

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL
FACULTAD REGIONAL TUCUMÁN
MAESTRIA EN INGENIERIA AMBIENTAL

TRATAMIENTO ANAEROBICO DE VINAZA MEDIANTE UN REACTOR DE LECHO EMPAQUETADO

Tesis para optar al Título de Máster en Ingeniería Ambiental
Universidad Tecnológica Nacional – Facultad Regional Tucumán

Maestrando: Lic. en Biotecnología, César Federico Molina

Director de Tesis: Dr. Carlos Horacio Gusils León

Septiembre de 2013

RESUMEN

La digestión anaeróbica es la opción más adecuada para el tratamiento de efluentes con alta carga orgánica. Con esta tecnología además de lograr reducir la carga orgánica contaminante, se logra un beneficio económico con el aprovechamiento energético del biogás producido. A pesar de ello los reactores anaeróbicos no han tenido aún una amplia difusión en la industria tucumana.

El presente trabajo estudia el funcionamiento de un reactor anaeróbico de lecho empacado (RALE), como un sistema alternativo para la reducción de la carga orgánica contaminante de la vinaza.

Se construyó un RALE de flujo ascendente, utilizando un material plástico como soporte. Se lo inoculó con lodos floculentos con actividad metanogénica y fue alimentado con vinazas obtenidas de destilerías, a diferentes velocidades de carga. Se monitorearon los principales parámetros de funcionamiento y se determinó la cinética de reacción, la remoción de materia orgánica y la composición del gas obtenido.

Se concluyó que la vinaza producida en Tucumán es un buen sustrato para las bacterias anaeróbicas, que el RALE es una tecnología apropiada para su tratamiento y que el biogás producido es rico en metano, lo que le confiere valor agregado como fuente de energía.

ABSTRACT

Anaerobic digestion is the most suitable option for the treatment of effluents with high organic load. With this technology, besides achieving reduce pollutant organic load, an economic benefit is attained with the use of biogas energy produced. Nevertheless anaerobic reactors have not yet been widely deployed in Tucuman industry.

This paper studies the performance of an anaerobic packed-bed reactor (RALE) as an alternative system for the reduction of pollutant organic load of vinasse.

One upflow RALE was constructed using a plastic material as a support. It was inoculated with methanogenic activity's flocculent sludge and was fed, at different loading rates, with vinasse obtained from distilleries. The main operating parameters were monitored and the kinetics, removal of organic matter and gas composition obtained was determined.

It was concluded that the vinasse produced in Tucumán is a good substrate for anaerobic bacteria, the RALE is an appropriate technology for treatment and biogas produced is rich in methane, which gives it added value as an energy source.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo lo realice gracias a las personas que me rodearon durante su desarrollo, es posible dividir este grupo en dos, uno “el incondicional”, el de la familia, el de los viejos, que sin cuestionamientos apoyaron cada decisión que tomé en la vida y me brindaron su apoyo. Aquí también entra mi amada esposa, Ana y “su” nuestro hijo Pedro, siempre dispuestos a ayudarme y a aguantarme cuando sentía que las cosas me saturaban.

Por el otro lado están todas aquellas personas que de algún modo u otro colaboraron en la realización de esta tesis, sea con ayuda técnica o de la otra, que casi siempre es más valiosa. En este grupo entran mis compañeros y ex compañeros de trabajo, en especial a Claudia, por ser la que me catapultó en el tema ambiental, Daniel por sus consejos, que siempre ayudan a levantar la moral, los chicos del laboratorio y en especial a Tinki que me enseñó como, “nunca hay que darse por vencido, ni aún vencido”. Descansá pablín, te lo merecés, ¡luchaste como una fiera!. Te vamos a extrañar.

RECONOCIMIENTOS

También quiero reconocer a la Estación Experimental Obispo Colombres, por haber permitido que desarrolle el trabajo íntegramente en sus instalaciones, en especial los laboratorios de efluentes y de cromatografía. Al Ing. Quaia y al Dr. Carlos Gusil, por asistirme, uno en la parte práctica de los ensayos y el otro en darle forma al trabajo.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCION	4
1.1 HIPÓTESIS.....	5
1.2 OBJETIVO GENERAL	5
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
2. ANTECEDENTES	8
2.2.1. TRATAMIENTOS FISICO-QUIMICOS	10
2.2.2 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS.....	12
2.3. BIOQUIMICA DE LA DIGESTION ANAEROBIA.....	13
2.4. REACTORES ANAEROBICOS.....	20
2.4.1 REACTORES DE LECHO EMPAQUETADO	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1. METODOLOGIAS ANALITICAS	28
3.1.1. TOMA DE MUESTRAS.....	29
3.1.2 pH.....	30
3.1.3 SÓLIDOS TOTALES, FIJOS Y VOLÁTILES PARA MUESTRAS LÍQUIDAS	30
3.1.4 CONDUCTIVIDAD	31
3.1.5 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO	32
3.1.6 DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO)	33
3.1.7. DETERMINACION DE SODIO, POTASIO, CALCIO Y MAGNESIO.....	35
3.1.8 BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA (BA).....	36
3.1.9 DETERMINACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS.....	39
3.1.10 ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA (AME)	40
3.1.11. ALCALINIDAD	42
3.1.12. RELACIÓN α	44
3.2 SISTEMA DE TRATAMIENTO DE VINAZA.....	46
3.2.1 DISEÑO Y MONTAJE DE EQUIPOS.....	46
3.2.2 DESCRIPCIÓN DEL RALE PILOTO EXPERIMENTAL.....	46
3.3 CONSTANTE CINETICA DE DEGRADACIÓN DE MATERIA ORGANICA	51
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES	54
4.1. CARACTERIZACION DE LA VINAZA.....	54
4.1.2 DETERMINACIÓN DE LA BIODEGRADABILIDAD ANAERÓBICA	58
4.2 CARACTERIZACIÓN, SELECCIÓN Y ADAPTACIÓN DE LODOS PARA UTILIZAR COMO INÓCULOS.....	59
4.2.1 SITIOS MUESTREADOS.....	59

4.2.3. ACONDICIONAMIENTO DE LODOS PARA INOCULACION.....	65
4.3 SISTEMA DE TRATAMIENTO DE LA VINAZA CON UN REACTOR ANAEROBIO DE LECHO EMPAQUETADO	66
4.3.1 PUESTA EN MARCHA Y OPERACIÓN DEL REACTOR DE LECHO EMPAQUETADO.....	68
4.3.2 EVALUACION DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE VINAZA.....	71
4.3.2.1 ALCALINIDAD Y pH	71
4.3.2.2 RELACIÓN α	73
4.3.2.3 EFICIENCIA DEL RALE A DISTINTAS VCO	75
4.3.2.4 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA REMOCIÓN DE LA DQO.....	77
4.3.2.5 OBTENCION DE LA CONSTANTE CINETICA DE DEGRADACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.....	78
4.4 COMPOSICION DEL BIOGAS PRODUCIDO POR EL RALE	80
5. CONCLUSIONES	84
5.1 CONCLUSIONES DEL TRABAJO	84
5.2 RECOMENDACIONES.....	84
7. APENDICE I	98

INDICE DE FIGURAS

Figura 2.1. Rutas metabólicas y grupos microbianos involucrados en la digestión anaeróbica	12
Figura 2.2 a) Reactores de primera generación. b) Reactores de segunda generación. c) Reactor de tercera generación.....	20
Figura 2.3. Esquema de un reactor anaeróbico de Lecho empaquetado (RALE).....	21
Figura 3.1 Bolsas Tedlar para muestreo de gases.....	27
Figura 3.2. Flejes molidos, utilizados como material de relleno del RALE.....	45
Figura 3.3 Foto del RALE acompañado de un esquema con sus dimensiones.....	45
Figura 3.4 Detalle de la parte inferior del RALE, en la foto se muestran las vistas desde abajo (izq.) y perfil (derecha) del reactor, donde se observan la válvula de ingreso del líquido y la placa cribada.....	46
Figuras 3.5 Detalle de la parte superior del RALE. En la foto izquierda, puede verse la toma del sistema de recirculación y en la derecha se advierte la placa cribada superior por debajo del sistema de recirculación.....	46
Figura 3.6 foto de la secuencia de armado del RALE. Foto 1 caño de PVC cristal, utilizado como cuerpo del reactor. En 2, detalle de uno de los extremos del caño de PVC. En, 3 el reactor relleno con fleje molido y en 4 el reactor montado sobre la plataforma.....	47
Figura 3.7 Detalle de la conexión de alimentación al reactor.....	48
Figuras 4.1. Imágenes obtenidas de muestreo de lodos. Laguna 1: (A-B) se observa el burbujeo en la superficie de la laguna producido por la actividad microbiológica; Laguna 2: C) Vista del canal de conducción de mezcla y D) parte de los piletones de la planta de tratamiento; Laguna 3: (E-F) piletas de sacrificio; Laguna 4: (G) Canal que conduce la vinaza hasta laguna de almacenamiento.....	59
Figura 4.2. Curvas de producción de metano en el tiempo, para determinación de la Actividad Metanogénica Específica, de los lodos provenientes de distintas lagunas.....	62

Figura 4.3. comparación de las AME obtenidas de los sedimentos de las lagunas 1, 2, 3 y 4	62
Figura 4.4 Muestreo de los lodos de las lagunas A) Foto tomada durante el muestreo de lodos. B) Aspecto de los sedimentos recogidos del fondo de la “laguna 1”	63
Figura 4.5. Distintas vistas del reactor de mezcla completa, utilizado como sistema de acondicionamiento de lodos en el laboratorio. En la foto de la izquierda, puede apreciarse la cámara de incubación para mantener la temperatura a 30° C.....	64
Figura 4.6. Diagrama del sistema de tratamiento de vinaza con un reactor anaeróbico de lecho empaquetado.....	65
Figura 4.7 Sistema de inoculación de lodos en el RALE, a la izquierda el reactor de mezcla completa conteniendo lodos anaerobios es conectado al RALE; a la derecha el lodo ya está recirculando por el reactor.....	67
Figura 4.8. Monitoreo de los parámetros de funcionamiento (alcalinidad total y pH) del RALE, utilizando vinaza como sustrato.....	71
Figura 4.9. Evolución de la relación α y remoción de la DQO (%), durante el estado estacionario de cada etapa. A) Etapa I, B) Etapa II, C) Etapa III D) Etapa IV.....	73
Figura 4.10. Análisis de la variación de la remoción de la DQO % con el aumento de la carga orgánica (VCO).....	75
Figura 4.11. Variación de la remoción DQO% del RALE con la temperatura ambiente, durante su funcionamiento.....	76
Figura 4.12 Tasa de remoción volumétrica de la materia orgánica (RRS) en función de la concentración de la materia orgánica en el efluente del reactor (S0).....	77

INDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Reacciones de deshidrogenación. Llevadas a cabo por las bacteria sitróficas acetogénicas	14
Tabla 2.2 Principales características distintivas entre los dominios Archaea y Bacteria.....	16
Tabla 3.1. Parámetros determinados en cada etapa del estudio.....	26
Tabla 4.1a- composición físico-química de vinazas obtenidas de destilerías de Tucumán.....	52
Tabla 4.1.b- Análisis de la composición salina y la conductividad presente en las vinazas obtenidas en destilerías de Tucumán.....	53
Tabla 4.2- Caracterización fisicoquímica de los sedimentos de lagunas de tratamiento y sacrificio de vinaza.....	60
Tabla 4.3. Parámetros operacionales en el RALE durante su funcionamiento.....	69
Tabla 4.4 Valores promedios de relación α , para cada etapa, en el estado estacionario.	72
Tabla 4.5. Valores utilizados para el cálculo de la constante de degradación “K”.....	76
Tabla 4.6 Composición del biogás producido durante la última etapa de funcionamiento del RALE a una VCO de 12 kgDQO/m ³ d.....	78

INDICE DE ABREVIATURAS

θ : Tiempo de Retención de Sólidos

τ : Tiempo de Retención Hidráulico

AFNOR: Asociación francesa de Normalización

AGV: Ácidos Grasos Volátiles

AME: Actividad Metanogénica Específica

BA: Biodegradabilidad Anaeróbica

BSR: Bacterias Sulfatorreductoras

DBO: demanda Bioquímica de Oxígeno

DQO: Demanda Química de Oxígeno

FC: factor de conversión de ml de CH₄ a gDQO_r (ml CH₄/gDQO)

RAC: Residuo Agrícola de Cosecha

RALE: Reactor anaeróbico de Lecho Empaquetado

RMC: Reactor de Mezcla Completa.

SEMA: secretaría de Medio Ambiente de Tucumán.

SF: sólidos Fijos

SSF: sólidos Suspendidos Fijos

SST: Sólidos suspendidos Totales

SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles

ST: Sólidos Totales

SV: sólidos Volátiles

UASB: Reactor Anaeróbico de Manto de Lodos y Flujo Ascendente

INTRODUCCION

1

1. INTRODUCCION

La provincia de Tucumán posee una de las cuencas hídricas más importantes del país: la “Cuenca del Salí-Dulce” que recorre unos 800 Km y atraviesa 4 provincias (Butí y Cancino, 2005). Además es la más industrializada del Noroeste del país, cuenta con un parque industrial de aproximadamente noventa establecimientos industriales, quince de los cuales son ingenios azucareros y once de ellos tienen anexa destilería propia de alcohol. La industria sucro-alcoholera fue, desde sus comienzos, la actividad económica más importante de la provincia, así como también, una de las grandes aportantes de materia orgánica al cauce de sus ríos. Como consecuencia de años de explotación industrial, la situación de la cuenca Salí-Dulce se ha convertido en crítica, producto de la sobrecarga de esos contaminantes en los cuerpos receptores de agua. Estos altos niveles de materia orgánica han sido medidos en diversos ríos en Tucumán, entre ellos el Rio Salí (*Galindo et al., 2001*).

En los últimos tiempos las políticas ambientales del gobierno aumentaron los controles sobre los vuelcos de efluentes, principalmente de Vinaza a los cursos de agua, obligando a los industriales a buscar alternativas para su tratamiento. Hace algunos años la Secretaría de Ambiente de la Nación lanzó en conjunto con la Secretaría de Ambiente de la Provincia y empresas privadas un Plan de Reversión Industrial, mediante el cual, las partes se comprometían a disminuir el impacto ambiental negativo en la cuenca Salí-Dulce, contemplando el tratamiento de efluentes con las mejores tecnologías disponibles, aplicando tecnologías de producción limpia, procurando optimizar el consumo de materia prima, la reutilización del agua, el reciclado o la disposición final de los residuos sólidos (*SAyDS y SEMA, 2007*). Este acuerdo tiene como fin hacer cumplir la normativa vigente de vuelco de los efluentes (Resol. 30/09 SEMA), que contempla valores de DQO (demanda química de oxígeno) de 250 mgO₂/l, para vuelcos en aguas superficiales.

Una parte de un sistema integrado de tratamiento de efluentes involucra a los bioprocesos de depuración de efluentes líquidos, que conforman el denominado “tratamiento secundario”, proceso que remueve efectivamente la carga contaminante producida por la materia orgánica.

La digestión anaeróbica es la opción más adecuada para el tratamiento de efluentes con alta carga orgánica (*Rajeshwari et al. 2000*). Con esta tecnología además de lograr un beneficio ambiental al reducir la carga orgánica contaminante en los lechos de agua, se logra un beneficio económico con el aprovechamiento energético del biogás producido. A pesar de ello los reactores anaeróbicos no han tenido aún una amplia difusión en la industria tucumana.

1.1 HIPÓTESIS

La vinaza de destilería de alcohol ha demostrado ser una buena fuente de carbono y energía para las bacterias que forman el consorcio microbiano anaeróbico productor de biogás. También se ha demostrado la eficiencia de los reactores anaeróbicos de altas carga, del tipo UASB (flujo ascendente) para el tratamiento de vinaza. Por tal motivo, se podría inferir que la vinaza podría ser utilizada como sustrato en reactores anaeróbicos de alta carga como los filtros anaerobios con buena eficiencia en la reducción de la carga orgánica y en la producción de biogás rico en metano.

1.2 OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo es estudiar el funcionamiento de un reactor anaeróbico de lecho empaquetado (RALE), como un sistema alternativo para la reducción de la carga orgánica contaminante de la vinaza.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar la vinaza en sus parámetros ambientales
- Determinar fuentes potenciales de inóculo para el reactor
- Inocular, arrancar y evaluar el funcionamiento del reactor RALE
- Cuantificar y caracterizar el biogás obtenido.

ANTECEDENTES

2

2. ANTECEDENTES

2.1. VINAZAS

Se denomina con el nombre genérico de vinazas al sub producto acuoso contenido en la fracción no volátil de la destilación del mosto fermentado. Independientemente de cual sea el sustrato con el que se prepare el mosto (jugo o melado de caña de azúcar, melaza de caña o remolacha azucarera, etc.) y las condiciones de fermentación, las vinazas tienen una composición similar desde el punto de vista sanitario. Se puede decir que tienen en común, un alto contenido de materia orgánica e inorgánica proveniente de la lisis de las levaduras usadas en la fermentación y de los compuestos presentes originalmente en el mosto, que no son metabolizados por las levaduras, o que son subproductos de otras reacciones bioquímicas distintas a reacción de Pasteur (glucosa que se transforma en etanol y CO₂).

Las características sanitarias que mejor describen a estas vinazas son, que poseen un alto contenido de materia orgánica establecida como demanda química de oxígeno (DQO) (pueden llegar a alcanzar los 120.000 mgO₂/l); valores bajos de pH (menores de 5), alta cantidad de sólidos en suspensión y temperaturas elevadas (entre 80 y 90° C) (Castro-Gonzales y Duran de Buzúa; 2001). A su vez, presentan también un alto contenido de sales en solución, donde predominan los iones potasio y sulfato.

El volumen de producción estimado para un proceso convencional de fermentación/destilación es de 10 a 15 l de vinaza/l de alcohol 96° obtenido (Pieper H.J., 1990; Perera J.G.H., 2009)

Actualmente el incremento sostenido del consumo de bioetanol y la vigencia de la ley de combustibles ofrece una serie de oportunidades para la industria alcoholera. La producción de biomasa y el balance energético del cultivo de la caña en la producción de bioetanol, la posicionan por arriba de la mayoría de las materias primas disponibles, según la Cámara de Alcoholes de Argentina. En Tucumán, el sector industrial sucroalcoholero procesó durante 2012, alrededor de 14.100.000 T de caña destinadas a la elaboración de azúcar y alcohol, superando a la zafra anterior en un 3%. El incremento en la producción de alcohol para ese periodo fue de 25,6% (Rios. L, 2012), alcanzando valores de 100.000 m³ de etanol (Ministerio de Desarrollo Productivo), lo que significó una

producción estimada de alrededor de 1.200.000 m³ de vinaza para la zafra 2012.

Los altos volúmenes de vinaza sumados a las características sanitarias arriba mencionadas la convierten en un potencial contaminante para los recursos naturales de la provincia, ya que su mala disposición en los cuerpos de agua pueden producir graves desbalance en los ecosistemas acuáticos, debido a la, disminución del oxígeno disuelto, por el alto contenido de materia orgánica, o eutrofización de las aguas, por los elevados contenidos de nitrógeno y otras sales.

Su mala disposición en suelos, puede resultar en contaminación de las napas y cambio en las características productivas de los suelos afectando la capacidad de intercambio iónico de los mismos.

