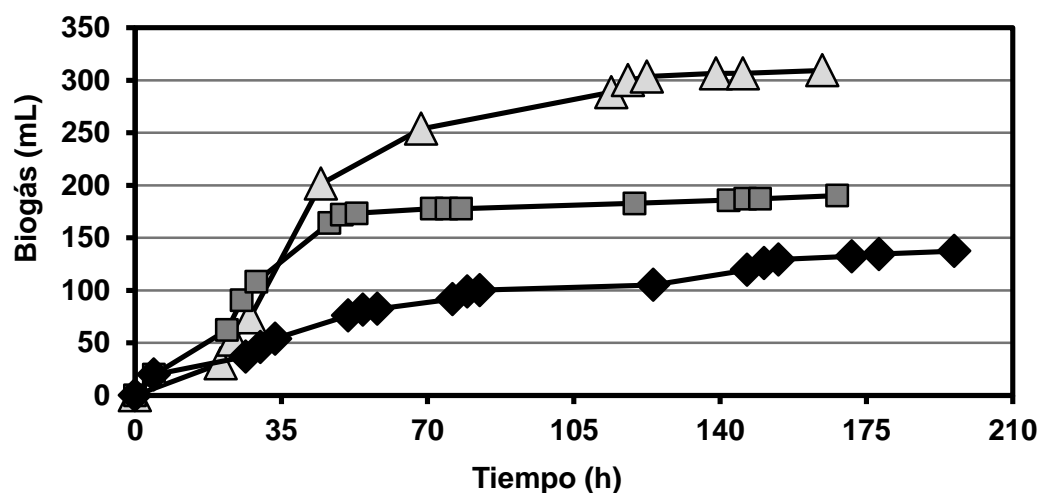


Figura 6. Perfiles de producción de biogás en metanogénesis sobrenadante (♦), vinaza cruda (■) y sedimentos (▲)

Con los perfiles obtenidos de producción de biogás se calcularon las velocidades de producción de biogás para cada ensayo (tabla 11). La velocidad de producción de biogás con la vinaza cruda fue de 3.39 mL/h y una actividad específica de 2.02 mL biogás/g SV * h. Para el sedimento la velocidad fue 4.58 mL biogás/h y su actividad de 1.34 mL biogás/g SV * h. Mientras que el sobrenadante registró una velocidad promedio de 0.66 mL biogás/h y una actividad promedio de 0.74 mL biogás/g SV * h.

Tabla 13. Velocidades y actividades específicas en metanogénesis

SUSTRATO	VELOCIDAD ESPECÍFICA (mL biogás/h)	ACTIVIDAD ESPECÍFICA (mL biogás/g SV *h)
Vinaza cruda	3.39	2.02
Sedimentos	4.58	1.34
Sobrenadante	0.79	0.89
	0.53	0.59

La tabla 14 muestra la eficiencia de remoción de sólidos en las cinéticas metanogénicas. Al igual que en la cinética acidogénica el sobrenadante fue el que alcanzó la mayor remoción de sólidos bajo condiciones metanogénicas (38.68%), pero en este caso no fue el que registró mayor producción de biogás, velocidad y actividad específica (figura 6, tabla 11). Con la vinaza, se alcanzó una eficiencia de remoción parecida al sobrenadante (32.2%) que puede justificar la producción de biogás, la alta velocidad y actividad específica. Para el caso del sedimento, que es el objetivo principal de este trabajo, fue la cinética en la que se registró la menor remoción de sólidos (16%) pero la mayor producción de biogás.

Tabla 14. Sólidos iniciales y finales en metanogénesis.

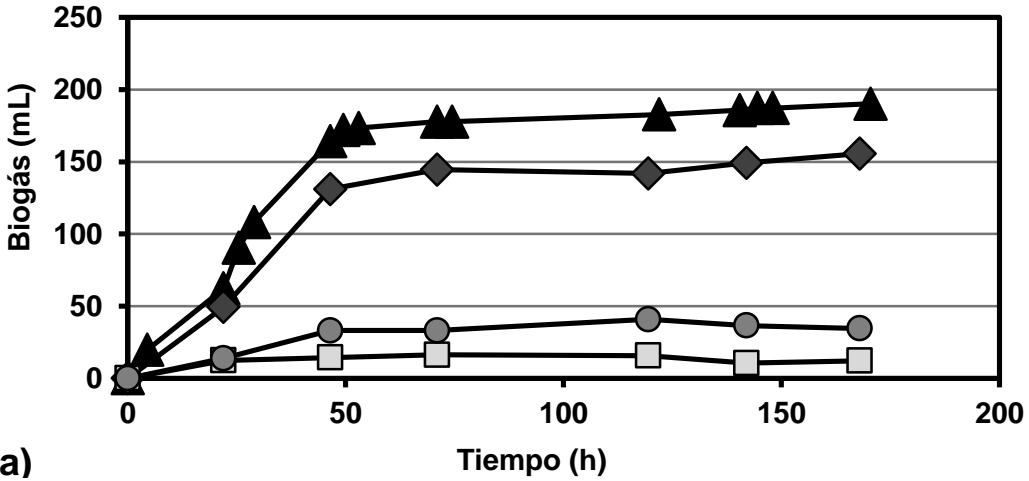
CINÉTICA METANOGÉNICA							
	SÓLIDOS INICIALES (mg/L)			SÓLIDOS FINALES (mg/L)			REMOCIÓN SV %
	ST	SF	SV	ST	SF	SV	
Vinaza cruda	38.08	12.66	25.42	28.90	15.90	12.99	32.21
Sedimentos	45.06	14.38	30.67	35.59	15.13	12.36	15.99
Sobrenadante	25.26	12.47	11.79	34.47	17.55	16.92	38.68

7.3.2.2 Volumen y composición del biogás

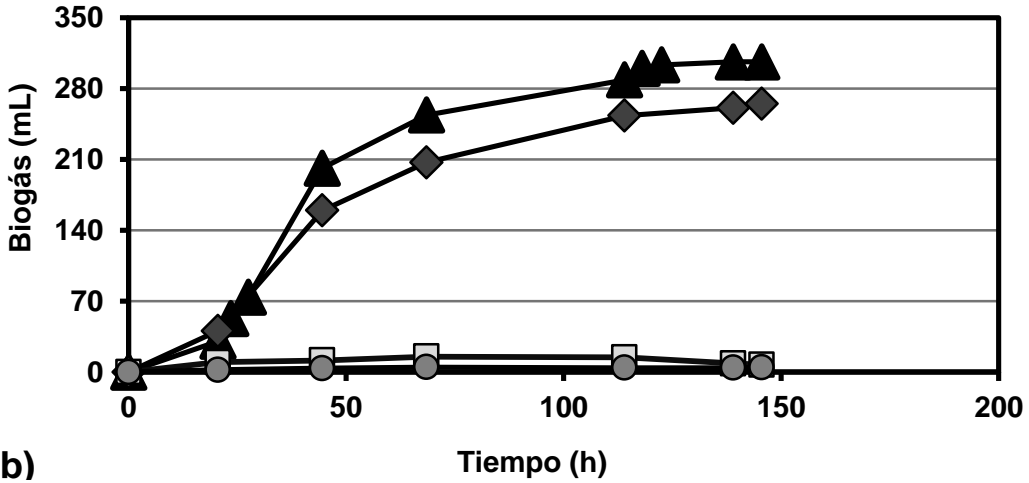
En la figura 7 se presentan los perfiles de producción de biogás así como su composición en las cinéticas metanogénicas; en la tabla 15 se reportan los volúmenes de biogás producido con los distintos sustratos, así como el porcentaje de los gases generados en cada una de las cinéticas.