2.2. DISTINTAS FORMAS DE TRATAMIENTO DE LA VINAZA

Existen numerosas formas propuestas por distintos investigadores en el mundo, para el tratamiento y o disposición de la vinaza. Todas ellas responden generalmente a necesidades locales, tecnologías disponibles y la presión que pueda ejercer cada gobierno en función a sus políticas ambientales.

Los tratamientos van, desde aplicación en suelos, pasando por concentración e incineración en calderas, hasta tratamientos con bacterias para conseguir subproductos con valor agregado.

En la provincia de Tucumán a lo largo del tiempo, se llegaron a sugerir e incluso utilizar alguno de estos tratamientos, pero sin mayor éxito a la hora de generalizar su uso.

Una forma de clasificar los tipos de tratamiento que recibe la vinaza, es en físicos-químicos y biológicos. A continuación se describirán brevemente algunos métodos de tratamiento, que fueron utilizados o estudiados con más ahínco en la el ámbito local.

2.2.1. TRATAMIENTOS FISICO-QUIMICOS

Disposición de vinaza en suelo:

a) **Como fertilizante.** Uno de los usos más difundidos en Brasil para la utilización de la vinaza es su aplicación en cultivos de caña de azúcar como fertilizante (Lemos de Brito et al., 2005; Santos Manhaes, et al., 2003). Sin embargo por las características de los suelos en la provincia de Tucumán, su uso para fertirrigación está restringido, ya que se comprobó que la disposición de la vinaza en grandes cantidades, afecta ciertas propiedades del suelo como pH, conductividad eléctrica y potasio intercambiable (Scandaliaris et al, 1987; Perez Zamora et al., 1990). La dosis recomendada para evitar alteraciones desfavorables en suelos es, según *Dantur et al* (1996), de 200 m³/ha-año. Actualmente en la provincia de Tucumán existe un protocolo de disposición de vinaza en suelos aprobado por la Secretaria de Estado de Ambiente de la provincia (Res.040 SEMA, 2011) que da las pautas y recomendaciones necesarias para la utilización de la vinaza como fertilizante en el riego (Ploper y Morandini 2011). Se puede decir que esta es la metodología con mayor adhesión en la actualidad, por parte de los ingenios y destilerías de la provincia de Tucumán, para el uso de sus vinazas.

b) **Aplicación de Vinaza en suelos no productivos.** Una alternativa a la utilización de la vinaza como fertilizante, es su disposición en lotes de suelo con muy baja o nula capacidad productiva, por tener una alta concentración de sodio (sobre todo los situados al Este de la provincia de Tucumán). Esta práctica facilita la evaporación del agua del efluente y la acumulación en los primeros centímetros del perfil, de las sales y la materia orgánica presentes en la vinaza (Morandini M., 2011). La correcta aplicación, logra con el tiempo la recuperación de los suelos afectados, ya que la vinaza promueve la agregación fuerte con aumento de la permeabilidad, a la vez que disuelve los carbonatos, fosfatos y otros precipitados de calcio, permitiendo la liberación de los iones divalentes necesario para el desplazamiento del sodio del complejo de cambio (*García y Rojas, 2006*).

Esta práctica está siendo, también, utilizada en la actualidad en la provincia, pero tiene la desventaja que no aporta una solución a largo plazo, ya que las superficies de terrenos no productivos son acotadas y además se requieren

importantes inversiones para construir los caños de conducción del efluente a los sitios de disposición. Existe un protocolo aprobado por la SEMA (Res. 047 SEMA 2011) que establece las recomendaciones a seguir para los distintos tipos de aplicaciones de la vinaza en los suelos no productivos de la provincia.

Concentración e incineración de vinaza:

Consiste en la eliminación del agua de la vinaza, concentrando los sólidos hasta llegar a los 60° Bx. La concentración se realiza en un sistema a presión, compuesto por una unidad de evaporación de múltiples efectos, con cuatro vasos más el último duplicado, de película ascendente y tubos verticales. Utiliza el condensado del primer vaso para alimentar la caldera (como combustible) y el vapor del último para alimentar la columna de destilación (Perez Bermudez y Garrido Carra, 2009). Este método permite el aprovechamiento energético de la materia orgánica y la recuperación del 65% de las cenizas potásicas para ser utilizadas como fertilizantes. (Perera et al., 2007).

La limitación del uso de vinaza como fuente energética por la vía de incineración es la necesidad de realizar la incineración a temperaturas inferiores a 700 °C. A temperaturas superiores, las sales de potasio se funden y existiría el problema de manejo de las sales fundidas, las cuales tienen restricciones de seguridad. Para este caso subsistiría además el problema del alto requerimiento energético para concentrar la vinaza (Goyos y Bolaños., 2005). Otra desventaja de la concentración-incineración de la vinaza es que se necesita una inversión extremadamente alta para llevarla a cabo, lo que lo hace poco viable.

Una variante a esta alternativa es la incineración de una mezcla de vinaza, cruda o concentrada con residuos agrícolas de cosecha (RAC) y bagazo para la obtención de vapor en calderas bagaceras. Estudios realizados en la Estación experimental Obispo Colombres de Tucumán (Frank Colombres et al., 2013), determinaron que es posible quemar mezclas de bagazo pre-secado, residuo agrícola de cosecha (RAC) y vinaza, en calderas bagaceras convencionales, obteniendo una combustión estable, con un ahorro de bagazo y consumo de vinaza. La desventaja sería que aplicando ésta metodología solamente sería posible tratar una fracción de la vinaza producida.

2.2.2 TRATAMIENTOS BIOLÓGICOS

Alternativa o a veces complementariamente a los tratamientos fisicoquímicos se encuentran los tratamientos biológicos. Entran en esta clasificación todo tratamiento donde intervengan microorganismos para lograr la disminución de la carga contaminante de la vinaza. Así encontramos dos tipos principales de tratamientos biológicos; el aeróbico que se lleva a cabo en presencia de oxígeno y el anaeróbico, que como su nombre lo indica, ocurre en ausencia de oxígeno.

a) **Tratamiento Aeróbico.** El compostaje es un proceso biológico por el cual los microorganismos en presencia de aire utilizan el material orgánico como fuente de alimentación, obteniéndose como producto un material estable y uniforme con características beneficiosas para aplicar en suelos. El proceso requiere la presencia de bacterias y hongos cuyo desarrollo depende de las condiciones de temperatura, humedad, nutrientes, pH y concentración de oxígeno (*Albornoz et al., 2012*).

Si bien esta técnica no es aplicable a la vinaza líquida o concentrada propiamente dichas, sí pueden ser añadidas al proceso de compostaje de otros residuos, como ser cachaza ya que aportan fuente de energía para el desarrollo de los microorganismos, contribuyendo con materia orgánica, potasio, calcio, sulfatos y micronutrientes (*García y Rojas., 2006*). La adición de vinaza al compostaje de cachaza se hace desde hace más de 20 años en el mundo, con bastante éxito. Sin embargo las cantidades añadidas son generalmente menores de 1 m³ de vinaza por tonelada de cachaza. Esta proporción no permite dar una “solución” al manejo de las vinazas pues, representa una pequeña parte de la vinaza generada (*Conil P., 2006*).

Colombia es uno de los países con mayor experiencia en la co-compostación de cachaza-vinaza (*Castillo et al., 2010; Briseño Beltran C. O., 2007*), donde el proceso se utiliza hace varios años a escala industrial. En Tucumán, apenas existen algunos intentos aislados de algunas destilerías, por llevar a cabo este proceso utilizando la vinaza y en todos los casos hasta el momento han sido pruebas piloto, a escala reducida.

b) **Tratamiento Anaeróbico.** La digestión anaeróbica, es un proceso biológico basado en la transformación de la materia orgánica, a través de una serie de pasos bioquímicos, en un gas cuya composición principal es metano y

dióxido de carbono. En principio todos los compuestos orgánicos pueden ser degradados por esta vía, solamente hay que darles las condiciones apropiadas. La digestión anaeróbica viene siendo aplicada para el tratamiento de los residuos sólidos, incluidos residuos de actividades agrícolas, pecuarias, lodos de plantas de tratamientos de líquidos cloacales y residuos urbanos, así como en el tratamiento de efluentes de industrias agrícolas, alimenticias y bebidas, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, estimándose que millones de reactores anaeróbicos han sido construidos en el mundo (*Chernicharo, 2007*).

En América Latina desde la década de los 70 se ha ido incrementando la utilización de la digestión anaeróbica para el tratamiento de los efluentes tanto domésticos como industriales. Brasil y México son, en la región, los países que lideran en cantidad de reactores en uso (*Borzacconi y Lopez; 1994*).

Los primeros antecedentes de investigación de este tipo de tecnologías para el tratamiento de la vinaza en la provincia de Tucumán datan de los comienzos de la década de los 80, junto con el Plan Alconafta que promocionaba la producción de alcohol para su mezcla con las naftas. En esos primeros estudios comenzaron a probarse distintas configuraciones de reactores para el tratamiento anaeróbico de la vinaza a escala laboratorio e incluso un proyecto de planta piloto de 30 m³ con la configuración de un reactor anaeróbico de manto de lodos y flujo ascendente (UASB) (*Siñeriz et al. 1982; Sanchez Riera et al 1985; Siñeriz F. 1988*). En los años 90 con el fracaso del Plan Alconafta, se deja de lado el estudio del tratamiento de los reactores anaeróbicos y recién con las nuevas leyes de biocombustibles en los años 2006 y 2008 se vuelve a dar importancia a la alternativa de los tratamientos anaeróbicos para la vinaza (*Molina e Intartaglia 2010*).

En la actualidad existe una sola destilería en la provincia que cuenta con un módulo piloto de 50 m³ para el tratamiento de la vinaza y utiliza la configuración UASB.

2.3. BIOQUIMICA DE LA DIGESTION ANAEROBIA

La digestión anaeróbica es un proceso bioquímico en el cual un grupo de diferentes tipos de microorganismos, en ausencia de oxígeno molecular, promueve la transformación de compuestos orgánicos complejos (carbohidratos,

proteínas y lípidos) en productos más simples como metano, gas carbónico, gas sulfhídrico y amonio. Los microorganismos que participan en la digestión anaeróbica actúan por medio de reacciones específicas secuenciales, las cuales cuentan con bacterias especializadas en cada una de ellas (Foresti et al., 1999). Tanto en la naturaleza, como en la mayoría de los reactores industriales, los sustratos que deben biodegradarse son complejos y están compuestos por diferentes tipos de polímeros. Los microorganismos deben metabolizarlos para su uso, sea como fuente de energía o como fuente de metabolitos para biosintetizar todos los componentes celulares.

Las etapas que ocurren en la biodegradación anaeróbica, pueden resumirse en tres grandes fases: 1) hidrólisis, 2) fermentación y acetogénesis y 3) metanogénesis. Estas a su vez pueden ser subdivididas en varias rutas metabólicas con participación de varios grupos microbianos, cada uno con un comportamiento fisiológico diferente como se muestra en la figura 2.1.

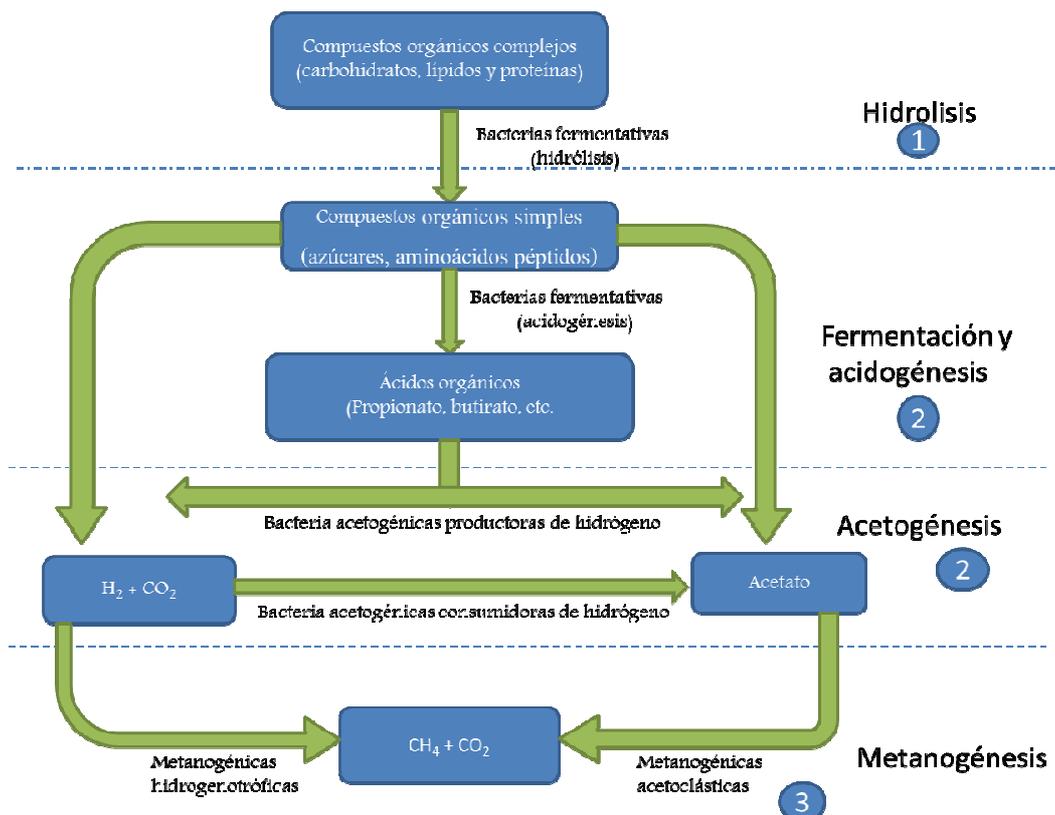


Figura 2.1. Rutas metabólicas y grupos microbianos involucrados en la digestión anaeróbica (adaptado de Lettinga et al., 1996)

Hidrólisis. Cuando el material a digerir está compuesto por materia orgánica compleja o polímeros, estos son atacados, hidrolizados y convertidos en moléculas simples, por la acción de enzimas extracelulares excretadas al medio o asociadas a la envoltura celular externa de ciertos microorganismos. De esta manera las moléculas simples pueden atravesar la pared celular de las células fermentativas y ser metabolizadas.

La velocidad de hidrólisis de los polímeros en anaerobiosis, es usualmente lenta. En ciertos polímeros como la celulosa o las grasas, suele ser más lenta que la velocidad del catabolismo de sus productos, tornándose esta fase, como la limitante del sistema (Chernicharo, 2007).

Los factores que más afectan la tasa de hidrolizado son según Lettinga (1996): la temperatura del reactor, el tiempo de residencia del sustrato en el reactor, la composición del sustrato (ej. Lignina, carbohidratos, proteínas o grasas), el tamaño de las partículas, el pH del medio, la concentración de amonio y la concentración de productos de hidrólisis.

Dentro de los géneros de bacterias con capacidades hidrolíticas en el proceso de digestión anaeróbica se destacan: *Clostridium*, *Micrococcus* y *Staphylococcus*, que son géneros productores de lipasas, para la degradación de los lípidos y ácidos grasos. *Bacteroides Butyvivrio*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, *Selenomonas Streptococcus Proteus*, *Peptococcus* y *Bacillus* quienes producen proteasas, para la degradación de proteínas y aminoácidos. Por último los géneros productores de amilasas para la degradación de polisacáridos y azúcares simples son *Clostridium Staphylococcus Acetivibrio* y *Eubacterium* (Chernicharo, 2007). El dominio relativo de uno u otro género va a depender de la composición del sustrato con el que se alimente el sistema.

Fermentación y acidogénesis / acetogénesis. Los productos solubles derivados de la fase hidrolítica son asimilados dentro de las células por un metabolismo fermentativo. La mayoría de los microorganismos acidogénicos fermentan azúcares simples, aminoácidos y ácidos grasos y producen diversos compuestos más simples como ser ácidos orgánicos (principalmente acético, propiónico y butírico), alcoholes (etanol), cetonas (acetona), H₂ y CO₂ además de nuevas células bacterianas.

Los microorganismos fermentativos son los primeros en actuar en las etapas secuenciales de degradación del sustrato y son los que se ven más beneficiados desde el punto de vista energético, por lo tanto son los que se tienen las velocidades de crecimiento más altas (Chernicharo, 2007).

Dentro de estos grupos de bacterias encontramos: bacterias anaeróbicas facultativas como las enterobacterias donde se encuentra *Escherichia.Coli*, que además de producir H₂ cumple un rol fundamental en la remoción de O₂; bacterias aerotolerantes, como las ácido lácticas, que producen a partir de los azúcares, ácido láctico y etanol según sean homo o heterofermentativas y bacterias anaeróbicas estrictas, como *Clostridium*, *Bacteroides*, *Propionibacterium* y *Selenomonas*, que fermentan el ácido láctico con producción de acetato e H₂ o acetato y propionato (Soubes 1994).

Las bacterias sintróficas acetogénicas, denominadas así porque su existencia está supeditada a la actividad de los microorganismos consumidores de hidrógeno, son las responsables de la oxidación de los compuestos orgánicos intermedios, como propionato y butirato en sustratos apropiados para los microorganismos metanogénicos (acetato, H₂ y CO₂) (Tabla 2.1).

Tabla 2.1 Reacciones de deshidrogenación. Llevadas a cabo por las bacteria sintróficas acetogénicas

REACCIÓN	ΔG_0 (KJ)*	$\Delta G'$ (KJ)**
$\text{Etanol} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	+9,6	-49,8
$\text{Butirato}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{Acetato}^- + 2\text{H}_2 + \text{H}^+$	+48,1	-29,2
$\text{Propionato}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetato}^- + \text{HCO}_3^- + 3\text{H}_2 + \text{H}^+$	+76,1	-8,4
$\text{Etanol} + 2\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{Acetato}^- + 2 \text{formiato}^- + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+$	+7,0	

* ΔG_0 y ** $\Delta G'$, energía libre estándar y en condiciones reales Fuente (Soubes, 1994).

Como muestra la tabla 2.1, la energía libre de esas reacciones en condiciones estándares es positiva y por lo tanto para que ocurran deben prevalecer concentraciones de sustrato y/o producto que modifiquen la energía libre tornándola negativa. La presión parcial de hidrogeno debe mantenerse

extraordinariamente baja para que las condiciones termodinámicas favorezcan la conversión de los ácidos volátiles y el alcohol en acetato. Esto ocurre dentro de los reactores anaeróbicos gracias a la presencia de las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas, que consumen rápidamente el hidrogeno formado y mantienen baja la presión parcial de hidrógeno en 10^{-5} atm (Speece, 1983). También participan la metanogénicas acetoclástica consumiendo el acetato producido. La acumulación de propionato es el primer índice de falla del funcionamiento de los microorganismos consumidores de H_2 (Soubes 1994). Este fenómeno de transferencia de hidrogeno entre especies, es crucial para la biotecnología anaeróbica, y es una simbiosis descubierta por Bryan et al. en 1967. Los géneros conocidos de bacterias sintróficas encontrados en reactores son *Syntrophobacter* y *Syntrophomona*.

La gran importancia de los microorganismos acetogénicos en el proceso de la digestión anaerobia, deriva del hecho de que el 60 al 70% de los electrones del sustrato son canalizados para la producción de acetato (McCarty 1981). Es por eso que la remoción de DQO de la fase líquida depende de la conversión del acetato en metano, la que es realizada por los microorganismos metanogénicos acetoclásticos (Chernicharo, 2007).