Contrario a los perfiles obtenidos en condiciones acidogénicas, en metanogénesis la máxima producción de biogás se obtuvo con el sedimento, seguido de sobrenadante y por último la vinaza. Para todas las cinéticas el gas mayoritario fue metano con un 87.6% para el sedimento, de 81.8% y 80.8% para vinaza y sobrenadante, respectivamente. Esta producción puede ser debida a la degradación de los sólidos volátiles, el consumo de

alcoholes y AGV. Estos resultados son superiores a los reportados por Chamy y col. (2007), Cobos y Sierra (2007) y, España y col. (2012) quienes operan reactores UASB para tratar vinazas, obteniendo un contenido de metano del 65%, 72% y 74%, respectivamente.



a)



b)

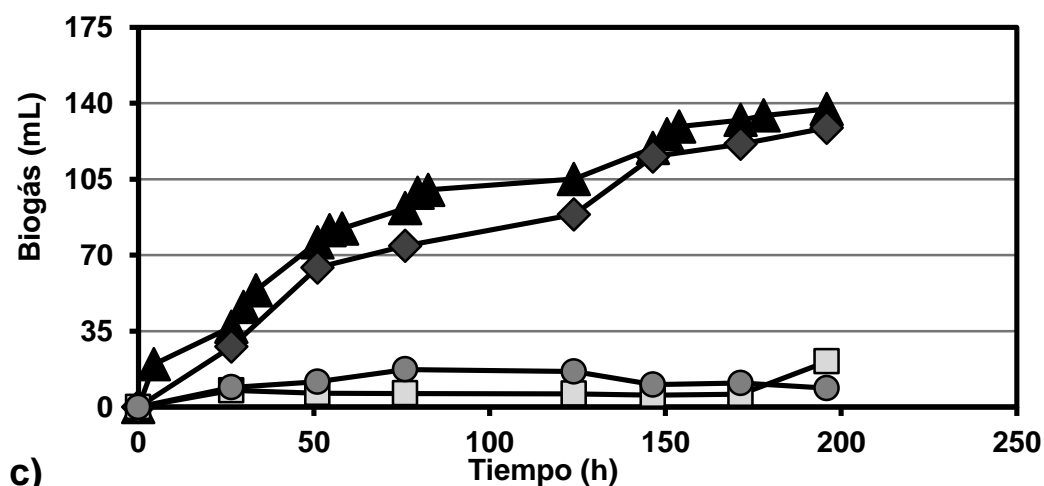


Figura 7. Perfiles de composición de biogás en metanogénesis
a) Vinaza cruda, b) sedimentos y c) sobrenadante.
biogás (▲), CO₂ (●), H₂ (■), CH₄ (◆)

Tabla 15. Volumen de biogás y porcentaje de CH₄ producido en la cinética metanogénica

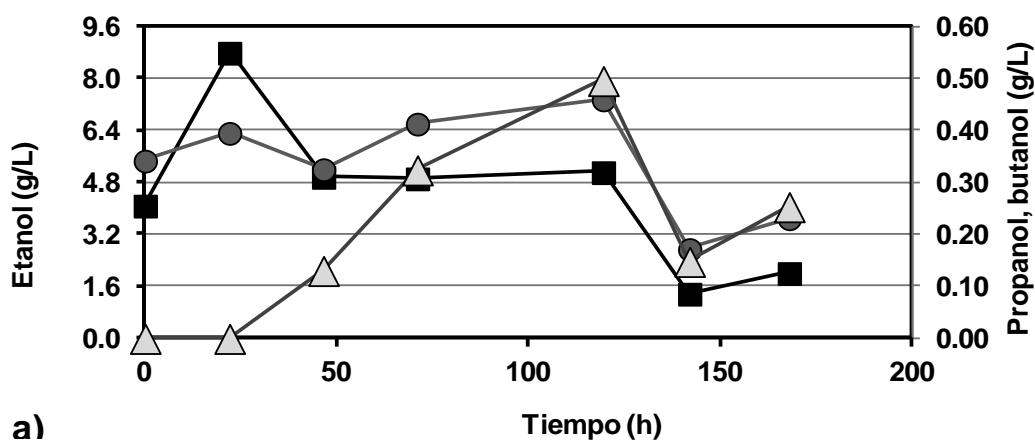
SUSTRATO	BIOGÁS (mL)	CH ₄ (%)
Vinaza cruda	190	81.80
Sedimentos	306	87.66
Sobrenadante	137	80.65

7.3.2.3 Perfil de alcoholes

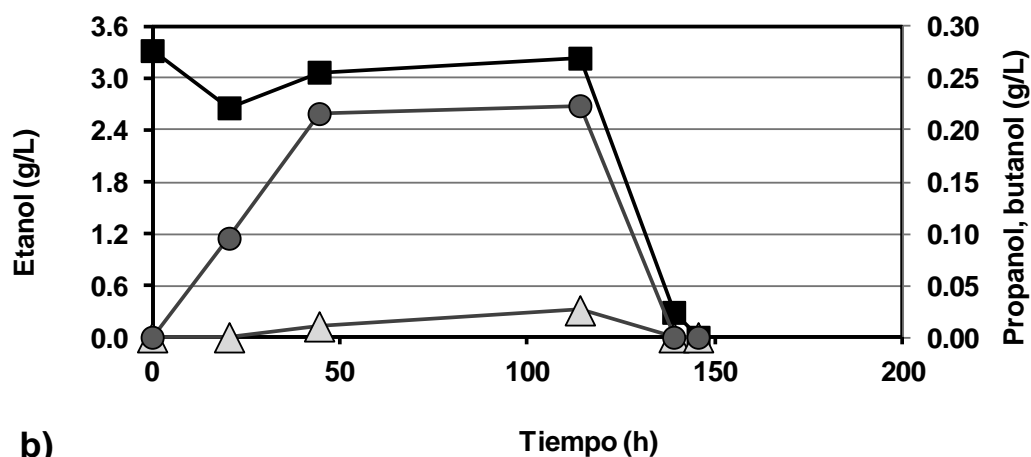
En la figura 7 se muestran los perfiles de alcoholes durante en las cinéticas metanogénicas. En la cinética con vinaza (figura 7a) la concentración de etanol y propanol se mantienen constantes, 5.12 y 0.45 g/L respectivamente, hasta las 119 horas de incubación, después de este tiempo la concentración de ambos alcoholes disminuye significativamente sin agotarse. Por otro lado se detectó la formación de butanol, que alcanzó su concentración máxima a las 119 horas (0.5 g/L), y se consume junto con los otros alcoholes, sin agotarse en el tiempo que duró el experimento.