Metanogénesis. Es la última etapa de la conversión anaeróbica de compuestos orgánicos en CO_2 y CH_4 . Es llevada a cabo por microorganismos matanogénicos, hoy clasificados dentro del dominio Archaea. Tienen características diferentes de las eubacterias, tanto estructurales como bioquímicas (Ferry, 1993), en la Tabla 2.2, se mencionan las principales diferencias entre ambos dominios.

Las arqueas metanogénicas están distribuidas en cinco órdenes: *Methanobacteriales*, *Methanococcales*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales* *Methanopyrales*, todas dentro del filo *Euryarcheota*. El dominio Archaea posee más de 100 especies descritas (Vazoller et al. 1999).

El grupo *Archaea*, está constituido por microorganismos anaeróbicos estrictos y generalmente presentes en la naturaleza, en ambientes donde los aceptores de electrones como O_2 , Fe^{+3} , NO^{-3} y SO^{-4} , están ausentes o en muy bajas concentraciones. Las arqueas metanogénicas utilizan un número de sustratos

limitado, comprendidos entre, ácido acético, hidrógeno/ dióxido de carbono, ácido fórmico, metanol, metilaminas y monóxido de carbono.

Tabla 2.2 Principales características distintivas entre los dominios Archaea y Bacteria.

CARACTERÍSTICA	DOMINIO BACTERIA	DOMINIO ARCHAEA
Pared celular	Formada de péptido-glicano	No contiene peptidoglicano, posee un polisacárido similar llamado pseudopeptidoglicano
Membrana lipídica	Compuesta por ésteres de ácidos grasos, formando cadenas rectas	Compuesta por éter de ácidos grasos, formando cadenas largas y ramificadas
RNA polimerasa	Existe un único tipo, con una estructura cuaternaria simple (estructura tridimensional).	Existen varios tipos, que son estructuralmente más complejos, como consecuencia, algunos aspectos de la síntesis de proteínas son diferentes de los realizados por las bacterias

Fuente: Vazoller et al. 1999.

La metanogénesis puede ser considerada una forma de respiración anaeróbica donde el gas carbónico o el grupo metilo de compuestos C-1 o el carbono del grupo metilo del acetato, es el aceptor de electrones. Para conseguirlo poseen enzimas exclusivas como las hidrogenasas, con cofactores como el F₄₂₀ y el F₄₃₀ y cofactores transportadores de grupo metilo como la coenzima M, metaloproteínas que determinan necesidades peculiares de metales como Ni, Fe, Co y Se (Soube, 1994).

Ecológicamente las arqueas metanogénicas desempeñan un papel vital en ambientes anaerobios, por remover el exceso de hidrógeno de los productos de fermentación que se producen en las fases anteriores.

En función de la fisiología las arqueas metanogénicas se dividen en dos grupos principales, uno que forma metano a partir del ácido acético o metanol (metanogénicas acetoclásticas) y el segundo que produce metano a partir de H₂ y CO₂ (metanogénicas hidrogenotróficas).

Metanogénicas acetoclásticas

Aunque son pocas las especies metanogénicas conocidas capaz de producir metano a partir de ácido acético, estas son las que predominan en la digestión anaeróbica. Como se mencionó anteriormente, son las responsables de la producción del 60 al 70% de toda la producción del metano a partir de la reducción del grupo metilo del ácido acético.

Pertenecen a dos géneros principales *Methanosarcina* y *Methanosaeta* (*Methanothrix*) (Maestrojuan 1992). El género *Methanosaeta* se caracteriza por utilizar solamente acetato y forma filamentos alrededor de una vaina rígida. Se le atribuye una gran importancia en la formación de la trama bacteriana del gránulo. Los microorganismos pertenecientes al género *Methanosarcina*, son cocos que se agrupan en paquetes (Soubes, 1994) y tienen una afinidad mucho más baja por el acetato. De hecho la familia *Methanosarcinaceae* tiene géneros que son metilotróficos, es decir pueden usar metilaminas e hidrógeno como sustratos (Chernicharo, 2007).

En términos de competición y predominancia los géneros que pertenecen a la familia *Methanosaeteceae* se ven favorecidos cuando las concentraciones de acetato en el medio es menos de 1 mM y las pertenecientes a la familia *Methanosarcinaceae* tienden a predominar en concentraciones mayores a 1 mM de sustrato (Chernicharo 2007).

Metanogénica hidrogenotróficas

Los géneros más frecuentemente aislados en reactores anaeróbicos son: *Methanobacterium*, *Methanospirillum*, *Methanobrevibacter*, *Methanoculleus* y *Methanocorpusculum* (Leclerc y Delbes, 2004). Tienen una gran importancia en el equilibrio del sistema, ya que sin ellas no podrían transcurrir las reacciones de los grupos fermentativos acetogénicos, como se describió anteriormente.

Sulfogénesis

Además de las rutas metabólicas de los grupos microbianos descritos anteriormente en el proceso de digestión anaerobia se debe incluir además una fase de reducción de los sulfatos y formación de sulfuros, también llamada sulfogénesis. La predominancia de esta fase depende esencialmente de la composición química del sustrato (presencia significativa de sulfatos) y de las condiciones operacionales del reactor.

La sulfogénesis es el proceso por el cual un grupo de bacterias, anaerobias estrictas, llamadas sulfatoredutoras (BSR) utilizan el sulfato, sulfito u otros compuestos que contiene azufre como aceptor de electrones durante la oxidación de compuestos orgánicos. Tienen la capacidad de utilizar acetato e hidrogeno, lo que las torna posibles competidoras por el sustrato común con las metanogénicas. Sin embargo, debido al elevado número de bacterias sulfatoredutoras en los reactores anaerobios, aún en ausencia de sulfato, se postula que tienen un rol importante como acetogénicas deshidrogenantes (Shnell y Schink. 1992).

2.4. REACTORES ANAEROBICOS

Los reactores anaeróbicos pueden clasificarse, al igual que los aerobios en sistemas con biomasa suspendida y sistemas con biomasa fija. Los primeros también llamados convencionales o de primera generación, son los que han sido diseñados para trabajar a bajas cargas orgánicas (menores de 1 KgDQO/m³.d), generalmente sin agitación, con altos tiempos de retenciones hidráulicas y en regímenes semicontínuo o en lote (Noyola, 1994), los ejemplos clásicos de este tipo de sistemas son los digestores de lodos de mezcla completa, los tanque sépticos y las lagunas anaeróbicas, (Figura 2.2(a)).

En los sistemas con biomasa fija o de segunda generación, (Figura 2.2 (b)), los microorganismos se encuentran formando una película sobre un soporte inerte, o sobre sí misma, constituyendo agrupaciones esféricas conocidas como gránulos, que les permiten permanecer en el reactor y no ser lavadas con el efluente, es decir el tiempo de retención hidráulico (τ) se hace independiente del tiempo de retención de sólidos (θ). La primera versión de estos reactores fue el filtro anaerobio, que consistió en una columna rellena con rocas, sobre las que se adherían la biomasa anaerobia que eran atravesadas por un flujo ascendente del líquido a tratar (*Young y McCarty, 1969*). Luego aparecieron los sistemas de manto de lodos granulares, UASB (Upflow anaerobic Sludge Blanket), desarrollados por *Lettinga et al., (1980)* con características de película fija, pero sin material de soporte. Su principio de funcionamiento se basa en la capacidad de sedimentación de la biomasa generada en el interior del reactor lo cual contribuye a minimizar el lavado celular a altas velocidades de carga.

Existe una tercera configuración de reactores que algunos autores consideran como de tercera generación (*Chammy, 2005*), que son aquellos conocidos como reactor de lecho fluidizados o de lecho expandido, (Figura 2.2 (c)), donde la biomasa está adherida o fijada a partículas de arena, alúmina o plástico, permaneciendo estos núcleos de biomasa en suspensión expandidos por todo el interior del reactor optimizando el contacto entre el sustrato y la biomasa.

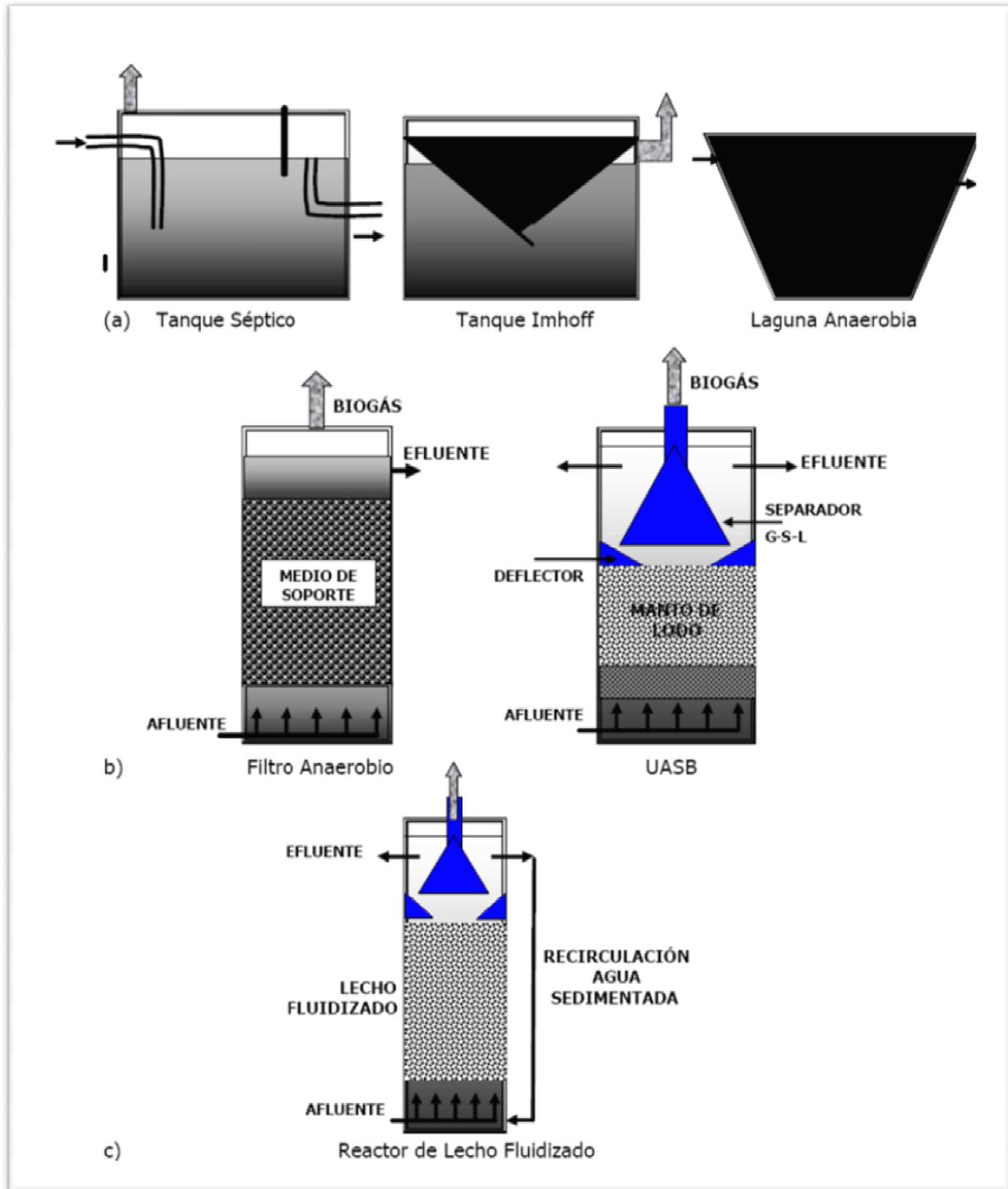


Figura 2.2 a) Reactores de primera generación. b) Reactores de segunda generación. c) Reactor de tercera generación.

2.4.1 REACTORES DE LECHO EMPAQUETADO

Los reactores con crecimiento bacteriano adherido en un lecho fijo se conocen con el nombre de filtro anaerobio. Estos están caracterizados por la presencia de un material de soporte en el cual los sólidos biológicos puedan adherirse o quedar retenido en sus intersticios. Esta biomasa posee un tiempo de residencia dentro del reactor mayor a 20 días (*Chernicharo, 2007*).

Los primeros trabajos con reactores anaerobios de lecho empaquetado (RALE) datan de los años 60 (*Young y McCarty, 1969*) y desde entonces han ido teniendo una aplicación creciente en el tratamiento de los residuos tanto doméstico como industrial. Estos filtros son habitualmente operados con flujo vertical tanto ascendente como descendente, siendo la primera configuración la más usada, (Figura 2.3).

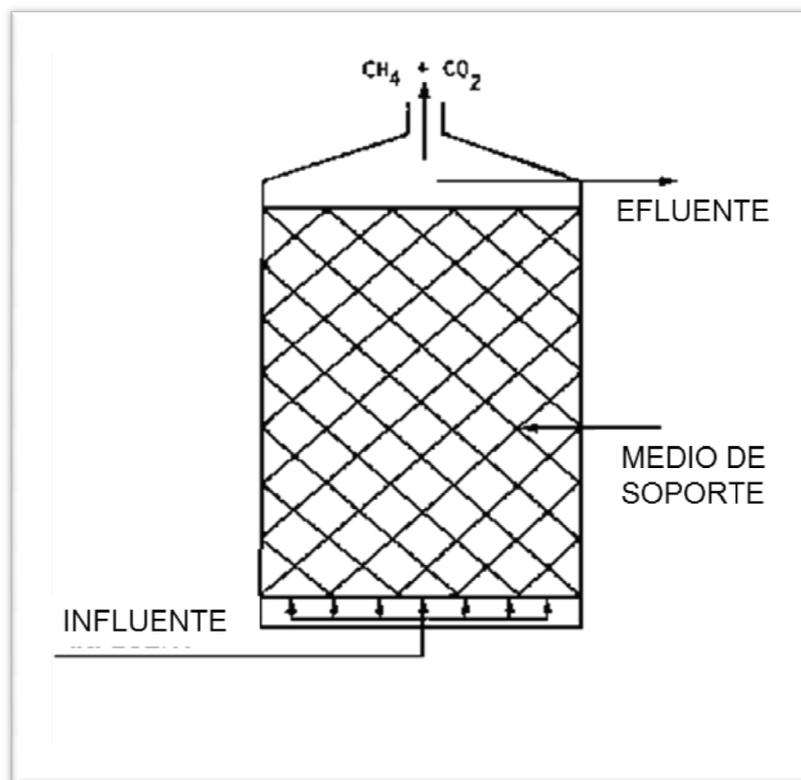


Figura 2.3. Esquema de un reactor anaeróbico de Lecho empaquetado (RALE)

Las características más importantes de los tratamientos biológicos son el tiempo de residencia de los microorganismos dentro del reactor, así como su concentración. Para los RALE el tiempo medio de residencia de los lodos es elevado debido a que se encuentran adheridos al soporte, además una cantidad significativa de biomasa permanece como flóculos suspendidos en los espacios vacíos entre las partículas del soporte, llevando a algunos investigadores a afirmar que la forma del material de soporte es más importante que el material que se use (*Chernicharo, 2007*).

Las principales limitaciones de los RALEs derivan del riesgo de obstrucción del flujo a través del soporte por colmatación de los intersticios por el excesivo crecimiento de la biomasa, riesgo que aumenta cuando menor es la proporción de huecos en el lecho (*Chammy, 2005*). Una estrategia para la prevención de este problema es la utilización del reciclo, aumentando las fuerzas hidráulicas dentro del lecho y evitando el atascamiento por la acumulación de biomasa (*Jhung y Choi, 1994*).

Los primeros materiales usados para relleno fueron piedra o gravilla, elementos que daban una muy baja proporción de huecos y se colmataban fácilmente con sólidos o biomasa. Actualmente existen una gran variedad de materiales y formas de soportes que garantizan la normal circulación del flujo.

La forma en que están dispuestos los lechos influye directamente sobre el desempeño de los reactores, así los lechos dispuestos en forma ordenada muestran rendimientos levemente superior a los utilizados en medios tubulares, pero significativamente menores a los lechos desordenados; debido a que el área de superficie de estos últimos es mayor (*Adams y McKinney, 1989*). *Bonastre y Paris (1989)* propusieron una serie de recomendaciones para seleccionar el soporte para la operación de filtros anaerobios, poniendo especial atención en los siguientes puntos:

- Mantener una alta relación volumen/área
- Tener textura rugosa para la adhesión bacteriana
- Asegurarse que es biológicamente inerte
- Garantizar una robustez mecánica
- Seleccionar apropiadamente la forma, porosidad y tamaño de partículas.

Con respecto a los parámetros de diseños de estos reactores *Young y Yang (1989)* proponen que los que más afectan la operación son: el tiempo de retención hidráulica, el tipo de soporte y la dirección del flujo y señalan la altura del reactor como un factor no tan importante, aunque se recomienda una altura mínima de 2 m.

La simplicidad y robustez de los RALEs los hacen ideales para el tratamiento de aguas residuales industriales. Las cargas alcanzadas en estos reactores son mucho mayores (0,2 a 23 KgDQO/m³.d) a las alcanzadas por contactores anaerobios (*Chammy, 2005*). En cuanto a la eficiencia de remoción de la materia orgánica como DQO, hay tantos reportes como sustratos probados. Por ejemplo investigaciones realizadas en plantas pilotos para tratamiento de líquidos cloacales reportaron un promedio entre 68 y 79% en tiempos de retención hidráulicas entre 6 y 8 h (*Pintos y Chernicharo, 1995*). Con efluentes industriales se reportaron eficiencias de remoción de 85% (*Sanchez Riera et al 1982*) utilizando efluentes de destilería de alcohol.

Usos de los RALEs

Existen una vasta cantidad de publicaciones de estudios sobre estos reactores, donde se prueba el comportamiento con diferentes sustratos y materiales de rellenos (*Borja et al 1996; Monserrat Perez et al. 1997; Seth et al 1995*), en las que se sostiene, que el material utilizado como soporte tiene una gran influencia en el funcionamiento del reactor.

En Brasil los RALEs son utilizados principalmente, para el tratamiento complementario del efluente de los tanques sépticos y tienen una configuración dispuesta por la norma brasilera NBR 13.696 (*ABNT, 1997*), que establece geometría, tipos de medios soporte e incluso la velocidad superficial máxima.

En Argentina no existen antecedentes de RALEs a gran escala para el tratamiento de los efluentes industriales, solamente hay registro de pruebas realizadas a escala laboratorio para el tratamiento de vinaza utilizando esta configuración de reactor y obteniendo reducciones de DQO entre 55 y 85% para velocidades de carga entre 3 y 30 KgDQO/m³.d (*Siñeriz F. et al., 1982*).

MATERIALES Y METODOS

3

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. METODOLOGIAS ANALITICAS

Para una mejor descripción de las actividades realizadas, se dividió el estudio en tres etapas, representadas en la Tabla 3.1, junto con las determinaciones analíticas realizadas en cada una de ellas. Las dos primeras etapas consistieron en la caracterización de las vinazas y de los lodos obtenidos de sedimentos de lagunas, para su empleo como inóculo en el reactor. La tercera etapa consistió en el diseño, armado y puesta en funcionamiento de un sistema de tratamiento empleando un reactor anaeróbico, el cual fue evaluado a partir del análisis de las corrientes a la entrada y salida del mismo.

Tabla 3.1. Parámetros determinados en cada etapa del estudio.

ETAPA		PARÁMETROS
I- Caracterización de vinazas		<ul style="list-style-type: none"> • pH • Sólidos totales, fijos y volátiles • Conductividad • DQO • DBO • Biodegradabilidad anaerobia • Metales (Na, K, Ca y Mg)
II- Caracterización de lodos		<ul style="list-style-type: none"> • pH • Alcalinidad • Sólidos suspendidos volátiles • Actividad Metanogénica Específica
III- Sistema de tratamiento anaeróbico	Alimentación al sistema de tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> • pH • DQO • Conductividad
	Salida del sistema de tratamiento	<ul style="list-style-type: none"> • pH • Conductividad • Alcalinidad • Relación α • Cuantificación del metano en biogás

3.1.1. TOMA DE MUESTRAS

Para cada parámetro se detallan: el fundamento del método utilizado, el procedimiento analítico y la expresión de los resultados. Además en el apéndice I, se encuentra información adicional de cada técnica (reactivos y preparación de soluciones, diluciones, etc).

Vinazas: este efluente sale del destilador a una temperatura cercana a los 100° C, por lo tanto se recogieron en bidones de 5 l de plástico termorresistente, y se transportaron al laboratorio en condiciones adecuadas para su análisis, que en todos los casos ocurrió dentro de las 24 horas.

Lodos de lagunas: Se tuvieron en cuenta los siguientes criterios para la selección de los sitios de muestreo: 1) lagunas de sacrificio o de tratamiento con efluentes de alta carga orgánica (vinaza); 2) más de 2 años de existencia y/o funcionamiento y 3) actividad microbiana anaeróbica (presencia de burbujas en la superficie). Las muestras se tomaron del fondo (1,5 a 2 m) de las lagunas en, frascos plásticos de bocas anchas y trasladadas al laboratorio en condiciones de refrigeración. Una vez en el laboratorio se conservaron en la heladera a 4° C sin el agregado de conservantes, hasta su análisis.

Entrada y salida del sistema de tratamiento: Se tomaron, al momento de analizarlos, 50 ml del efluente sin tratar (del recipiente de alimentación) y tratado (del toma muestra superior ubicado cerca de la salida del reactor).

Biogás: Se realizó con una bolsa tedlar (Figura 3. 1) de 1l, en la salida de gas del reactor. La bolsa se llenó hasta un 80% de su capacidad. Una vez capturado el biogás se cerró la válvula de la bolsa e inmediatamente se analizó.



Figura 3.1 Bolsas tedlar para muestreo de gases

3.1.2 pH

Para determinar el pH se utilizó el método potenciométrico.

Fundamento del método: La determinación potenciométrica del pH es la medición de la actividad de los iones hidrógenos mediante el uso de un electrodo patrón de hidrógeno y uno de referencia.

Equipos y materiales: Se utilizó un equipo multiparamétrico marca Hach modelo Sension 156, que posee un electrodo combinado y un termómetro incorporado para corregir la medición con la temperatura.

Procedimiento:

- Se colocan aproximadamente 20 ml de muestra en un vaso de precipitado de 50 ml.
- Se coloca el vaso en un agitador magnético y se le introduce una barrita magnética.
- Se enciende el agitador magnético
- Se enjuaga el electrodo, con agua destilada, se lo seca con papel secante y se lo introduce en la muestra a analizar. Hasta que se estabiliza la lectura.

La calibración del equipo se realizó con las soluciones buffer comerciales de la misma marca a pH 4, 7 y 10. Cuando no se usaba el electrodo permanecía en una solución de mantenimiento de KCl 4N.

Los valores de pH son adimensionales.

3.1.3 SÓLIDOS TOTALES, FIJOS Y VOLÁTILES PARA MUESTRAS LÍQUIDAS

Los sólidos totales (ST) de una muestra corresponden a toda la materia que queda como residuo de evaporación a 105°C. Para determinar los ST, sólidos fijos (SF) y sólidos volátiles (SV), se siguió el método 2540 E (APHA, 2005).

Fundamento del método: es un método gravimétrico que se basa en determinar las diferencias de peso de las muestras después de desecarlas a 105°C para los ST y a 550°C para determinar los S F. Los SV se determinaron por diferencia entre los ST y SF.

Equipos y materiales:

- Pipetas graduadas de 10 ml con pro-pipetas
- Crisoles de porcelana de 100 ml

- Estufa eléctrica a 103-105°C
- Desecador con un desecante con indicador coloreado de humedad (sílica gel)
- Balanza analítica de precisión 0,1 mg
- Mufla eléctrica a 550 ± 50°C

Procedimiento:

Se Homogeniza la muestra con una agitación enérgica.

- a) Se Toma la muestra con una pipeta 10 ml y se vierte en un crisol de porcelana seco y tarado (P₁).
- b) Se Lleva la muestra a estufa a 105°C hasta peso constante (12 h aproximadamente).
- c) Se enfría en una desecadora y se pesa en balanza analítica (P₂).
- d) Se coloca el crisol con la muestra seca en una mufla a 550°C por 2 h.
- e) Se deja enfriar en desecadora hasta peso constante y se pesa en balanza analítica, (P₃).

Expresión de resultados:

La concentración de sólidos totales, fijos y volátiles se obtienen mediante las siguientes expresiones:

$$ST = \frac{P_2 - P_1}{V}$$

$$SF = \frac{P_3 - P_1}{V}$$

$$SV = ST - SF$$

Dónde:

ST: Sólidos Totales (g/l), SF: Sólidos Fijos (g/l) y SV: Sólidos Volátiles (g/l)

P₁: Peso del crisol seco (g)

P₂: Peso del crisol con la muestra, luego de secada en la estufa a 105°C (g)

P₃: Peso del crisol con la muestra, luego de calcinada en mufla a 550°C (g)

V: volumen de muestra (l)

3.1.4 CONDUCTIVIDAD

Se utilizó el método 2510 B, para determinación de conductividad de soluciones acuosas (APHA, 2005).

Fundamento del método: Cuando los iones son sometidos a la acción de un campo eléctrico (por la aplicación de una diferencia de potencial) se mueven, en un sentido u otro, de acuerdo con su carga. En estas condiciones, se puede considerar a la disolución como un conductor electrónico homogéneo que sigue la Ley de Ohm. La conductividad eléctrica, determina la capacidad de una solución para conducir la electricidad y ésta es proporcional a la cantidad de sales disueltas.

Equipos y materiales: Se utilizó un equipo multiparamétrico marca Hach modelo Sension 156, con una sonda de conductividad de 4 polos, con un termómetro incorporado para corregir la medición con la temperatura.

Procedimiento:

- Se colocan aproximadamente 20 ml de muestra en un vaso de precipitado de 50 ml.
- Se coloca el vaso en un agitador magnético y se le introduce una barrita magnética.
- Se enciende el agitador magnético
- Se enjuaga el electrodo, con agua destilada, se lo seca con papel secante y se lo introduce en la muestra a analizar. Hasta que se estabiliza la lectura.

Expresión de resultados:

Los resultados son de lectura directa del equipo y están expresados en mS/cm

3.1.5 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

Se utilizó el método colorimétrico de reflujado cerrado, 5220 D del Standard Method (APHA, 2005).

La DQO es la medida del oxígeno equivalente a la materia orgánica que es susceptible de ser oxidada por un oxidante químico fuerte, en condiciones específicas de tiempo y temperatura.

Fundamento del método: La técnica se fundamenta en oxidar la muestra problema en una mezcla de ácido sulfúrico y un exceso conocido de dicromato de potasio como agente oxidante, calentando por dos horas a una temperatura de 150° C, el Cr^{+6} , (anaranjado), se reduce por la materia orgánica a Cr^{+3} , (color verde). Este cambio de color, es proporcional a la cantidad de cromo reducido y por ende a la cantidad de materia orgánica oxidada. La variación de

color se mide en términos de absorbancia a una longitud de onda de 600 nm, utilizando un espectrofotómetro.

Para conocer la concentración de la DQO en mgO_2/l que se corresponde con la absorbancia leída, se debió trazar previamente una curva de calibración, utilizando una solución patrón de biftalato de potasio. La composición de las soluciones y la preparación de la curva patrón se encuentran en el apéndice I.

Equipos y Materiales

- Digestor eléctrico automático para tubos de 25 mm de diámetro marca Hach
- Tubos de digestión, de borosilicato con tapa rosca resistente al calor y contratapa de teflón de 12 ml de capacidad y 25 mm de diámetro.
- Pipetas automáticas de 100 a 1000 μl y de 1 a 5 ml.
- Pipetas graduadas de 1, 5 y 10 ml, con pro-pipetas.
- Espectrofotómetro marca Hach, modelo, DR 2800.
- Solución digestora (A) y solución catalítica (B), ver composición en el apéndice I.

Procedimiento

Determinación de la DQO

- a) Se toma una cantidad adecuada de muestra homogenizada, para preparar una dilución tal, que la DQO esperada caiga dentro del rango de lectura de la curva cargada en el espectrofotómetro.
- b) Se agrega, por cada tubo de digestión, 1,5 ml de solución digestora (A), 3,5 de solución catalítica (B) y 2,5 ml de muestra diluida.
- c) Los tubos se cierran herméticamente y se los coloca en el digestor por 120 minutos a 150°C .

Expresión de resultados: los resultados se obtienen por lectura directa del espectrofotómetro en mgO_2/l . Para una correcta lectura de los ensayos cada dato debe multiplicarse por la debida dilución de la muestra

3.1.6 DEMANDA BIOQUIMICA DE OXIGENO (DBO)

En este estudio, se utilizó el método respirométrico 5210 D (APHA, 2005). El mismo consistió en incubar las muestras por cinco días en condiciones específicas con soluciones nutritivas e inóculo de microorganismos. Las

soluciones utilizadas, así como las interferencias del método y las diluciones utilizadas se describen en el apéndice I

Fundamento del método: El método respirométrico provee la medida directa del oxígeno consumido por los microorganismos de un ambiente saturado en oxígeno, en un recipiente cerrado en condiciones de temperatura y agitación constantes.

Equipos y Materiales.

- Equipo BODTrack® (marca Hach)
- sellos (tapones)
- botellas ambar de 500 ml
- agitadores magnéticos
- embudo
- probetas de vidrio de 100 ml
- vasos de precipitación de 500 ml
- pipetas de 10 ml
- pipetas de 25 ml
- Pro-pipetas
- Grasa para sellar

Procedimiento

- a) En una probeta de 100 ml, se realizan diluciones apropiadas de la muestra, como se indica en el Apéndice I, en la tabla 1.
- b) Se agregan, en la misma probeta, las soluciones nutritivas para un desarrollo óptimo de las bacterias de acuerdo a la tabla 2 del apéndice I.
- c) Se agrega con una pipeta, la cantidad de inóculo necesaria según la tabla 1 del Apéndice I.
- d) Las probetas se llevan a volumen con agua destilada.
- e) Se Transfiere el contenido de la probeta en una botella Bodtrack. Se Coloca el agitador magnético de 3,8 mm. Se engrasan los tapones de hule y se los coloca sobre la boca de los frascos bodtrack.
- f) Se colocar cuidadosamente LiOH en el espacio dentro del tapón de hule. Si algo de Litio cayera dentro del frasco, se debe descartarlo y armar uno nuevo.

- g) Se Ponen los frascos en el chasis del equipo Bodtrack, se conectan las tuberías a cada una de las muestras y se cierran firmemente.
- h) Se coloca el equipo dentro de la incubadora a $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Se enciende el instrumento y se aseguran que todas las bandas agitadoras estén girando.
- i) Se configura el equipo para la lectura, según el tiempo y la concentración esperada.
- j) Se realizan lecturas cada 24 h dejando correr la prueba por 5 días.
- k) Los resultados de cada frasco se leen, en la pantalla del equipo, en el canal correspondiente. De acuerdo a la dilución realizada (tabla 1 del apéndice I), el resultado se corrige de la siguiente manera:

$$DBO (mgO_2/l) = DBO(\text{leída en el instrumento}) \times \text{factor de dilución}$$

Luego

$$DBO (mgO_2/l) = A - \left[B \cdot \left(\frac{SA}{SB} \right) \right]$$

Dónde:

A= DBO corregida de la muestra inoculada

B= DBO corregida del blanco de la muestra

SA= volumen del inóculo de la muestra

SB= volumen del inóculo del blanco

Expresión de resultados: Los resultados se expresan en mgO_2/l .

3.1.7. DETERMINACION DE SODIO, POTASIO, CALCIO Y MAGNESIO

La determinación de los metales (K, Na, Ca y Mg) en vinaza, se realizó por espectrometría de absorción atómica. Se utilizó una adaptación del método de llama directa aire/acetileno, 3111 B del Standar Methods (2005) (Protocolos internos de análisis de laboratorio de metales EEAOC). Los ensayos se realizaron en el laboratorio de metales, perteneciente a la sección Química de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC)

Fundamento de la técnica: El método consiste en atomizar una muestra sobre una llama. Los haces de luz emitidos por ésta, atraviesan un monocromador y llegan al detector, que mide la cantidad de luz absorbida por el elemento atomizado en la llama. La cantidad de energía a cierta longitud de onda,

absorbida por la llama es proporcional a la concentración del elemento en la muestra.

Equipos y Materiales: Se utilizó un espectrómetro de absorción atómica modelo AAnalyst 100 marca PerkinElmer y para la digestión de la muestra de vinaza se utilizó un digestor de Microondas modelo MW3000 marca Anton-Paar.

Procedimiento

Las muestras de vinaza fueron digeridas en medio ácido nítrico con un dispositivo microondas con control de presión y temperatura en cada vaso de digestión.

Para la determinación de los iones Calcio y Magnesio, se utilizó como supresores de ionización en medio ácido clorhídrico, KCl 0,5 % y Lantano 5 %. Se utilizó una lámpara de cátodo de hueco con longitudes de onda $\lambda = 422,7$ nm y $\lambda = 285,2$ nm, para calcio y magnesio respectivamente.

Para el ion Na se utilizó como supresor de ionización, un medio ácido clorhídrico con, KCl 0,5 % y una lámpara de cátodo de hueco Na a una $\lambda = 589,0$ nm

Para el potasio, se utilizó como supresor de ionización el Lantano 5%, y la lectura se realizó a una longitud de onda de 766,5 nm.

3.1.8 BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA (BA)

El propósito de este ensayo es determinar la fracción de DQO de un agua residual que puede ser degradada anaeróbicamente. La determinación de BA se realizó de la forma explicada por Field et al., (1988).

Fundamento del método: La determinación de la biodegradabilidad de un sustrato permite estimar la fracción de la DQO que puede ser transformada potencialmente en metano y la DQO recalcitrante que queda en el efluente. Para esto se pone en contacto el agua residual con lodo anaerobio, y se monitorea la producción de biogás.

Equipos y materiales

- a) viales de 100 ml con boca para tapones de goma de 2 cm
- b) tapones de goma de 2 cm de diámetro
- c) precintos metálicos para cerrar herméticamente los viales
- d) selladora, para colocar los precintos metálicos

- e) centrifuga refrigerada de altas revoluciones
- f) Termómetro
- g) Sensor de pH calibrado en el rango 4 – 7
- h) Pipetas de 10 ml con pro-pipetas
- i) Probetas de 50 ml
- j) Incubadora a 35°C
- k) Equipos y reactivos para determinación de DQO (procedimiento 3.1.5)
- l) Sistema de medición de metano. Se utiliza una botella de 100 ml invertida en donde el volumen de metano se mide por desplazamiento de líquido. El sistema contiene una disolución de NaOH con una concentración 40g/L. El biogás es recogido en el sistema de medición. El CO₂ contenido en el gas es absorbido en el medio básico por formación de carbonato, y solo el metano alcanza el espacio libre del recipiente de medición desplazando un volumen equivalente de líquido.

Procedimiento

Preparación del lodo (inóculo de los viales):

- a) Se Calcula el volumen de lodo a agregar a las botellas para tener una concentración de 3 gSSV/l de biomasa.
- b) Se depositar el volumen de lodo calculado en tubos de centrifugación y se afora el volumen restante del tubo con agua destilada (si es que hay volumen restante).
- c) Se Centrifugan los tubos a 7.000 rpm por 15 minutos
- d) Se descarta el sobrenadante de las muestras y vuelven a aforar los tubos con agua destilada. Se Mezclan de modo que el pellet adherido sea resuspendido.
- e) Se centrifugan nuevamente las muestras y se repite el paso anterior una vez más

Preparación de los viales:

- a) En los viales enjuagados, se marca, con felpa indeleble, el nivel correspondiente a un volumen de 100 ml de agua destilada en cada vial de ensayo

- b) A cada vial se le añade: 50 ml de agua destilada, las soluciones de nutrientes como se indica en la tabla 3 del apéndice I y la solución reductora (tabla 5 del apéndice I).
- c) Se ajusta el pH de la mezcla a 7-7,5, con HCl 1N
- d) Se inoculan los viales con los lodos preparados (lavados y centrifugados).
- e) Se coloca la cantidad de sustrato (vinaza) necesaria para, para alcanzar una concentración de DQO equivalente a 5 gO₂/l dentro del vial.
- f) Se aforan todos los viales a la marca de 100 ml
- g) Se prepara un vial que contenga los lodos pero no el sustrato, para hacer de blanco.
- h) Se añade 1 g NaHCO₃/g de DQO dentro del vial, para evitar la acidificación por la producción de ácidos orgánicos.
- i) Se llevan a volumen los viales con agua destilada.
- j) Se homogeniza y saca 5 ml de cada vial para determina la DQO_{inicial}.
- k) Se tapan y sellan los viales
- l) Se ponen a incubar en un baño a 35° C.

Monitoreo de botellas:

- a) Se mide la producción de metano en el tiempo por el desplazamiento de la solución de NaOH 40 g/l, la que tiene por objeto solubilizar el CO₂ presente en el biogás.
- b) A los 25 días de incubación se detiene el ensayo, se abren los viales previa medición del gas producido y se determina la DQO_{final} de cada vial.

Expresión de resultados

El porcentaje de biodegradabilidad anaerobia se calcula por medio de la siguiente expresión:

$$\% BA = 100 \cdot \left(1 - \frac{DQO_{Final}}{DQO_{Inicial}} \right)$$

En donde:

DQO_{Final}: Concentración de DQO en el vial de reacción al final del ensayo.

DQO_{Inicial}: Concentración inicial de DQO en el vial al inicio de la reacción.

3.1.9 DETERMINACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS

Se utilizó una adaptación de la norma francesa T90-105-2 de la AFNOR (AFNOR, 1997). La separación de los sólidos disueltos de un efluente se puede lograr por dos métodos: por centrifugación y lavados sucesivos o por filtración. El primer método se utiliza cuando la concentración de sólidos produce la colmatación de los filtros o cuando los sólidos en suspensión en la muestra son particularmente elevados.

Fundamento del método: el método gravimétrico consiste en determinar la masa de sólido que fueron separados del efluente por centrifugación. Los sólidos suspendidos totales (SST) se determinan luego de eliminar la humedad de la muestra por calentado en estufa a 105° C y los sólidos suspendidos fijos (SSF) luego de eliminar la fracción volátil por calcinación a 550° C. Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determinan por la diferencia de ambos.