En el sedimento (figura 7b) se puede observar que el etanol tiene un comportamiento similar al que se presentó con la vinaza, la concentración se mantiene constante en 3.0 g/L hasta las 114 horas de incubación, después de este tiempo es consumido completamente. Se detectó la formación de propanol alcanzando su máxima concentración a las 44 horas de incubación, siendo consumido completamente junto con el etanol, así mismo se detectaron trazas de butanol el cual también se consumió como los otros alcoholes.

En cuanto a la cinética con el sobrenadante, se detectan al inicio tanto etanol como propanol, 2.15 y 0.2 g/L respectivamente, los cuales fueron consumidos sin agotarse completamente al final de la experimentación. Se detectaron trazas de butanol (0.05 g/L) el cual se consumió junto con los otros alcoholes.



a)



b)

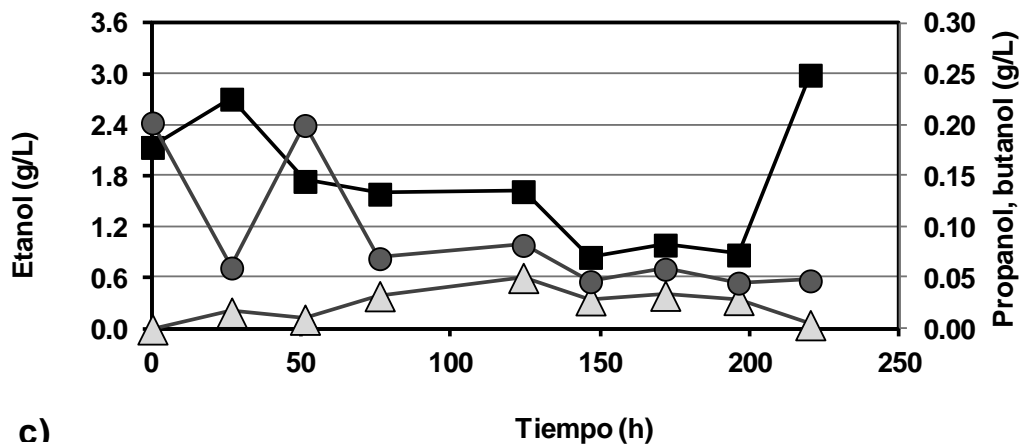


Figura 8. Perfiles de producción de alcoholes en metanogénesis. a) Vinaza cruda, b) sedimentos y c) sobrenadante.

Ethanol (■), propanol (●) y butanol (▲)

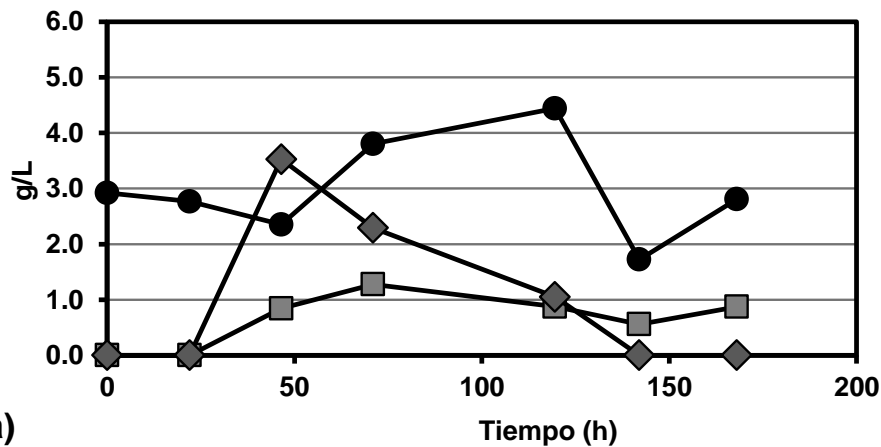
7.3.2.4 Perfil de AGV's

En la figura 9 se presentan los perfiles de AGV. En la figura 9a se muestra el perfil de AGV en la cinética con vinaza, se observa que el ácido acético presenta pequeñas fluctuaciones durante el periodo de incubación, sin llegar a consumirse, mientras tanto la producción de butírico alcanza un máximo a las 46 horas, 3.53 g/L, el cual se consumió completamente al final del ensayo. Por otro lado a diferencia de la cinética acidogénica, también se detectó la formación de ácido propiónico con un máximo de 1.28 g/L, manteniéndose sin cambios significativos hasta el final del periodo de incubación.

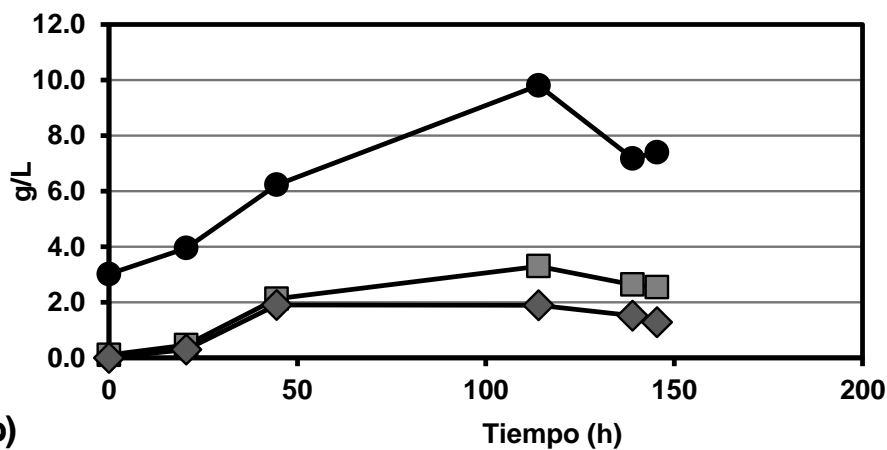
En el sedimento se observa que bajo condiciones metanogénicas se produjo una alta concentración de ácido acético (8.9 g/L), el cual no alcanzó a consumirse durante el tiempo de incubación quedando un residual de 7.39 g/L. Así mismo se detectó la formación de ácido propiónico y butírico, 3.3 y 1.89 g/L respectivamente, los cuales no fueron utilizados completamente.

Para el caso del sobrenadante, sucede un comportamiento parecido al observado con los alcoholes, dado que la concentración del ácido acético se mantiene sin incrementos significativos, consumiéndose completamente al final del periodo de incubación. Al igual que con los otros sustratos, también se detectó la formación de ácido propiónico, que se mantiene en concentraciones por debajo de 1.0 g/L y butírico entre 1.8 a 4.3 g/L.

España y col. (2012) encontraron que la vinaza alcohólica contenía un cierto porcentaje de ácido acético y propiónico, donde el ácido acético se fue consumiendo para la formación de CH_4 , mientras que ácido propiónico fue aumentando su concentración de 1.429 g/L a 2.283 g/L. Mientras que Siqueira y col. (2013) encontraron que durante la operación de un reactor de lecho fluidizado con vinaza de caña de azúcar como sustrato, los ácidos grasos predominantes en el efluente fueron ácido acético, propiónico y butírico con un porcentaje 38 a 62% durante la etapa metanogénica.



a)



b)

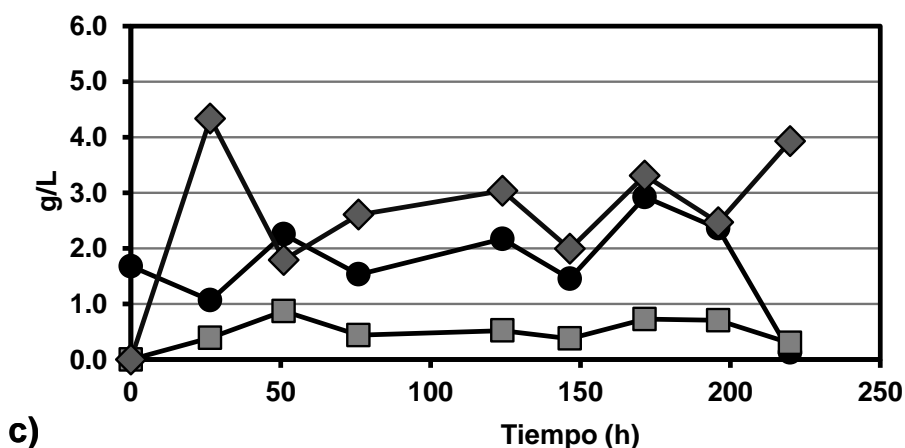


Figura 9. Perfiles de producción de AGV's en metanogénesis.
 a) vinaza cruda, b) sedimentos y c) sobrenadante.
 ácido acético (●), propiónico (■) y butírico (◆)

La tabla 16 muestra un resumen de los resultados obtenidos en las cinéticas metanogénicas. Los sedimentos presentaron la mayor producción de biogás, y un alto contenido de metano. Así mismo fue la cinética que presentó la mayor velocidad de producción de biogás. Mientras que la vinaza cruda y sedimentos obtuvieron un porcentaje similar en la producción de metano (81.80% y 80.65% respectivamente) comparada con los sedimentos, pero el volumen de biogás producido fue menor (190 y 137 mL). Sin embargo la eficiencia de remoción de sólidos aumentó en la vinaza cruda y sedimentos con respecto a acidogénesis.

Tabla 16. Resultados obtenidos en metanogénesis.

	% Remoción SV	Biogás producido (mL)	Actividad Especifica (mL biogás/ g SV * h)	Velocidad Especifica q (mL biogás/ h)	% CH ₄	AGV'S formados (g/L)	Alcoholes formados (g/L)
Vinaza Cruda	32.21	190	2.02	3.39	81.80	0.87	0.25
Sedimentos	15.99	306	1.34	4.58	87.66	8.21	0
Sobrenadante	38.68	137	0.89	0.79	80.65	4.22	3.0

8. CONCLUSIONES

- La vinaza cruda contiene alta concentración de materia orgánica: 67.47 g SV/L, de los cuales el 0.99% corresponde a materia orgánica suspendida y 9% a materia orgánica sedimentable (floculable). El 70% corresponde a materia orgánica disuelta (difícilmente floculable).
- El rendimiento de la coagulación-floculación de la vinaza con FeCl_3 fue en promedio de 20.14 mL. Por lo que se considera que el alto contenido de materia orgánica disuelta impide la coagulación-floculación-sedimentación de la materia orgánica.
- En acidogénesis: el sobrenadante produjo más de 600 mL de H_2 , lo cual aparentemente está asociado a la producción de etanol y consumo de ácido butírico en ésta cinética.
- En metanogénesis: el sedimento produjo la mayor cantidad de CH_4 (265 mL), el cual podría provenir de metanogénesis hidrogenotrófica, ya que se formó ácido acético (4.4 g/L) pero no fue consumido.
- El efecto del Fe^{3+} sobre las hidrogenasas solamente se logró apreciar en la cinética acidogénica del sobrenadante y en la cinética metanogénica del sedimento con la mayor producción de biogás.
- La implementación de un pre-tratamiento fisicoquímico en la vinaza cruda, genera un sedimento y un sobrenadante, los cuales favorecen a la producción de H_2 en el biogás durante la acidogénesis y la producción de CH_4 en la metanogénesis. El pretratamiento mejora la remoción de sólidos.

Recomendaciones

- Hace falta realizar más estudios enfocados en la optimización del proceso de coagulación/floculación/sedimentación para ser aplicados a vinazas alcoholeras.

9. BIBLIOGRAFÍA:

- Aguinaga, S. y Lucas R. (1996). *Manual de procedimientos analíticos para aguas y efluentes*, Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente. Dirección Nacional de Medio Ambiente. En línea: http://imasd.fcien.edu.uy/difusion/educamb/docs/pdfs/manual_dinama.pdf. (Consultado el 11/Diciembre/2015).
- Álvarez, A., García, R., Casares, I. y Jiménez R. (2007). *Posibilidades de aplicación de vinazas en suelos rojos de la Mancha*. *Revista Pilquen*. 8: 1-16.
- APHA-AWWA-WEF (1999). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th Edition. Baltimore, Maryland.
- Andia, Y. (2000). *Tratamiento de agua: coagulación floculación*. SEDEPAL, Lima-Perú. pág. 9 -10.
- Bernal, M., Bibiesca, C., Hernández, L., Castro, A. y Duran de Bazúa, C. (2002). *Efecto de la temperatura en tres reactores de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA) sobre la remoción de materia orgánica y la producción de metano utilizando agua residual (vinaza)*. XII Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ciencias Ambientales FEMISCA. Guanajuato, Mexico.
- Bylund, G. (1996). *Manual de industrias lácteas tetra pack processing systems*. Traducido por López G.A., Ed. Iragra S.A. Madrid, España. pág. 425.
- Campos, A. (2001). *Optimización de la digestión anaerobia de purines de cerdo mediante codigestión con residuos orgánicos de la industria alimentaria (Tesis Doctoral)*. Universidad de Lleida. Lleida, España. pág. 21-79.
- Chamy, R., Pizarro, C., Vivanco, E., Schiappacasse, M., Jeison, D., Poirrier, P. y Ruiz-Filippi, G. (2007). *Selected experiences in Chile for the application of UASB technology for vinasse treatment*. *Water Science & Technology*. 56(2):39-48.
- Cobos, Y. y Sierra, R. (2007). *Evaluación del potencial de la producción de biogás a partir de vinazas en un biodigestor anaerobio (Tesis de licenciatura)*. Universidad Industrial de Santander, COLOMBIA. pág. 18-34.
- Danesh, S., Oleszkiewics, J. A., (1997). *Use of a new anaerobic-aerobic sequencing batch reactor system to enhance biological phosphorus removal*. *War. Sci. Tech.* 3(1): 131-144.1991.