Equipos y materiales

- a) Crisoles de porcelana de 100 ml
- b) Tubos plásticos de 50 ml para centrifuga de alta revoluciones
- c) Probetas de 50 ml
- d) Pipetas de 10 ml con pro-pipetas
- e) Centrifuga refrigerada de alta revoluciones

Procedimiento

a) Se Lava un crisol de porcelana y se deja en la mufla por lo menos 2 h, luego se retira y deja enfriar en la desecadora. Se pesa en una balanza analítica. Se repite el ciclo de secado, enfriado y pesado hasta peso constante. Este será el peso (P_1) en gramos.

b) Se deposita dentro de un tubo de centrifuga 10 ml de muestra homogénea de lodo más 20 ml de agua destilada y se centrifuga por 15 minutos a 7000 rpm.

c) Se descarta el sobrenadante del tubo y se agrega agua destilada hasta completar 30 ml y se vuelve a centrifugar. Se repite este paso una vez más.

d) Se retira el sobrenadante y se recupera todo el pellet resultante colocándolo en un crisol de porcelana.

e) Se colocar el crisol dentro de la estufa a 103-105°C por 12 h o hasta peso constante. Se retira de la estufa y se deja enfriar en desecadora. Se Pesa en una balanza analítica y se chequea que el peso sea constante. Este valor constituye el peso (P_2) en gramos.

f) A continuación, se coloca el crisol con la muestra seca en la mufla a 550°C por lo menos 2 h. Se deja Enfriar en desecadora y se pesa chequeando peso constante (P_3) en gramos.

Expresión de resultados

Los SST se calculan mediante la siguiente relación:

$$SST(g/l) = \frac{(P1 - P2)}{Vol.Muestra} \times 1.000$$

En donde el volumen de la muestra es 10 ml.

Los SSF se calculan de la siguiente manera:

$$SSF(g/l) = \frac{(P2 - P3)}{Vol.Muestra} \times 1.000$$

En donde el volumen de la muestra es 10 ml

Los SSV se obtienen de la diferencia entre los SST y SSF

$$SSV(g/l) = SST - SSF$$

3.1.10 ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA (AME)

Para determinar la AME de los lodos estudiados, se utilizó la técnica propuesta por *Field et al (1988)*. La preparación de soluciones, tablas y gráficos están en el apéndice I.

Este es un parámetro de gran importancia a la hora de caracterizar un lodo anaeróbico, puesto que permite conocer la máxima capacidad de degradación de la población metanogénica en condiciones óptimas.

Fundamento del método: Consiste en incubar una cantidad conocida de lodos anaeróbicos en condiciones ambientales optimas utilizando ácidos grasos volátiles (AGV) como sustrato, de modo de poder establecer la cinética de crecimiento de la población metanogénica. La AME se calcula a partir de la velocidad máxima de producción de metano.

Equipos y materiales

- a) viales de 100 ml con boca de 2 cm
- b) tapones de goma de 2 cm de diámetro
- c) precintos metálicos para cerrar herméticamente los viales
- d) selladora, para colocar los precintos metálicos
- e) centrifuga refrigerada de altas revoluciones
- f) Termómetro
- g) Sensor de pH calibrado en el rango 4 – 7
- h) Pipetas de 10 ml con-propipetas
- i) Probetas de 50 ml
- j) Incubadora a 35°C
- k) Sistema de medición de metano. Idem al de BA, ítem 3.1.8.

Procedimiento

Preparación del lodo (inóculo):

- a) Se calcula el volumen de lodo a agregar a las botellas para tener una concentración de 1,5 gSSV/l de biomasa.
- b) Se deposita el volumen calculado de lodo en tubos de centrifugación de 50 ml y se afora hasta alcanzar el volumen final del tubo con agua destilada (si es que hay volumen restante).
- c) Se centrifuga el lodo a 7.000 rpm por 15 minutos
- d) Se descarta el sobrenadante de las muestras y se aforan los tubos con agua destilada. Se mezclan de modo que el pellet adherido sea re-suspendido.
- e) Se centrifugan nuevamente las muestras y se repite el paso anterior una vez más

Preparación de los viales:

- a) En los viales enjuagados, se marca, con felpa indeleble, el nivel correspondiente a un volumen de 100 ml de agua destilada en cada vial de ensayo
- b) Se añade, a cada vial 50 ml de agua destilada, las soluciones de nutrientes como se indica en la tabla 3 del apéndice I y la solución reductora (tabla 5 del apéndice I).
- c) Se ajusta el pH de la mezcla a 7-7,5, con HCl 1N.

- d) Se inoculan los viales con los lodos preparados (lavados y centrifugados).
- e) Se colocan el sustrato (solución de AGV), en la cantidad indicada en la tabla 3 del apéndice I.
- f) Se prepara un vial que contenga lodos pero no la solución de AGV, para hacer de blanco.
- g) Se llevan los viales a volumen con agua destilada
- h) Se tapan y sellan los viales
- i) Se ponen a incubar los viales en un baño a 35 °C

Monitoreo de los viales:

Se registra diariamente el volumen de metano producido hasta que se haya consumido como mínimo el 80% de los AGV, o hasta que se deje de generar gas.

La actividad metanogénica específica corresponde a la máxima pendiente de la curva de producción de metano vs. el tiempo en horas, en el ejemplo la máxima pendiente es entre los puntos 2 a 4 (figura 1 del apéndice I). El cálculo se lleva a cabo de la siguiente manera.

$$AME = \frac{R \cdot 24}{FC \cdot V \cdot SSV} \left[\frac{gDQO_{CH_4}}{gSSV \cdot d} \right]$$

Donde,

AME: Actividad metanogénica específica (gDQO_{CH₄}/gSSV.d)

R: velocidad de producción de metano, ml CH₄/h (pendiente gráfico CH₄ vs t)

FC: Factor de conversión, en ml CH₄/g DQO.

V: Volumen efectivo de líquido en el digestor, l.

SSV: Concentración de lodo en el digestor, gSSV/l.

24: Factor de Conversión, h/d.

3.1.11. ALCALINIDAD

Se utilizó el método por titulación, 2320B del standar method (2005) que define la alcalinidad como la capacidad de una solución de neutralizar ácidos. Dicha capacidad se debe a la presencia de sustancias tampón o amortiguadoras. El

comportamiento de dichas sustancias puede variar ampliamente de acuerdo con el pH de la disolución (APHA, 2005).

Fundamento del método: consiste en agregar un ácido fuerte de concentración conocida a la solución problema, hasta que llegue a un pH de 4,3 señal que todas las bases han sido neutralizadas.

Equipos y Materiales

- a) Bureta 25 ml
- b) Pipeta aforada de 10 ml
- c) Vaso precipitado
- d) Medidor de pH
- e) Agitador magnético y barras agitadoras

Procedimiento

- f) Se colocan en un vaso de precipitado 10 ml de muestra homogenizada
- g) Se coloca el vaso con muestra sobre el agitador magnético y se introduce una barra magnética en la muestra a analizar
- h) Se colocar el electrodo de pH (previamente calibrado) dentro del vaso con la muestra.
- i) Se registrar el pH inicial.
- j) Se titula la muestra con ácido sulfúrico 0,1N hasta que todas las bases se hayan neutralizado, cosa que ocurre cuando el pH llega a 4,3. Se registra el volumen gastado.

Expresión de Resultados

El valor de alcalinidad total, está dado por:

$$alcalinidad = \frac{V_{H_2SO_4} \times N_{H_2SO_4} \times PM_{CaCO_3} \times 1000}{V_{muestra} \times N_{eq}} \quad [mg_{CaCO_3}/l]$$

Dónde:

Alcalinidad: expresada como mg CaCO₃/l

V_{H₂SO₄}: volumen en ml de H₂SO₄ gastado hasta llegar a pH 4,3

V_{muestra}: volumen en ml de muestra

N_{H₂SO₄}: normalidad del H₂SO₄

PM_{CaCO₃}: Peso Molecular del Carbonato de Calcio (100 g/mol)

N_{eq}: número de equivalentes del H₂SO₄ (2).

3.1.12. RELACIÓN α

Para determinar la relación α , se utilizó el método descrito por *Jenkins y Sawyer* . (1983) que consiste fundamentalmente en un método indirecta de determinar el porcentaje de los AGV respecto a alcalinidad debida a los bicarbonatos presentes en la solución.

Fundamento del método: Establece que se deben determinar separadamente las fracciones de las alcalinidades debidas al bicarbonato y a los AGV. Para ello se procede a una titulación con un ácido fuerte desde el pH inicial hasta un pH de 5,75 que corresponde a la alcalinidad aportada, en su mayoría, por los bicarbonatos o alcalinidad parcial (AP) y a la determinación de la alcalinidad total (AT) a un punto final de pH 4,3; que representa la suma de las alcalinidades debida a los bicarbonatos y a los AGV. La alcalinidad intermedia (AI) viene dada por la diferencia entre la AT y la AP y es aproximadamente la debida a los AGV.

Equipos y Materiales

- a) Bureta 25 ml
- b) Pipeta aforada de 10 ml con pro-pipeta
- c) Vaso de precipitado
- d) Medidor de pH
- e) Agitador magnético y barras agitadoras

Procedimientos:

- Se Coloca en un vaso de precipitado, 10 ml de muestra homogenizada.
- Se titula con el H_2SO_4 , hasta pH 5,75. Se anota el volumen de ácido gastado.
- Se Continúa con la titulación hasta llegar pH 4,3 y se anota el volumen total de ácido gastado

Expresión de Resultados

El valor de la razón α de alcalinidad está dado por:

$$razón \alpha = \frac{V_{5,75} - V_{4,3}}{V_{pH 4,3}}$$

Donde

$V_{\text{pH}5.75-4.3}$: volumen de H_2SO_4 gastado entre pH 5.75 y pH 4.3

$V_{\text{pH}4.3}$: volumen de H_2SO_4 gastado hasta llegar a pH 4.3

3.1.13. CUANTIFICACIÓN DEL METANO EN EL BIOGÁS

La cuantificación del gas metano en el biogás, fue realizada por el laboratorio de cromatografía perteneciente a la sección Química de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres.

Fundamento del método: Consiste en hacer pasar el gas a través de una columna que retrasa unos componentes más que otros, separando las mezclas en sus componentes individuales. Luego los gases son ionizados y separados por su relación carga/masa y finalmente detectados por un sistema adecuado. Se utiliza para identificar componentes y medir sus respectivas concentraciones.

Equipos y Materiales: El análisis del biogás se realizó con un Cromatógrafo Gaseoso de marca Shimadzu GC-2010 Plus, con detector TCD (Detector de Conductividad Térmica).

Se utilizó una columna Carboxen 1006 PLOT (Fused Silica Capillary Column) de 30 m de largo X 0,32 mm de diámetro, marca Supelco.

Procedimiento: Se utilizó el método Supelco 459 para metano.

Características del método.

Horno: temperatura inicial 35 °C (5 min.), 24 °C/min. hasta 225 °C.

Rampa de temperatura: 5 °C/min hasta 50 °C y se mantiene 2 minutos.

Tiempo de corrida: 15 minutos.

Detector: 150° C. modo de inyección split.

Volumen de inyección 1 ml

Gas Carrier: He 99.999% de pureza

Flujo de Helio en la corrida: 1,05 ml/min

Se utilizó como patrón gas de red, considerando que el mismo contiene de un 92 a 95 % de metano, y se cuantificó en forma porcentual.

3.2 SISTEMA DE TRATAMIENTO DE VINAZA

3.2.1 DISEÑO Y MONTAJE DE EQUIPOS

En base a consultas bibliográficas (Metcalf y Eddy, 1998; Chernicharo, 2007) se diseñó y armó un reactor anaeróbico de lecho empaquetado (RALE) de flujo ascendente y con recirculación externa. Los materiales utilizados para su construcción, fueron elegidos en base a su disponibilidad y costos.

3.2.2 DESCRIPCIÓN DEL RALE PILOTO EXPERIMENTAL

El sistema estaba conformado por un reactor cilíndrico, con un volumen real de 17,7 l, relleno con un material plástico inerte (figura 3.2) de superficie rugosa (flejes molidos) para aportaba una mayor relación superficie/volumen, que facilite la formación de biopelículas. El volumen ocupado por el relleno dentro del reactor equivalía a 2.500 cm³, determinado empíricamente, midiendo la cantidad de líquido que entraba en el reactor con relleno.

El reactor se construyó con un caño de Polivinil-carbonato (PVC) cristal de 10 cm de diámetro interno y 235 cm de largo (figura 3.3). Los 10 primeros centímetros del reactor (desde el suelo) formaban la cámara inferior o “falso fondo”, donde se encontraba la entrada de líquido del reactor. (7,5 cm desde el fondo) (Figura 3.4). El caudal de ingreso al reactor podía ser controlado con una válvula bola.

El material de relleno estaba contenido dentro del tubo entre dos placas cribadas. Una, ubicada a 10 cm de altura desde el fondo, hacía de soporte por la parte inferior (figura 3.4) y la otra, ubicada en la parte superior a 205 cm de la inferior, hacía de barrera de contención del los sólidos dentro del reactor (figura 3.5).

A lo largo del reactor, se colocaron 7 válvulas de muestreos (cada 30 cm). La válvula de salida estaba ubicada a los 226 cm de altura desde el fondo (figura 3.3).

El extremo superior del reactor estaba cerrado con una tapa de PVC sellada, que poseía un orificio en el medio por donde salía el gas producido en el reactor. El gas producido era conducido por una manguera y venteado en el exterior del laboratorio. En la figura 3.6, se muestra el reactor en distintas etapas durante el armado.



Figura 3.2. Flejes molidos, utilizados como material de relleno del RALE

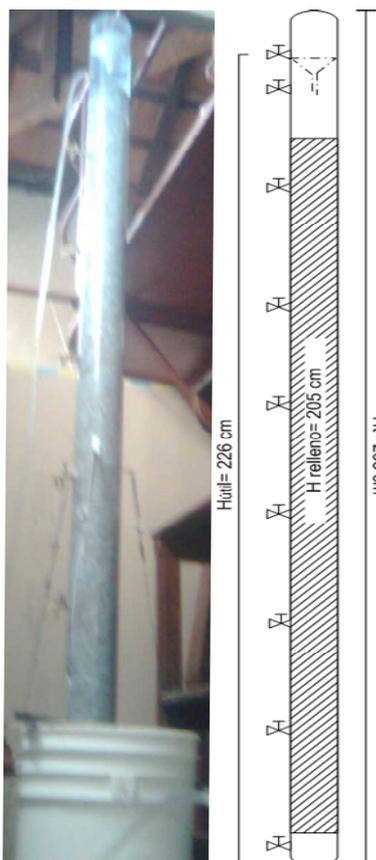


Figura 3.3 Foto del RALE acompañado de un esquema con sus dimensiones.

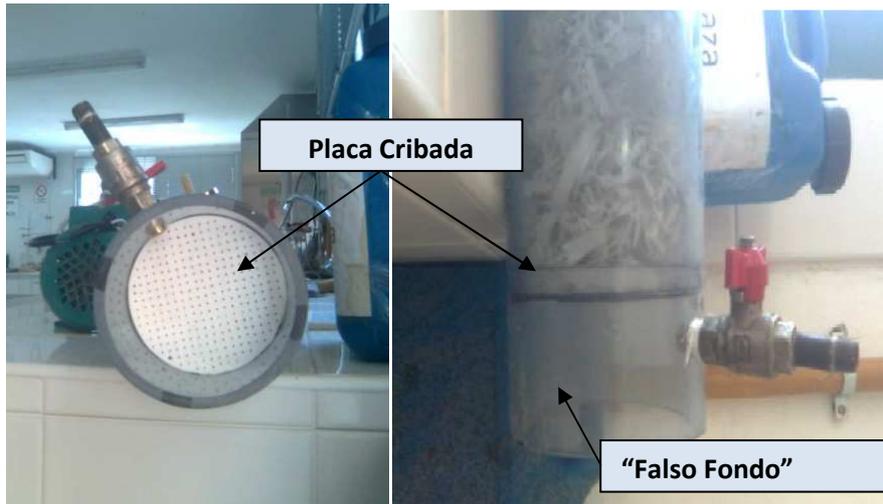
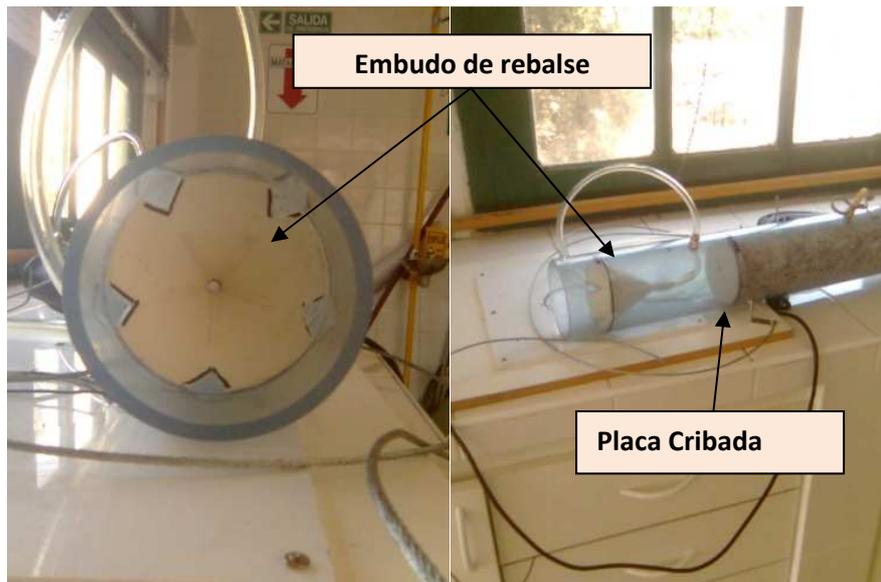


Figura 3.4 Detalle de la parte inferior del RALE, en la foto se muestran las vistas desde abajo (izq.) y perfil (derecha) del reactor, donde se observan la válvula de ingreso del líquido y la placa cribada



Figuras 3.5 Detalle de la parte superior del RALE. En la foto izquierda, puede verse la toma del sistema de recirculación y en la derecha se advierte la placa cribada superior por debajo del sistema de recirculación.



Figura 3.6 Fotos de la secuencia de armado del RALE. 1: caño de PVC cristal, utilizado como cuerpo del reactor. 2: detalle de uno de los extremos del caño de PVC. 3: el reactor relleno con fleje molido y 4: el reactor montado sobre la plataforma.

Alimentación

El reactor se alimentó, a través de una bomba peristáltica, con vinaza colectada de una de las destilerías de Tucumán. El caudal de alimentación se ajustó según la DQO, para obtener la velocidad de carga deseada.

La vinaza era inyectada al sistema por una conexión en “T” que se conectaba con la manguera de recirculación del RALE (figura 3.7).

La recirculación del líquido del reactor, en una primera etapa (Inoculación), se llevó a cabo con una bomba periférica de 0,37 Kw de potencia y un caudal máximo de 40 l/min. con una válvula colocada a la salida de ésta, que permitía regular el caudal. Una vez finalizada la etapa de inoculación, se reemplazó la

bomba periférica por una bomba de diafragma, marca Dosivac, modelo 070 de un caudal máximo de 7 l/h.

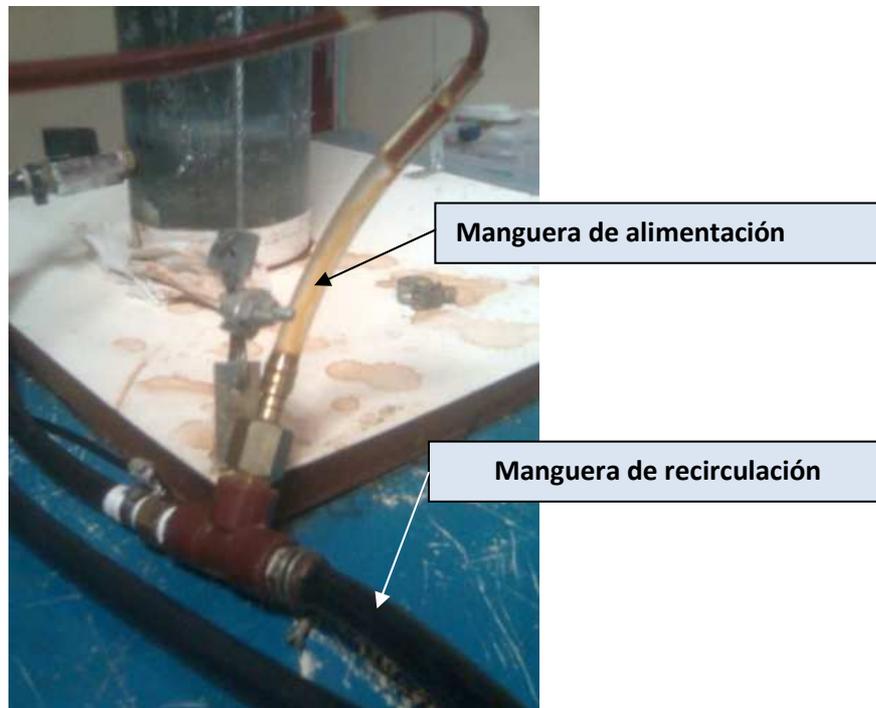


Figura 3.7 Detalle de la conexión de alimentación al reactor

Sistema de Recirculación de líquido

El sistema de recirculación consistía en un embudo colocado a 10 cm del tope superior (justo por debajo de la válvula de salida), (figura 3.5) que tomaba el líquido por rebalse y lo conducía por una manguera, hacia la bomba de recirculación, que le daba impulso al fluido para ingresar nuevamente al reactor y atravesar el lecho fijo.

Temperatura del sistema

El sistema no contó con control de temperatura. La temperatura ambiente se obtuvo de los datos de la estación meteorológica ubicada en los predios de la EEACOC en las Talitas y fueron proporcionados por personal de la sección Agrometeorología de la EEAOC. Las temperaturas del sistema, se midieron con un termómetro de mercurio a la salida del reactor.

3.3 CONSTANTE CINÉTICA DE DEGRADACIÓN DE MATERIA ORGÁNICA

Para determinar la constante cinética de degradación de la materia orgánica, en el RALE, que se supone funciona como un modelo de “reactor tubular” o “flujo pistón”, se utilizó el modelo cinético de primer orden, que es ampliamente utilizado para describir tratamientos tanto de efluentes líquidos como de desechos sólidos (Alvarez et al., 1993; Borja y Banks, 1994).

La cinética de primer orden, se representa en la siguiente ecuación:

$$R_{RS} = \frac{dS}{dt} = K \cdot S_e \quad (1)$$

Dónde:

R_{RS} : Tasa volumétrica de remoción de sustrato (mgDQOr /l.d).

K: Constante cinética de primer orden (d^{-1}).

S_e : concentración de sustrato a la salida del reactor (mgDQO/l).

Utilizando la ecuación (1) es posible determinar la constante cinética “K” como se muestra a continuación.

$$K = \frac{R_{RS}}{S_e} = \frac{(S_0 - S_e) \cdot \frac{1}{\tau}}{S_e} = \frac{(S_0 - S_e) \cdot Q}{V \cdot S_e} \quad (2)$$

Dónde:

S_0 : concentración del influente al reactor (mgDQO/l)

τ : tiempo de retención hidráulico (d^{-1})

V: volumen del reactor (l)

Q: caudal de alimentación al reactor (l/d)

En la práctica, la constante cinética “K”, se obtiene de la pendiente de la línea que surge de la representación gráfica de R_{RS} vs. S_e , utilizando los datos experimentales obtenidos cuando se han alcanzado los distintos estados estacionarios (Diamantis y Aivasidis, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. CARACTERIZACION DE LA VINAZA

Composición físico-química

Los parámetros analizados fueron seleccionados por su importancia sanitaria, ya que pueden impactar negativamente en el medio ambiente.

En las Tablas 4.1 y 4.2 se muestran los valores de los análisis de las vinazas provenientes de seis destilerías de alcohol anexas a ingenios azucareros, tomadas durante los meses de Junio y Septiembre de la zafra 2009. Al momento del muestreo las destilerías visitadas utilizaban el sistema de fermentación en lotes y preparaban el mosto a partir de melaza y agua.

Tabla 4.1a- composición físico-química de vinazas obtenidas de destilerías de Tucumán.

MUESTRA	pH	DQO (mgO ₂ /L)	DBO5 (mgO ₂ /L)	Sólidos Totales % (p/v)	Sólidos Fijos % (p/v)	Sólidos Volátiles % (p/v)
1	5,4	109852	53651	11,9	3,93	8,0
2	5,2	98869	39040	9,04	3,52	5,5
3	4,9	95897	49760	9,6	3,3	6,3
4	5,4	109985	53600	11,3	4,17	7,1
5	5,2	99100	40800	11,1	4,27	6,8
6	4,8	89912	31500	13,7	4,82	8,9
Promedio	5,2	100603	44725	11,1	4,00	7,1
Desv.st	0,3	7941	9016	1,7	0,55	1,2

Tabla 4.1b- Análisis de la composición salina y la conductividad presente en las vinazas obtenidas en destilerías de Tucumán.

MUESTRA	Conductividad (mS/cm)	Potasio %(p/v)	Sodio ppm	Calcio % (p/v)	Magnesio ppm
1	27,5	1,49	0,120	0,2	0,058
2	25,4	1,39	0,054	0,22	0,058
3	24,1	1,21	0,058	0,16	0,053
4	27,0	1,44	0,065	0,24	0,061
5	28,7	1,42	0,076	0,26	0,064
6	27,5	1,82	0,180	0,25	0,088
Promedio	26,7	1,46	0,092	0,22	0,064
Desv.st	1,7	0,2	0,049	0,04	0,012

Las características de las vinazas analizadas mostraron: pH bajo, gran cantidad de materia orgánica (determinada como DQO y DBO) y una alta conductividad eléctrica.

Los resultados mostrados en las Tablas 4.1a y b coinciden con el análisis realizado por *Cardenas y Guzmán (1982)* y los publicados por *Siñeriz (1988)*, en los que caracterizan vinazas obtenidas de distintas destilerías tucumanas. Ya que su composición y concentración depende de la materia prima, del proceso de extracción de azúcar y de la fermentación/destilación, se puede inferir que en esos 27 años (de 1982 al 2009), hubieron pocos cambios en el sistema productivo del etanol y en consecuencia, la calidad de la vinaza se mantuvo en el tiempo. Otros trabajos consultados (*Bautista-Zúñiga et al, 1998; Zhang et al, 2009*), coinciden en resaltar a la materia orgánica, el pH y la conductividad, como los parámetros de mayor importancia sanitaria y ambiental de las vinazas.

El bajo pH de las vinazas estudiadas (promedio $5,2 \pm 0,3$) proviene de las condiciones utilizadas durante la fermentación. Esta condición hace que, como tal, las vinazas no puedan volcarse, a cursos de agua o en suelo, ya que según la Resolución 030/2009 SEMA, se prohíben la disposición, de los efluentes cuyos pH sean mayores de 9,5 o menores de 6, en los medios anteriormente citados. Por lo que el libre vuelco de vinaza sin un tratamiento que modifique este parámetro queda prohibido.

El valor del pH de la vinaza es suficiente para Inhibir e incluso matar la población de bacterias metanogénicas (*Garcia et al 2000*) presentes en el

reactor. Dichos microorganismos necesitan valores de pH cercanos a la neutralidad, presentando problemas graves si el potencial de hidrógeno en el sistema baja de 6 o sube de 8,5 (*Lay et. al, 1997*). Para evitar estos inconvenientes los sistemas anaeróbicos poseen una gran capacidad buffer natural, dada principalmente por la presencia de carbonato. Esta capacidad amortiguadora le permite a los sistemas anaeróbicos mantener el pH cercano a la neutralidad independientemente del pH del sustrato con que se alimenten, siempre y cuando la cantidad de ácido no supere la capacidad buffer del sistema. El pH a la salida de un reactor en buen estado, es siempre mayor de 7, mejorando las condiciones del efluente a la salida del reactor con respecto a la vinaza de alimentación.

Basta muy poca materia orgánica para agotar el oxígeno disuelto en las aguas superficiales ya que la relación molar entre ambas sustancias es muy próxima a 1:1 (*Vega de Kuiper, 2007*). El contenido de materia orgánica disuelta, en las vinazas analizadas medido como DQO y DBO, alcanzan valores promedios de 100.063 mgO₂/l y 44.725 mgO₂/l respectivamente, que comparados con los valores permitidos de vuelco por la Resolución 30/2009 SEMA (200 mgO₂/l de DQO y hasta 50 mgO₂/l de DBO para cuerpos de agua y 500 mgO₂/l de DQO y 200 mgO₂/l de DBO para suelo), son extraordinariamente altos.

El vuelco deliberado de vinazas a los cursos de agua provocaría un desequilibrio en los ecosistemas de los cuerpos receptores, ya que la degradación de la materia orgánica consumiría el oxígeno disuelto en el agua eliminando la vida de seres superiores y modificaría su estado redox produciendo cambios en el estado de oxidación de las especies químicas y la microflora predominante.

El contenido de materia orgánica de los suelos cultivados con caña de azúcar no se modifica con el agregado de hasta 1200 m³/ha de vinaza cruda (*Scandaliari et al, 1987*), pero su utilización para riego queda limitada por el tipo de suelo, en particular por el contenido de potasio, que de por sí es abundante en los suelos tucumanos. La dosis recomendada por la Estación experimental Obispo Colombres para riego de cultivares de caña es de 150 m³/ha/año y para recuperación de suelos salinos sódicos se debe agregar una lámina de 10 mm de vinaza por hectárea e incorporar con rastra (Res. SEMA 040/2011 y 047/2011).

Al analizar los valores de la conductividad eléctrica de las vinazas estudiadas, se observó que existe una mayor correlación con los sólidos fijos ($r^2= 0,7985$) en comparación con los valores obtenidos de correlación con sólidos totales y volátiles ($r^2= 0,6745$ y $r^2= 0,5764$, respectivamente). Por lo que se atribuyó a la presencia de sales, los altos valores de conductividad de las vinazas. Al estudiar la composición de las cenizas, se observó la predominancia del ion potasio, por sobre la de los otros iones estudiados (sodio, calcio y magnesio); con una importante correlación entre el K y los sólidos fijos ($r^2= 0,8904$). Estos resultados coinciden con los mostrados por Cárdenas y Guzmán (1982).

Como se mencionó anteriormente, es el contenido de potasio lo que limita la posibilidad de uso de la vinaza para riego, al menos en los suelos tucumanos, sin embargo es la presencia de este ion el que le da a la vinaza potencial valor como fertilizante potásico. Existe al menos una empresa en Argentina que concentra vinaza y la venden como fertilizantes ricos en N y K.

Un método alternativo y más completo consiste en someter a la vinaza a un tratamiento anaeróbico con recuperación de biogás y la concentración del efluente del reactor, para obtener un fertilizante con mayores contenidos de N y K.

La presencia del ion potasio en el tratamiento anaeróbico tiene diferentes efectos según la concentración y el tipo de microorganismo que se emplee. Bajas concentraciones de este metal (menores a 400 mg/l) causan un aumento en el rendimiento en los sistemas mesofílicos y termofílicos, mientras que concentraciones mayores causan efectos inhibitorios que son más pronunciados en el rango termofílico (*Chen et al., 2008*). Estudios llevados a cabo por *Lopez et al. (2011)* mostraron que concentraciones de potasio de 6 g/l reducen a la mitad la actividad metanogénica para cultivos en lotes pero que no afectaban la eficiencia en los reactores de operación continua. Esto se debe probablemente a la adaptación de la biomasa a las condiciones adversas. La presencia de Na^+ , Mg^{++} , NH_4^+ y Ca^{++} , mitigan la toxicidad del potasio por un efecto conocido como antagonismo (*Kugelman y McCarty, 1965; Campos Pozuelo, 2001*).

El calcio es esencial para el crecimiento de ciertas bacterias metanogénicas y cumple un rol importante en la formación de agregados microbianos (*Thiele et al., 1990*). La adición de calcio puede tener un impacto positivo en los

reactores, sobre todo en los que desea lograr la retención de la biomasa. Se reportaron beneficios en la granulación de los lodos anaeróbicos para concentraciones de entre 100 y 200 mg/l de Ca^{++} , mientras que concentraciones mayores a los 300 mg/l mostraron un detrimento de dicho efecto (Hulshoff, P. et al., 1983). El ion calcio tiene un efecto inhibitor para las bacterias metanogénicas recién a partir de 7000 mg/l (Jackson-Moss et al., 1989). En las vinazas analizadas se detectaron valores de calcio entre 2000 y 2600 mg Ca^{++} /l, lo cual tendría un efecto positivo sobre la formación de los gránulos y la adherencia de la biomasa al lecho inerte.

4.1.2 DETERMINACIÓN DE LA BIODEGRADABILIDAD ANAERÓBICA

Habitualmente, para determinar la biodegradabilidad de un efluente se utiliza el índice de biodegradabilidad (IB). Este parámetro es un indicativo de la composición de la materia contaminante en las aguas residuales (Rigola Lapeña, 1989).

El IB está determinado por la relación entre DBO_5/DQO , adoptando valores que varían entre 0 y 1. Cuando la composición del vertido es inorgánica o no biodegradable, el índice toma valores cercanos al cero y cuando el componente mayoritario del efluente es orgánico o biodegradable, el valor se aproxima a 1. Se determinó el IB de las vinazas de las destilerías estudiadas y se obtuvo un valor promedio de $0,44 \pm 0,06$. Según la escala del IB, las vinazas estudiadas serían, medianamente biodegradables. Este parámetro contempla la DBO_5 , un ensayo que se lleva a cabo en condiciones aeróbicas, por lo tanto nada dice de la eficiencia que puedan tener los microorganismos anaerobios para degradar la materia orgánica presente en la vinaza. Los índices aeróbicos no pueden dar una medida segura de cuan degradable es un desecho por la vía anaerobia (Ponsá Salas; 2010). El ensayo de biodegradabilidad anaeróbica (BA), en muchos aspectos, es un análogo anaeróbico del ensayo de DBO_5 . En ambos se establecen condiciones estandarizadas para facilitar la comparación relativa entre los materiales que se están evaluando. Al comparar la BA con la DBO_5 , o indirectamente con el IB, podemos establecer la conveniencia del tipo de tratamiento a aplicar, anaeróbico o aeróbico (Tejerina et al., 2004).

La BA realizada a vinazas de tres destilerías elegidas al azar entre las muestreadas para este trabajo, dieron un promedio $82,5 \pm 0,9 \%$

Estos valores indican que la determinación de BA es un parámetro que refleja en mejor medida la biodegradación producida por las bacterias anaeróbicas.

4.2 CARACTERIZACIÓN, SELECCIÓN Y ADAPTACIÓN DE LODOS PARA UTILIZAR COMO INÓCULOS

4.2.1 SITIOS MUESTREADOS

Debido a la baja velocidad de crecimiento de las bacterias anaeróbicas, es conveniente utilizar un inóculo con buena actividad metanogénica, para acelerar los tiempos del arranque. Generalmente este inóculo proviene de otro reactor anaeróbico, pero en lugares donde no se cuenta con éste tipo de procesos en funcionamiento, se debe recurrir a una fuente de inóculo alternativa (*Fajardo Ortiz, 1997*).

Las fuentes naturales de inóculos pueden ser, los lodos de fosas sépticas, estiércol de animales (vaca, cerdo), sedimentos de lagos, ríos y lodos de lagunas anaeróbicas (*Field, 1986; Noyola 1994*). En caso de contar con lodos de baja actividad metanogénica es conveniente proporcionar un acondicionamiento previo con el fin de activarlos.

Se realizó un relevamiento en busca de actividad metanogénica en los sedimentos de lagunas de sacrificio de vinaza de distintas destilerías. Los sitios de muestreo se eligieron según las características ambientales del lugar. Se buscó las zonas con profundidades mayores a 1m para asegurar la anoxia, donde haya presencia de burbujas en la superficie, lo que indicaría actividad microbiológica, y donde el pH fuera cercano a la neutralidad.

Se eligieron como fuente de bacterias anaeróbicas los siguientes lugares (Figura 4.1):

- Laguna 1: laguna de sacrificio de vinaza de más de 5 años, ubicada a unos 7 Km de distancia de la destilería. La vinaza es transportada por un canal de tierra sin cobertura.
- Laguna 2: laguna de tratamiento de vinaza, conformada por piletas donde se mezclaba la vinaza con bacterias provenientes de efluentes líquidos domésticos (cloacales) de una ciudad cercana.

- Laguna 3: piletas de sacrificio, de no más de dos años de antigüedad ubicada a menos de 1 Km de la destilería, compuesta por 4 piletones que recibían la vinaza, conducida por cañerías.
- Laguna 4: laguna de acumulación de vinaza para su posterior uso en riego, estaban ubicadas a unos 3 Km de la destilería y la vinaza era conducida hasta allí por un canal de tierra sin cobertura, y tenía efluente acumulado de al menos 4 años. . (figuras 4.1).



Figuras 4.1. Imágenes obtenidas de muestreo de lodos. Laguna 1: (A-B) se observa el burbujeo en la superficie de la laguna producido por la actividad microbiológica; Laguna 2: C) Vista del canal de conducción de mezcla y D) parte de los piletones de la planta de tratamiento; Laguna 3: (E-F) piletas de sacrificio; Laguna 4: (G) Canal que conduce la vinaza hasta laguna de almacenamiento.

4.2.2. SELECCIÓN DE LODOS PARA FUENTE DE INOCULO

En la tabla 4.2, se muestran los resultados de la caracterización de los lodos obtenidos de los sedimentos de las lagunas muestreadas.

Tabla 4.2- Caracterización fisicoquímica de los sedimentos de lagunas de tratamiento y sacrificio de vinaza

LAGUNAS	Origen	pH	Alcalinidad (mgCO_3^-/l)	SSV (g/l)	SSF (g/l)	SST (g/l)	AME (gDQO/gSSV.d)
1	Laguna de sacrificio	7,98	27028	7,83	24,81	32,60	0,088
2	Laguna de tratamiento	6,59	2262	4,97	14,15	19,13	0,086
3	Laguna de sacrificio	5,38	N.D.	34,93	24,00	58,93	N.D.
4	Laguna de almacena_ miento	8,04	22910	32,5	94,71	127,21	0,027

N.D.: No se detecta

Para evaluar la viabilidad de un sistema de tratamiento anaeróbico para el tratamiento de un efluente, es preciso disponer de ciertos parámetros básicos, tanto del agua residual como del lodo a inocular. Los principales parámetros a considerar para caracterizar a un lodo anaerobio son, las concentraciones de sólidos suspendidos volátiles (SSV) y la actividad metanogénica específica (AME) (*Field et al., 1988*). El pH y la alcalinidad además nos aportan información acerca de las posibilidades de encontrar arqueas metanogénicas sobre todo cuando se desconocen los orígenes de los lodos.