- España, E., Mijangos, J., Barahona, L., Domínguez, J., Hernández, G. y Alzate, L. (2011). Vinasses: characterization and treatments. *Waste Management & Research*. 29(12):1235-1247.
- España, E., Mijangos, J., Hernández, G., Dominguez, J. y Alzate, L. (2012). *Methane production by treating vinasses from hydrous ethanol using a modified UASB reactor. Biotechnology for Biofuels*. 5(82):1-9.
- Fajardo, C. (1997). *Producción de inóculos para reactores anaerobios (Tesis de maestría)*. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México D.F. México. pág. 1-58.
- García, A. (2006). *Posibilidades de uso de la vinaza en la agricultura de acuerdo con su modo de acción en los Suelos, Técnicaña*: 1-8.
- Gil, M., Sardinero, E., Garcia, P., Schnabel, I. y Garrido, J. (1986). *Continuous production of volatile fatty acids by acidogenesis of sugar beet vinasse. Environmental Technology Letters*. 7(1-12):479-486.
- Ginette, J. (2009). *La vinaza como suplemento nutricional en la producción animal (Tesis de licenciatura)*. Universidad Earth, Guácimo, Limón, Costa Rica. pág. 10-12.
- Kim, H. y Gadd, M. (2008). Anaerobic Fermentation. *En: Bacterial Physiology and Metabolism*. Ed. Cambridge University Press. USA. pág. 563.
- Lappa, K., Kandiylis, P., Bekatorou, A., Bastas, N., Kladouatos, S., Athanasopoulos, N., Kanellaki, M. Y Koutinas, A. (2015). *Continuous acidogenesis of sucrose, raffinose and vinasse using mineral kissiris as promoter. Bioresource Technology*. 188:43–48.
- López, I., Passeggi, M., Odriozola, M., Borges L. y Borzacconi, L. (2012). *Tratamiento anaerobio de vinaza de destilería de caña de azúcar*. Bioproa– Instituto de Ingeniería Química. pág. 1-10.
- Manisankar, P., Viswanathan, S. y Rani. C (2003). *Electrochemical treatment of distillery effluent using catalytic anodes. Green Chemistry*. 5: 270–274.
- Molina, C., Quiñonez, W. y Hidalgo, G. (2012). *Biodegradación anaeróbica de vinaza generada en la destilería Soderal y aprovechamiento energético del biogás como medio para bajar el impacto de gases de efecto invernadero (Tesis de maestría)*. Universidad Politécnica Salesiana. Guayaquil, Ecuador. pág. 6-22.

- Nunes, A., Wensel, J., Etchebehere, C. y Zaiat, M. (2014). *Effect of organic loading rate on hydrogen production from sugarcane vinasse in thermophilic acidogenic packed bed reactors. International journal of hydrogen energy.* 39: 16852-16862.
- Pant, D., Adholeya, A. (2007). *Biological approaches for treatment of distillery wastewater. Bioresource Technology.* 98: 2321-2334.
- Pérez, I. y Garrido, C.N. (2008). Tratamiento de aguas residuales, *Ingeniería Química.* 455: 148-150.
- Rivera, A., González, J, Castro, R., Guerrero, B. y Nieves, G. (2002). *Tratamiento de efluentes de destilería en un filtro anaerobio de flujo ascendente. Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* 18(3): 131-137.
- Rodríguez, A., Boroski, M., Shimada, N., Garcia, J., Nazaki, J. y Hioka, N. (2008). *Treatment of paper pulp and paper mill wastewater by coagulation-flocculation followed by heterogeneous photocatalysis. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* 194(1): 1–10.
- Rüdiger, O. (2009). *Preparación y caracterización de electrodos para la oxidación/reducción de hidrógeno basados en la actividad de las hidrogenasas (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid. Pág 7-11.*
- Sangave, P., Gogate, P. y Pandit, A. (2007). *Combination of ozonation with conventional aerobic oxidation for distillery wastewater treatment. Chemosphere.* 68: 32–41.
- Sarayu, M. y Bhavik, K. (2009). *Treatment technologies and potential applications. Journal of Hazardous Materials.* 163(1): 12- 25.
- Siqueira, L., Damiano, E. y Silva, E. (2013). *Influence of organic loading rate on the anaerobic treatment of sugarcane vinasse and biogas production in fluidized bed reactor. Journal of Environmental Science and Health, Part A.* 48(13): 1707-1716.
- Song, Z., Williams, I. y Edyvean R. (2004). *Treatment of tannery wastewater by chemical coagulation. Desalination.* 164: 249-259.
- Sträuber, H., Schröder, M. y Kleinsteuber, S. (2012). *Metabolic and microbial dynamics during the hydrolytic and acidogenic fermentation in a leach-bed process. Energy, Sustainability and Society.* 2(13): 1-10.

- Villalobos, F., Shuhua, V. y Poggi, H. (2009). *Disminución de la materia orgánica biodegradable presente en vinazas mezcaleras mediante digestión anaerobia (Tesis de licenciatura)*. Universidad tecnológica de la Mixteca. Oaxaca, México. pág. 1-15.
- Zayas, T., Romero, V., Salgado, L., Meraz, M. y Morales, U. (2007). *Applicability of coagulation/flocculation and electrochemical processes to the purification of biologically treated vinasse effluent*. *Separation and Purification Technology* 57(2): 270–276
- Zinder, S. (1993). *Physiological Ecology of Methanogens*. Ecology, Physiology, Biochemistry & Genetics, Ed. Chapman and Hall, pág. 128-206.
- <http://www.bvsde.paho.org/bvsaidis/aresidua/mexico/01336e14.pdf>
- http://www.uaemex.mx/Red_Ambientales/docs/memorias/Extenso/TA/EC/TAC-51.pdf

10. ANEXOS

10.1 Demanda química de oxígeno

Para la determinación de DQO en las muestras, se realizó una curva estándar de glucosa, para la cual se prepararon soluciones con glucosa a diferentes concentraciones. Posteriormente se adicionaron 2 mL de cada solución a un tubo Hach y 1 mL de solución digestora y 2 mL de solución catalizadora. Se dejaron en digestión a 150 °C durante 2 hrs, y después se enfriaron a temperatura ambiente. Las absorbancias se determinaron en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 620 nm. Por último se calculó la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el coeficiente de determinación (R^2) de la ecuación de la recta. Los datos obtenidos se utilizaron para estimar las concentraciones de DQO_{TOTAL} y $DQO_{SOLUBLE}$.

10.2 pH

Se tomó una muestra homogénea del lote de vinaza cruda en un vaso de precipitado de 500 mL, después de colocó el potenciómetro de la marca Thermo Scientific modelo Orion Star A215, y se obtuvo la concentración del pH.

10.3 Sólidos totales

Para conocer el contenido de sólidos totales, se utilizaron crisoles de porcelana, los cuales se colocaron en la mufla a una temperatura de 550°C por 30 minutos, después se pasaron a la estufa por 30 minutos y finalmente se colocaron en un desecador por 30 minutos, posteriormente fueron pesados en una balanza analítica para obtener su peso constante (peso 1). Enseguida se les adicionaron 25 mL de muestra (vinaza cruda, sedimentos o sobrenadante según fue el caso) y se dejaron en la estufa a una temperatura de 100°C durante 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se transfirieron al desecador por 30 minutos y se pesaron para obtener su peso (peso 2). Después se calcinaron a 550°C por media hora, se mantuvieron 30 min más en la estufa y por último se colocaron en el desecador y se pesaron (peso 3). El contenido de sólidos totales (ST), sólidos fijos (SF) y sólidos volátiles (SV) se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$ST \text{ (g/L)} = \frac{P2 \text{ (g)} - P1 \text{ (g)}}{\text{Volumen de muestra (L)}} \times \text{volumen de dilución (L)}$$

$$SF \text{ (g/L)} = \frac{P3 \text{ (g)} - P1 \text{ (g)}}{\text{Volumen de muestra (L)}} \times \text{volumen de dilución (L)}$$

$$SV \text{ (g/L)} = ST - SF$$

10.4 Sólidos suspendidos

Se realizó una dilución de 1:25 de vinaza cruda. Se utilizaron filtros de fibra de vidrio y charolas de aluminio, los cuales se colocaron en la mufla a una temperatura de 550°C por 30 minutos, después se colocaron en una estufa por 30 minutos y finalmente se pasaron a un desecador por 30 minutos, posteriormente fueron pesados en una balanza analítica para obtener su peso constante (peso 1). Enseguida se filtraron 50 mL (vinaza cruda, sedimentos o sobrenadante según el caso) en un matraz kitasato y una bomba de vacío; se retiran los filtros y se dejaron en la estufa a una temperatura de 100°C durante 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se transfirieron al desecador por 30 minutos y se pesaron para obtener su peso (peso 2). Después se metieron a la mufla a una temperatura de 550°C por 30 minutos, 30 minutos en una estufa y por último se colocaron en el desecador y se pesaron (peso 3). El contenido de sólidos suspendidos totales (SST), sólidos suspendidos fijos (SSF) y sólidos suspendidos volátiles (SSV) se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$SST \text{ (g/L)} = \frac{P2 \text{ (g)} - P1 \text{ (g)}}{\text{Volumen de muestra (L)}} \times \text{volumen de dilución (L)}$$

$$SSF \text{ (g/L)} = \frac{P3 \text{ (g)} - P1 \text{ (g)}}{\text{Volumen de muestra (L)}} \times \text{volumen de dilución (L)}$$

$$SSV \text{ (g/L)} = ST - SF$$

10.5 Sólidos disueltos totales

Se llevó a cabo una dilución de 1:25 de la vinaza cruda, se utilizaron cápsulas de porcelana, las cuales se colocaron en la mufla a una temperatura de 550°C por 30 minutos, después se pasaron a la estufa por 30 minutos y finalmente se colocaron en un desecador por 30 minutos, posteriormente fueron pesadas en una balanza analítica para obtener su peso constante (peso 1). Enseguida se les colocaron 50 mL de muestra (previamente filtrada mediante una bomba de vacío) y se dejaron en la estufa a una temperatura de 100 °C durante 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se transfirieron al desecador por 30 minutos y se pesaron para obtener su peso (peso 2). Después se calcinaron en la mufla a una temperatura de 550°C por 30 minutos, se pasaron a una estufa, por último se colocaron en el desecador y se pesaron (peso 3). El contenido de sólidos disueltos totales (SDT), sólidos disueltos fijos (SDF) y sólidos disueltos volátiles (SDV) se calcularon con las siguientes ecuaciones:

$$SDT \text{ (g/L)} = \frac{P2 \text{ (g)} - P1 \text{ (g)}}{\text{Volumen de muestra (L)}} \times \text{volumen de dilución (L)}$$

$$SDF \text{ (g/L)} = \frac{P3 \text{ (g)} - P1 \text{ (g)}}{\text{Volumen de muestra (L)}} \times \text{volumen de dilución (L)}$$

$$SDV \text{ (g/L)} = ST - SF$$

10.6 Sólidos sedimentables

Para conocer el volumen de sólidos sedimentables se vertieron en el cono de sedimentación 1000 mL de muestra perfectamente mezclada. Se dejaron sedimentar y se registró el volumen del sedimento a los 10 minutos.

10.7 Prueba de jarras

Para realizar la prueba de jarras se tomó una muestra de 450 mL de vinaza la cual se ajustó a un pH de 4.0 con HCl (1N). Se agregaron 2.42 g de FeCl₃ (1000 ppm) del agente coagulante disueltos en 50mL de vinaza cruda. Para mantener el pH a 4.0 durante la adición se utilizó NaOH (2M). Posteriormente se dejó la mezcla en agitación a 150 rpm por un minuto y a continuación se disminuyó la agitación a 50 rpm durante 15 minutos. Por último se vació la vinaza a un cono de sedimentación lentamente y se dejó reposar por 45 minutos. Se separó el sedimento del sobrenadante y se almacenaron en refrigeración para su posterior análisis.