García et al. (2000) establecieron que los valores óptimo de pH, para que las bacterias metanogénicas sobrevivan y se desarrollen, es de 6,0 a 8,0 y como se puede observar en la tabla 4.2., la laguna 3 presentaba valores de pH por debajo del rango que necesitan las bacterias metanogénicas para desarrollarse. En la Figura 4.2., pueden observarse los perfiles de producción acumulada de metano correspondientes a los lodos de las lagunas 1, 2 y 4. Los lodos de las lagunas 1 y 4 presentaron al inicio, valores significativamente

diferente ($P < 0,05$) con respecto a los obtenidos por los de la laguna 2. A partir del día 10, se observó que existen diferencias significativas entre los valores de producción de las lagunas 1 y 4; debido a que en el lodo 4, las bacterias dejaron de producir metano. Recién a los 15 días se observó incremento en la producción por los microorganismos de la laguna 2 con una pendiente de producción (AME) muy similar a lo correspondiente de la laguna 1 (Figura 4.3.), los lodos de la laguna 2, presentaron una fase lag prolongada (Figura 4.2), debido probablemente a que la concentración de las especies metanogénicas en el sedimento eran bajas.

No existen diferencias significativas ($p > 0,05$) en los valores de AME de los lodos 1 y 2 y ambos son comparables a valores de AMEs de estiércol de vaca y lodos domésticos digeridos, estudiados anteriormente por otros autores como fuentes de inóculos (*Field et al., 1988; Huslhoff, 1989*). Esto sugiere que los sedimentos de las lagunas 1 y 2 tienen un buen potencial como inóculo de reactores anaeróbicos.

Es importante también tener en cuenta los valores de SSF, ya que aquellos que superan el 70% de los SST, no serían apropiados para ser usados en reactores de manto de lodos y flujo ascendentes (UASB), debido a la presencia de un alto porcentaje de sólidos inertes, sin actividad metanogénica, que ocupan un espacio físico en el reactor (*Sanchez Riera et al., 1985*).

Por todo lo mencionado anteriormente, se decidió trabajar con los lodos de la laguna 1 como inoculante del reactor.

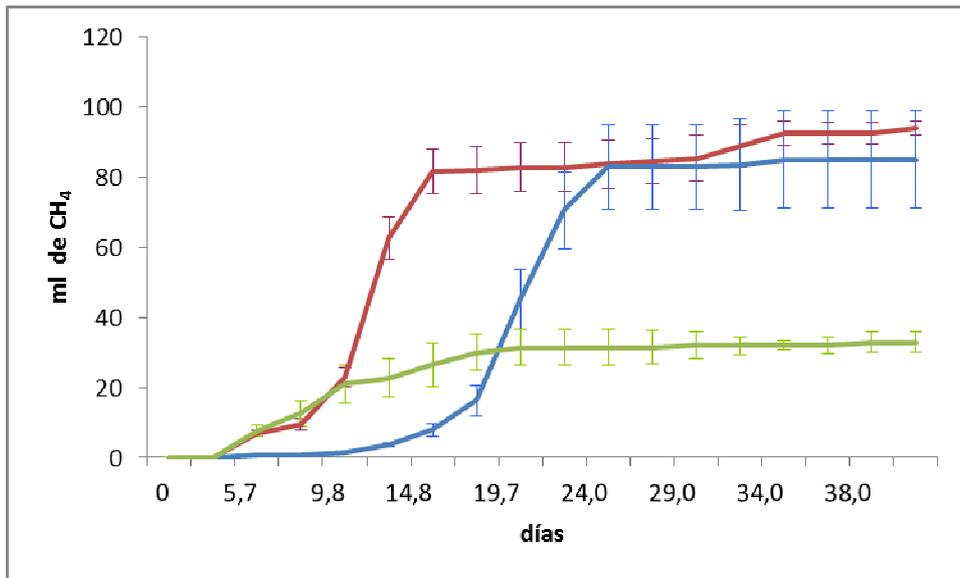


Figura 4.2 Curvas de Producción de metano acumulado en el tiempo, para determinación de la Actividad Metanogénica Especifica, de los lodos proveniente de distintas lagunas.

Referencias: Lodos Laguna 1: — ; Lodos Laguna 2: —
Lodos Laguna 4: —

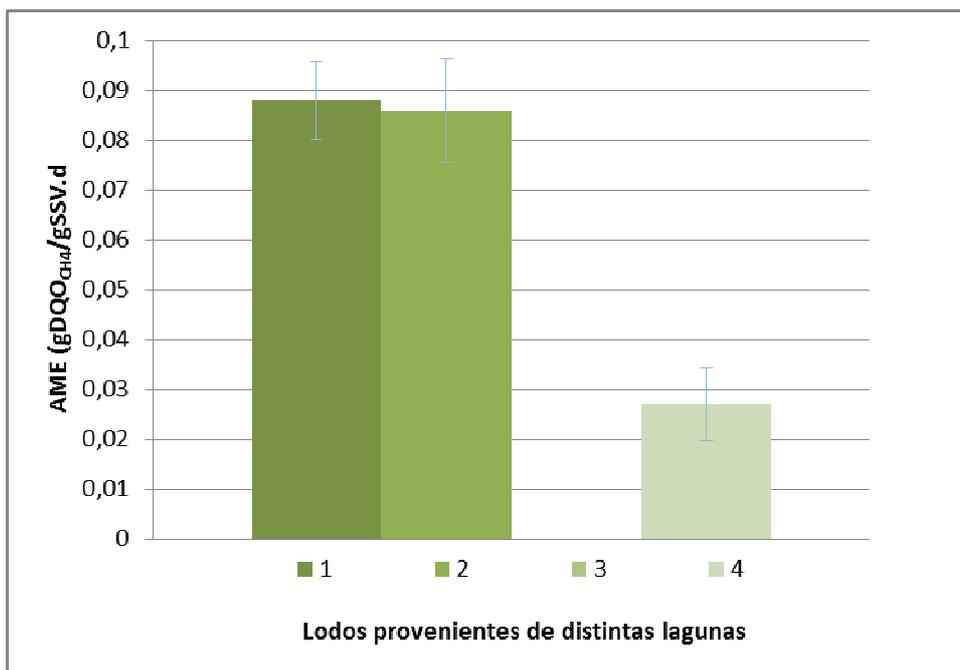


Figura 4.3 comparación de las AME obtenidas de los sedimentos de las lagunas 1, 2, 3 y 4.

4.2.3. ACONDICIONAMIENTO DE LODOS PARA INOCULACION

Una vez seleccionado el lodo a utilizar, se extrajeron unos 20 l del mismo (Figura 4.4.), de los cuales 10 l fueron cultivados a una temperatura controlada de 30°C en un sistema de lote alimentado, por espacio de 30 días.

Se utilizó un reactor de mezcla completa (RMC) agitado mecánicamente, de 20 l de capacidad (Figura 4.5.), suplementado con macro y micronutrientes en concentraciones indicadas en la Tabla 3 del apéndice I (solución de macro y micro nutrientes en las técnicas de AME y BA) y se alimentó con vinaza a una velocidad de carga orgánica de 1,5 Kg DQO/m³.d.



Figura 4.4. Muestreo de lodos de la Laguna 1: A) Foto tomada durante el muestreo de lodos. B) Aspecto de los sedimentos recogidos del fondo de la "laguna 1".



Figura 4.5. Distintas vistas del reactor de mezcla completa, utilizado como sistema de acondicionamiento de lodos en el laboratorio. En la foto de la izquierda, puede apreciarse la cámara de incubación para mantener la temperatura a 30° C.

4.3 SISTEMA DE TRATAMIENTO DE LA VINAZA CON UN REACTOR ANAEROBIO DE LECHO EMPAQUETADO

El sistema de tratamiento de vinaza está compuesto por un reactor anaeróbico de lecho empaquetado (RALE) con recirculación (Figura 4.6.).

El periodo de operación total en el RALE fue de 380 días, el que se dividió en cuatro etapas, cada una a una VCO fija y mayor a la de la etapa anterior, como se muestran en la Tabla 4.3.

Fue de crucial importancia durante cada etapa controlar la relación α , que establece la proporción de ácidos grasos volátiles (AGV), respecto de la alcalinidad total del bicarbonato, ya que un valor alto de este parámetro indica una acidificación inminente (*Chernicharo, 2007*).

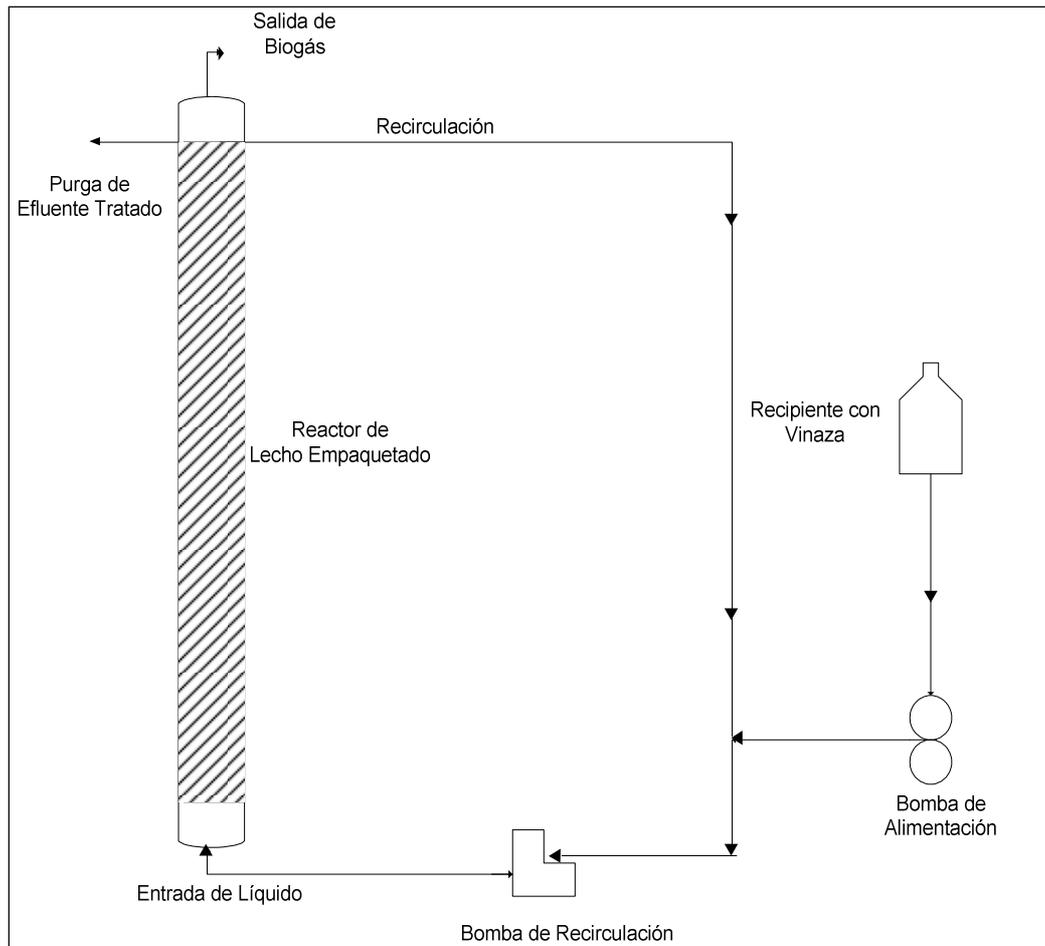


Figura 4.6. Diagrama del sistema de tratamiento de vinaza con un reactor anaeróbico de lecho empacado.

Recirculación

El sistema se inoculó con los lodos previamente acondicionados, haciéndolos recircular a través del reactor por el periodo de una semana, utilizando una bomba de alto caudal, para evitar que se tapone el lecho con los lodos. Después de ese tiempo, se cambió la bomba de recirculación por una de menos caudal, para respetar la relación de recirculación recomendada por *Jhung y Choi (1995)* de 500% del caudal influente, para evitar la “canalización” y el taponamiento del lecho. A medida que se aumentó el caudal de alimentación disminuyó la relación de recirculación, sin presentar problemas de atascamiento. Las relaciones de recirculación utilizadas fueron: 1/350 para la etapa I, 1/224 para la etapa II, 1/124 para la etapa III y 1/95 para la IV etapa.

4.3.1 PUESTA EN MARCHA Y OPERACIÓN DEL REACTOR DE LECHO EMPAQUETADO

Inoculación del RALE

Para lograr un adecuado funcionamiento de los sistemas anaeróbicos es, indispensable generar las condiciones ambientales favorables para el desarrollo y crecimiento de la biomasa microbiana.

En la etapa de inoculación, se buscó promover la producción de biopelículas por parte del consorcio microbiano, de manera que se adhieran al material inerte dentro del reactor con el fin de inmovilizar la biomasa. Este proceso es fundamental para el futuro operativo del reactor.

La inoculación propiamente dicha consistió en hacer circular a través del lecho soporte, en sentido ascendente, los lodos floculentos, previamente cultivados en las condiciones descritas anteriormente. Para completar el volumen del sistema se agregó agua.

Se conectaron ambos reactores, el RMC y el RALE, para poder hacer circular el lodo activado del primero a través del segundo. Para conseguirlo se utilizó una bomba periférica de 7 l/min conectada a la salida del RMC, con la válvula inferior de entrada al RALE (Figura 4.7).

El lodo comenzó a recircular a través del soporte de relleno del RALE, por un periodo de 7 días, en los que no se alimentó el reactor. A partir del octavo día, se separó el recipiente del RMC del sistema, junto con la bomba de recirculación y se comenzó a alimentar con vinaza, dando inicio a la etapa de arranque.

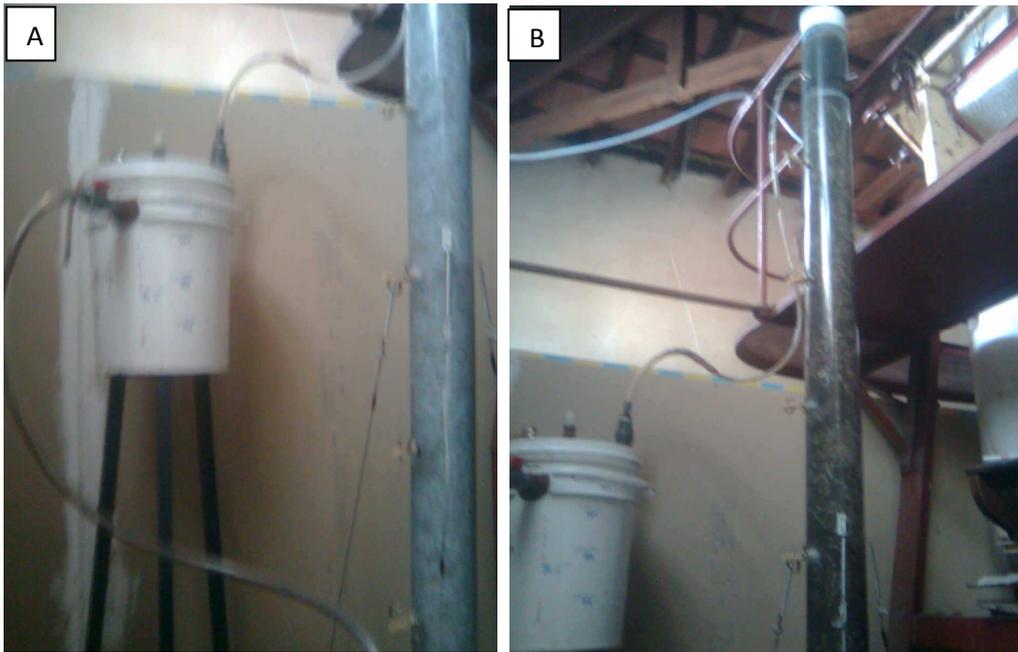


Figura 4.7. Sistema de inoculación de lodos en el RALE, en A) el reactor de mezcla completa conteniendo lodos anaerobios es conectado al RALE; en B) el lodo ya está recirculando por el reactor.

Arranque y operación del RALE

El arranque de un reactor anaerobio es el periodo de tiempo durante el cual la biomasa anaerobia se adapta en cantidad y calidad a las características del agua residual. La duración de la etapa de arranque dependerá del tiempo que se requiera para obtener una calidad constante del efluente y una masa de lodo suficiente, que no varíe cualitativamente en el tiempo. Generalmente se identifica el final del arranque en lo que respecta a biomasa, con la aparición del fenómeno de granulación y/o formación de un floc, o biopelículas estables (Rodríguez J. A., 2003). Una vez que se comprobó visualmente la formación de biopelículas en el lecho del reactor se comenzó a alimentar con vinaza a una VCO de 3 Kg DQO/m³d.

Criterio de aumento de carga

Para definir el aumento de carga dentro del reactor se utilizaron como indicadores de estabilidad, la relación α y la remoción de DQO.

La relación α . debía mantenerse en valores cercano al óptimo de 0,3 para indicar una operación estable (Chernicharo 2007), cuando los valores de α

superaban al óptimo por 0,2 tantos o más, se recirculó el reactor sin alimentación, hasta su estabilización.

En cuanto a la remoción de la DQO, se consideró estable el reactor, para el aumento de la carga orgánica, cuando la eficiencia de remoción superó el 60%, considerando siempre los resultados obtenidos, una vez alcanzado el estado estacionario. Este valor se tomó de publicaciones anteriores (*Rivera et al 2002; Siñeriz, 1982*), donde la eficiencia de remoción promedio de DQO reportadas en RALEs era entre 60 y 75%. Es decir, recién se consideró aumentar la VCO, cuando el porcentaje de eficiencia de remoción durante la fase estacionaria fue igual o superó al 60%.

Alimentación continúa del RALE. Parámetro operacional

La concentración de la materia orgánica, en términos de DQO, de las vinazas de alimentación no fue siempre constante, incluso con vinazas de una misma destilería ya que, como se vio anteriormente, ésta varía de acuerdo al origen y al proceso industrial. A pesar de ello, los valores promedios se mantuvieron dentro de los mostrados en la tabla 4.1a.

Por lo tanto cada vez que se utilizó un lote nuevo de vinaza, se recalculó el caudal de alimentación de acuerdo a la DQO del lote en uso, para mantener la VCO establecida en el proceso.

En la tabla 4.3, se muestran las velocidades de cargas utilizadas, el tiempo de retención hidráulico (τ) (establecido como la relación entre el volumen del reactor y el caudal de alimentación) y el tiempo de duración de cada etapa. A lo largo de la operación del RALE, se disminuyó el τ , con el aumento del caudal de alimentación. El τ más alto fue de 33,3 días y se llegó a trabajar con un τ de 8,5 días, presentando con éste último, cierta dificultad en la recuperación del sistema y una baja sensible en la remoción de materia orgánica, que alcanzó el mínimo valor (53,8%). Según *Patel y Madamwar (2000)* este efecto puede deberse a la pérdida de biomasa producida por las fuerzas de corte del flujo en el reactor cuando se trabaja a τ por debajo de los valores críticos.

El tiempo de duración de cada etapa se manejó por los criterios de aumento de cargas descritos arriba.

Tabla 4.3. Parámetros operacionales en el RALE durante su funcionamiento

ETAPA	VCO (KgDQO/m ³ .d)	TRH (días)	Duración (días)
I (Arranque)	3	33,3	81
II	6	20	133
III	10	11	65
IV	12	8,5	101

4.3.2 EVALUACION DEL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA DE TRATAMIENTO DE VINAZA

Como variable de respuesta se utilizó la eficiencia del proceso, medido como remoción de la DQO.

Las variables de control del sistema fueron, la alcalinidad, el pH y la relación α , para todos los niveles de carga aplicados.

4.3.2.1 ALCALINIDAD Y pH

El poder atemperante dentro del reactor es en gran parte debido a la alcalinidad del bicarbonato, por lo que el monitoreo de este parámetro se vuelve fundamental para el buen funcionamiento del reactor. En un reactor anaeróbico se torna más importante la medición periódica de la alcalinidad que del pH, ya que por tener una escala logarítmica, el pH, pequeños abatimientos en este parámetro, significan grandes cantidades de alcalinidad consumida, que disminuyen la capacidad tamponante del medio.