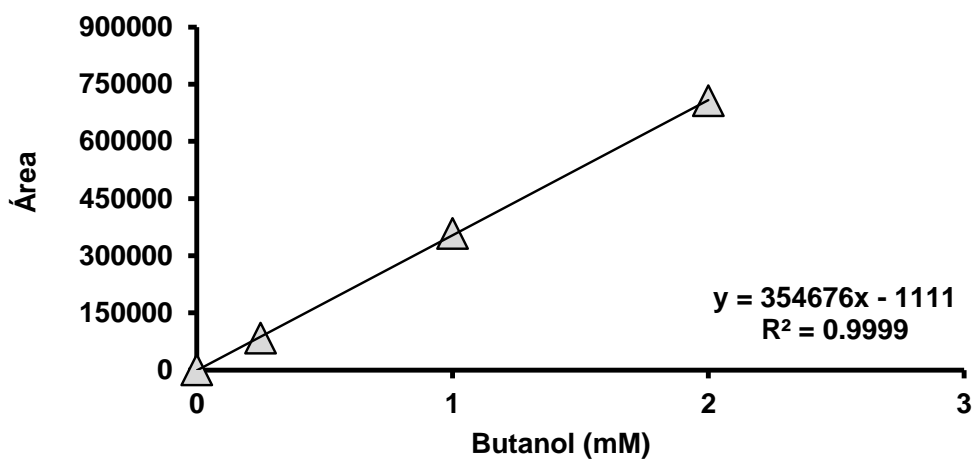
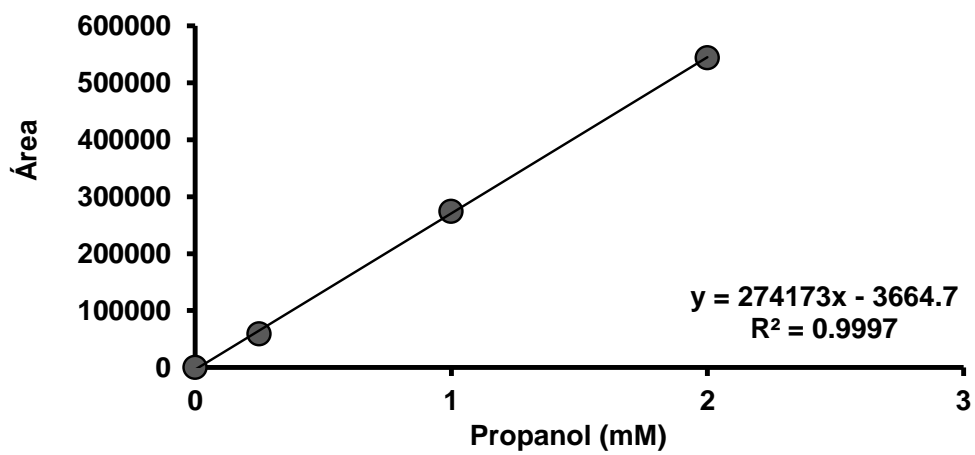
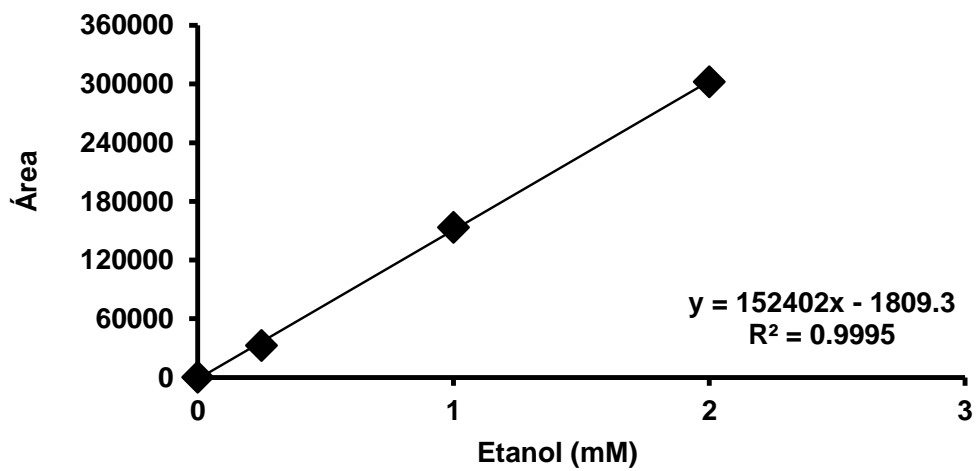
10.8 Porcentaje de biogás H₂ y CH₄

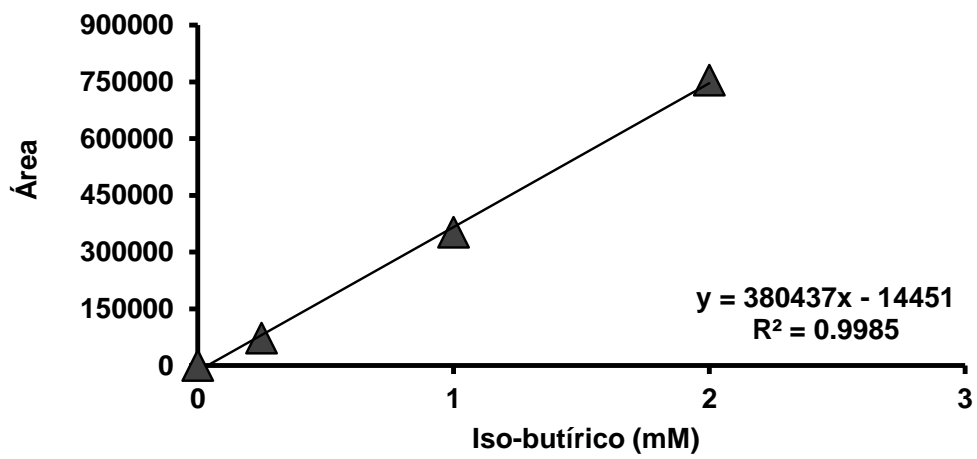
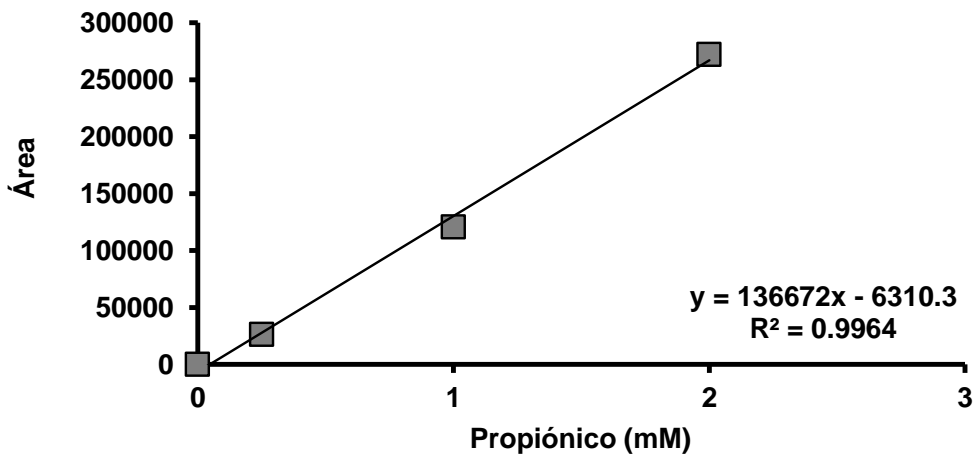
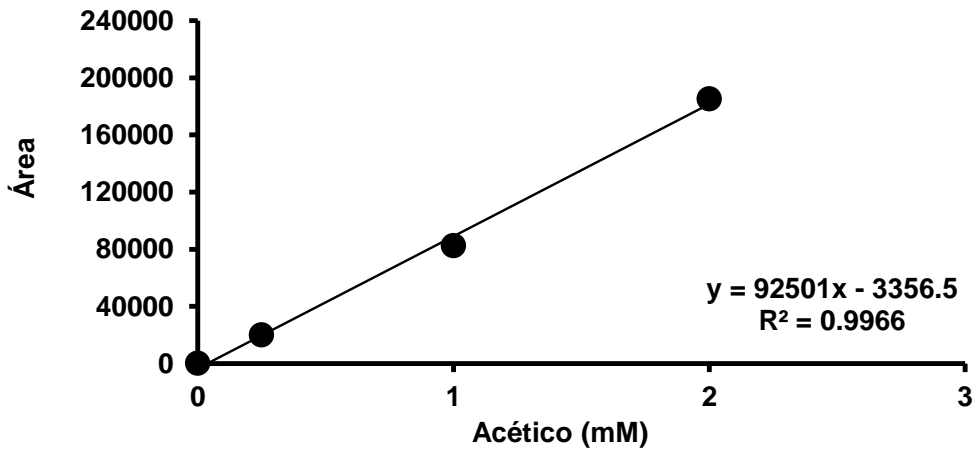
$$\% \text{ H}_2 = \frac{\text{Hidrógeno producido (mL)}}{\text{Volumen total de biogás producido (mL)}} \times 100$$

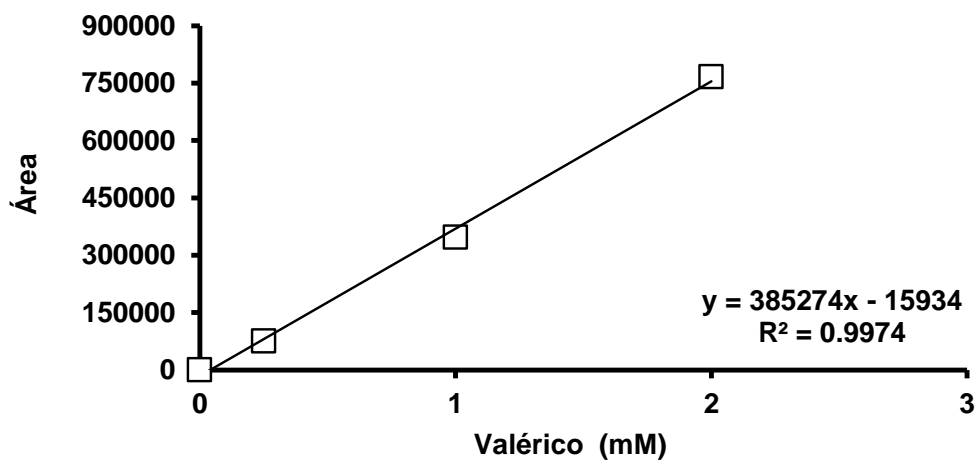
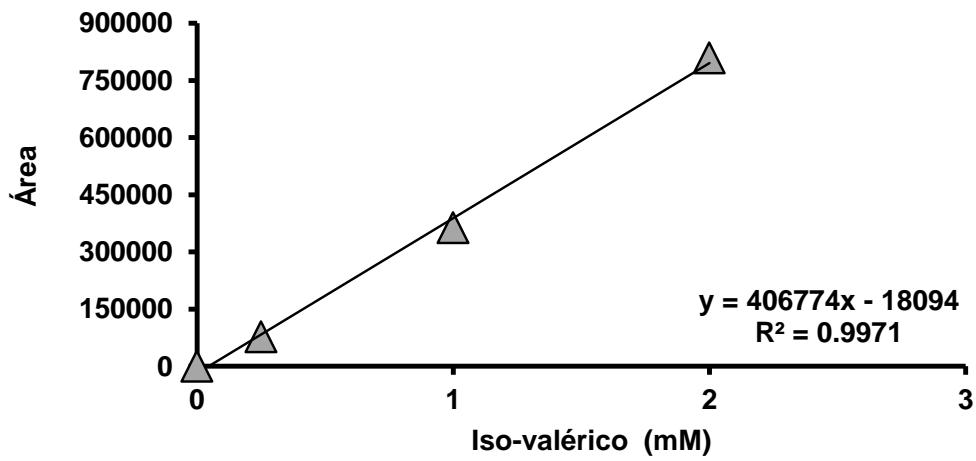
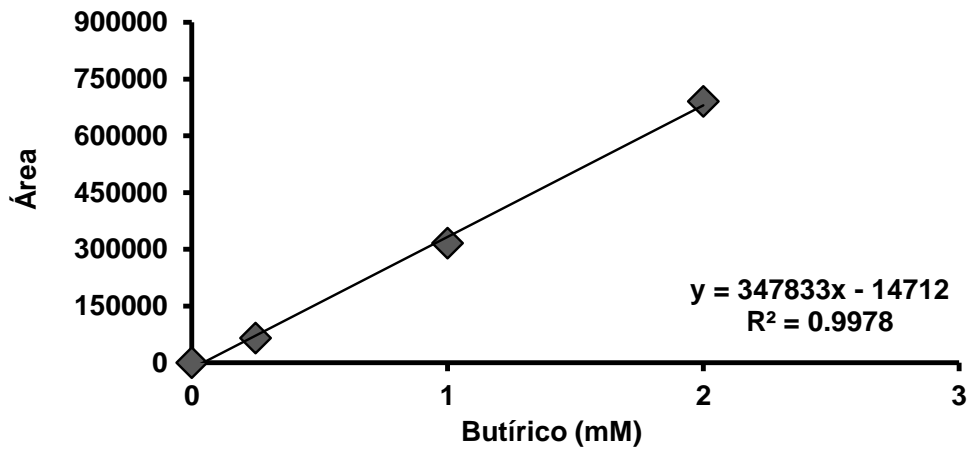
$$\% \text{ CH}_4 = \frac{\text{Metano producido (mL)}}{\text{Volumen total de biogás producido (mL)}} \times 100$$

10.9 Curva de estándar de alcoholes y ácidos grasos volátiles

Para la curva patrón, se preparó una mezcla de ácido Acético, Propiónico, Iso- Butírico, Butírico, Iso-Valérico, Valérico y Caproico; y una mezcla de alcoholes: Etanol, Propanol y Butanol en un intervalo de 0.25 a 2 μM para cada uno. A continuación se presentan las curvas de calibración con sus respectivas regresiones.







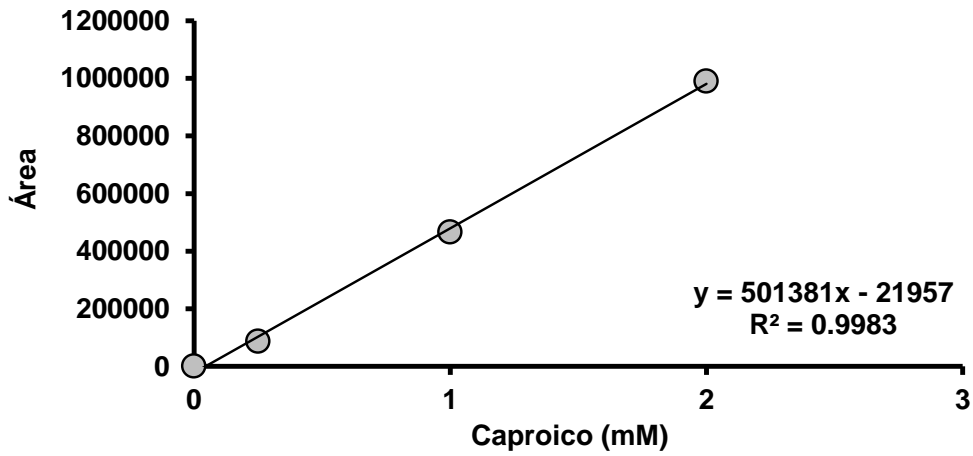


Figura 10. Curvas estándar de alcoholes y AGV's Etanol (■), propanol (●), butanol (▲), ácido acético (●), propiónico (■), (▲), butírico (◆), iso-valerico (▲), valerico (□), caproico (●).

iso-butírico