Los reactores anaeróbicos se acidifican debido a sobrecargas y presencia de tóxicos, que producen un desbalance entre las poblaciones bacterianas que realizan el proceso de acidogénesis y metanogénesis. Como consecuencia podrían acumularse los AGVs, sobrepasar la capacidad buffer del sistema y afectar el pH, lo que finalmente provocaría la acidificación del reactor. La medida del pH como parámetro de control no permite adelantarse al evento de acidificación del sistema, pues su disminución es la respuesta al agotamiento de la alcalinidad. (*Chernicharo, 2007*)

En la Figura 4.8 se muestran las variaciones de la concentración de la alcalinidad y pH durante el funcionamiento del reactor. Los valores iniciales de

alcalinidad estaban en el orden de los 4000 mg CO₃⁼/l, y fueron aumentando linealmente a medida que transcurrían los días.

La segunda etapa fue la que mostró mayor variabilidad en las mediciones de alcalinidad, debido probablemente a que por falta de disponibilidad de vinaza, durante los días 166 y 173, se alimentó con efluente de una fábrica de levaduras, que tiene valores de DQO 50% menores a las que se detectan en las vinazas, aunque con una conductividad similar. Los cambios en la concentración de alcalinidades no se debieron solo al cambio de sustrato, sino también al cambio de condiciones como ser aumento del caudal de alimentación (y disminución del τ), para poder ajustar la VCO a la nueva DQO.

Cuando se empezó a alimentar con vinaza nuevamente, se obtuvo un aumento gradual de la alcalinidad desde 11500 hasta 13000 mg CO₃⁼/l. A partir de allí el valor siguió aumentando a pesar del cambio de VCO a 10,8 KgDQO/m³.d (etapa III) donde se estabilizó en valores alrededor de 15500 mg CO₃⁼/l. En la cuarta etapa, luego de una semana de funcionamiento a 12 kgDQO/m³.d de VCO, la alcalinidad comenzó a disminuir hasta un mínimo de 11000 mg CO₃⁼/l en el día 354. A partir de ese instante se notó una recuperación de la alcalinidad hasta valores cercanos a los 17000 mgCO₃⁼/l. Estos valores rondan los determinados por *Lema et al. (1992)*, para los sistemas de tratamientos anaerobios de aguas residuales; donde aseveran que se debe garantizar una capacidad mínima tampón de 1,5 g/l para evitar posibles desestabilizaciones por acumulación de ácidos orgánicos y disminución del pH del sistema. Lo que demuestra la fortaleza del sistema para conseguir por si solo las condiciones de funcionamiento sin necesidad de agregados externos de bicarbonatos. Incluso con cambio de sustrato, nunca el valor de alcalinidad fue menor de 8 g/l.

Durante el periodo de funcionamiento, el pH en el reactor se mantuvo estable, con un valor promedio fue de $7,95 \pm 0,49$. Estas condiciones aseguraron el buen funcionamiento de las arqueas metanogénicas. En la última etapa se nota una tendencia a la disminución del pH, este fenómeno se puede deber a que al haber menor actividad metanogénica, reflejado en la disminución de la eficiencia de remoción, disminuye también el efecto alcalinizador de las arqueas metanogénicas, que se conoce, son consumidoras de hidrógeno y de los iones H₃O⁺ (*Patel y Madamwar, 2000*).

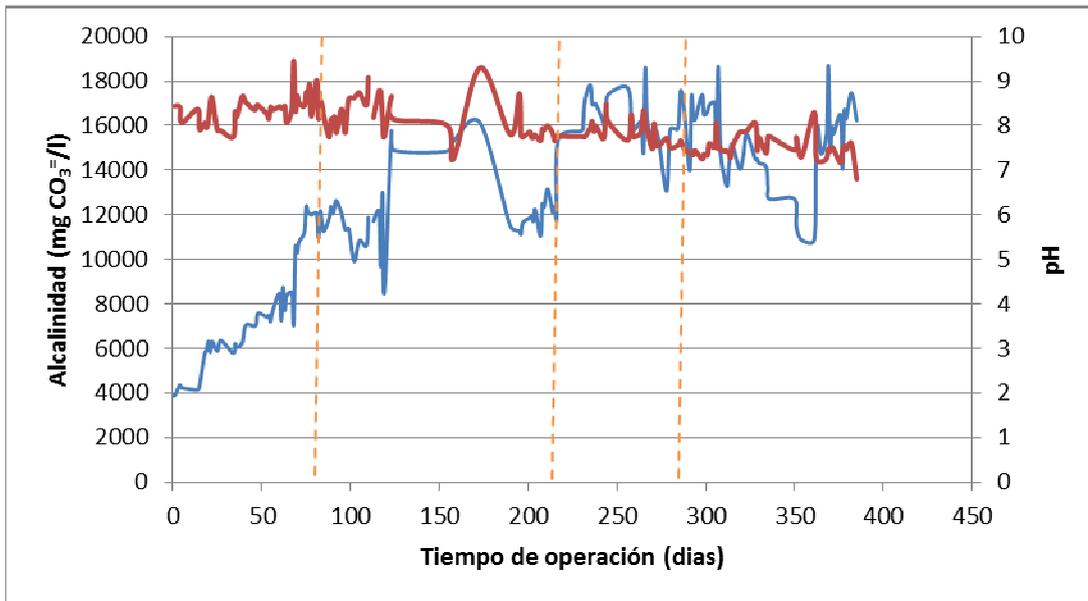


Figura 4.8 Monitoreo de los parámetros de funcionamiento (alcalinidad total y pH) del RALE, utilizando vinaza como sustrato.

Referencias: — Alcalinidad; — pH en el reactor

4.3.2.2 RELACIÓN α

La relación α se utiliza como indicador de la estabilidad por ser más sensible que la alcalinidad para el control del proceso (Caijas Ceron et al 2005). Además de ser un indicador de estabilidad del reactor, permite determinar rápidamente la acumulación de AGV en el sistema. Facilitando la predicción de un desequilibrio entre las arqueas metanogénicas y el resto del consorcio microbiano que pueden llevar a la acidificación del reactor

Durante el funcionamiento del RALE la relación α se mantuvo en un valor promedio de $0,43 \pm 0,11$ durante toda la operación, lo que indica un proceso estable, ya que la proporción óptima de AGV/alcalinidad total debe ser del 30 % (Chernicharo, 1997). Valores superiores indican la ocurrencia de disturbios en el proceso de digestión anaerobia; sin embargo, dependiendo del agua residual, es posible que la estabilidad del proceso ocurra para valores diferentes a 0,3 siendo prudente la verificación para cada caso en particular (Foresti et al 1998).

La estabilidad del sistema en cuanto a las proporciones de AGV/alcalinidad, quedan expresadas en los valores de relación α , (Tabla 4.4) promediados de las últimas 15 mediciones de cada etapa, para asegurar las condiciones de

estado estacionario (las mediciones se realizaron después haber transcurrido al menos tres veces el τ).

Tabla 4.4 Valores promedios de relación α , para cada etapa, en el estado estacionario.

	Etapa I	Etapa II	Etapa III	Etapa IV
Relación α	0,39	0,31	0,35	0,51
Desviación estándar	0,07	0,03	0,11	0,07

Al final de cada etapa los valores de este parámetro permiten inferir que, durante la operación, los AGV no se habrían acumulado como intermediario sin ser degradados aun después de haberse duplicado la VCO, lo que demuestra la robustez del sistema. El límite parece estar en la última etapa, donde el valor de relación α , está más de 0,2 puntos por encima del valor óptimo.

Los altos valores de relación α , alcanzados en la primera etapa, durante el arranque del proceso (Tabla 4.4) indican que hubo una acumulación de AGV sin degradar. La explicación a este hecho, radica en que durante la etapa de arranque la carga orgánica, que entraba al reactor superaba la capacidad de las bacterias metanogénica para degradarla, propiciando la acumulación de los metabolitos intermediarios (AGV). Luego con el pasar del tiempo y al aumentar la biomasa metanogénica acetoclástica, la concentración de AGV tiende a disminuir y estabilizarse alcanzando el equilibrio dinámico del consorcio microbiano

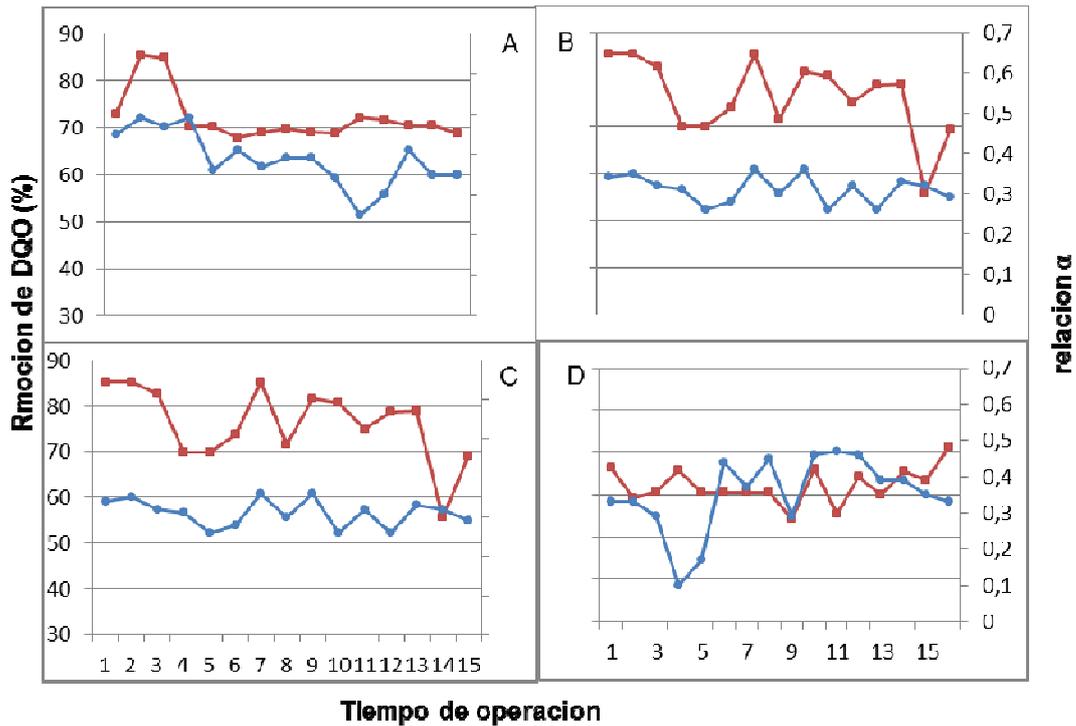


Figura 4.9. Evolución de la relación α y remoción de la DQO(%), durante el estado estacionario de cada etapa. A) Etapa I; B) Etapa II; C) Etapa III y D) Etapa IV.

Referencias: Remoción de DQO (%) —■— ; Relación α —●—

En la Figura 4.9, se muestra como varían la eficiencia de remoción de la materia orgánica y la relación α , en cada etapa, durante el estado estacionario. Se observa que a valores menores de α , se produjeron mayores valores de remoción de DQO. Esto se condice con los resultados presentados por *Cajiras Ceron et al (2005)*, que encontraron que los valores de la relación α , influye en las eficiencia de remoción de los reactores, indicando que la disminución de la alcalinidad debida al bicarbonato afecta de forma negativa al sistema disminuyendo la remoción de la DQO.

4.3.2.3 EFICIENCIA DEL RALE A DISTINTAS VCO

En la Figura 4.10 se observa la variación de la eficiencia de remoción del RALE a las distintas VCO de funcionamiento.

La remoción de la materia orgánica expresada como porcentaje de DQO abatida, comenzó siendo muy elevada, cerca del 90% y fue disminuyendo con el tiempo a medida que el reactor se alimentaba. Este fenómeno es atribuido a la dilución que sufre la vinaza cuando entra al sistema, por lo que se tuvieron en cuenta las últimas quince mediciones de cada etapa para el cálculo de la

remoción, considerando que se había alcanzado el estado estacionario, por haber transcurrido un tiempo mayor (excepto la etapa I) a 3 veces el τ (González y Valdés, 1994).

Se observó que los valores de remoción, tendieron a disminuir con el aumento de la VCO (Figura 4.10), siendo los valores de remoción de $72,3 \pm 5,4$; $75,2 \pm 9,9$; $61,6 \pm 3,7$ y $53,8 \pm 4,3$ para las etapas I, II III y IV respectivamente.

Estos valores y tendencias coinciden con los encontrados en la bibliografía (Berries et al., 1982; Dahab y Young, 1982; Garcia-Buendia y Fernandez, 1988), donde trabajando con sistemas similares, informan valores entre el 60 y 80 % de remoción, para variaciones de VCO entre 1 y 10 KgDQO/m³d, utilizando líquidos residuales de destilerías.

El menor valor de remoción obtenido fue de $56,8 \pm 7,5\%$ que correspondió a la última etapa (VCO= 12 KgDQO/m³.d). Si bien es un valor bajo es superior al reportado por Rivera et al. (2002), de 42,4% para una VCO de 10,52 KgDQO/m³.d., utilizando también vinaza de destilería de alcohol como sustrato. El grafico de la figura 4.10, muestra como disminuye la eficiencia de remoción con el aumento de VCO. La mayor eficiencia se obtuvo en la II etapa, con una VCO 6 KgDQO/m³.d, donde se alcanzó la remoción más alta ($75,2 \pm 9,9 \%$). Valores mayores de VCO produjeron disminución de la eficiencia de remoción. La tercera etapa presentó una reducción en la remoción del 18,8% con respecto a la etapa II y la cuarta etapa una disminución del 28,5% sobre la misma referencia.

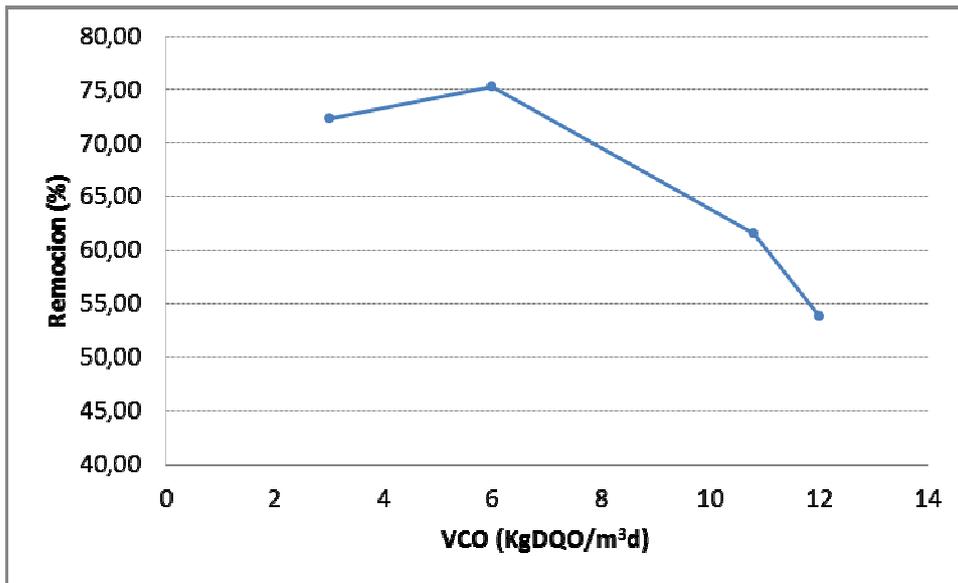


Figura 4.10. Analisis de la variacion de la remocion de la DQO% con el aumento de la carga organica (VCO).

Esta disminución de la eficiencia de remoción por debajo de los valores admisibles, en la última etapa, se debieron con seguridad a la sobrecarga del sistema, indicando que para las condiciones ensayadas se ha llegado al límite de carga.

4.3.2.4 INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA SOBRE LA REMOCIÓN DE LA DQO

Si bien el RALE se encontraba dentro de un laboratorio, la temperatura del mismo nunca fue controlada.

A pesar de ello la temperatura ambiente media durante el periodo de ensayo fue de 20,3° C (dato proporcionado por la sección meteorología de la EEAO) y la temperatura media del reactor para el mismo período fue de 30,1° C.

La temperatura de funcionamiento del reactor estuvo dentro de las consideradas como normales para los reactores de lecho fijo (*Chernicharo, 2007*), para una población mesofílica; aunque por debajo de la óptima de 37° C reportada por *Patel y Madamwar, (2002)*. En la figura 4.11 se muestra la variación de la remoción de la DQO con la temperatura ambiente. El coeficiente de correlación entre la dos variables es de 0,12. Estableciendo que no existe una dependencia de la remoción con respecto a la temperatura ambiente.

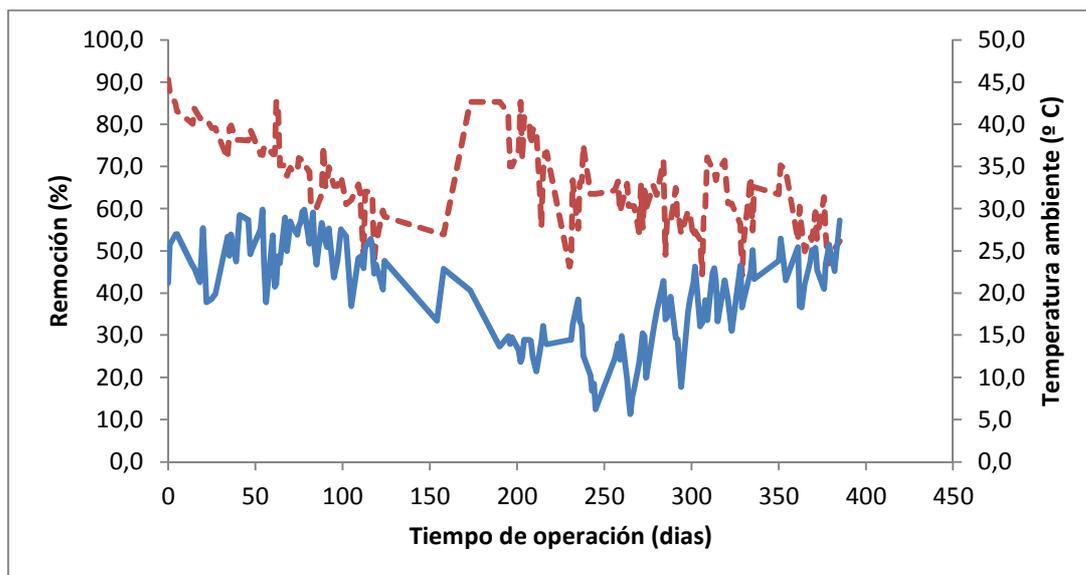


Figura 4.11. Variación de la remoción DQO% del RALE con la temperatura ambiente, durante su funcionamiento. Referencia : Remoción % --- ; Temperatura ambiente —

4.3.2.5 OBTENCION DE LA CONSTANTE CINETICA DE DEGRADACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA

La constante cinética de degradación de materia orgánica “K” se determinó con los valores promedios de DQO a la entrada y salida al reactor, de las quince últimas mediciones realizadas para cada etapa, de esta forma se aseguró conseguir el estado estacionario para cada una de ellas. Los datos obtenidos se muestran en la tabla 4.5.

Tabla 4.5. Valores utilizados para el cálculo de la constante de degradación “K”

ETAPAS	S_0 (mgDQO/l)	S_e (mgDQO/l)	S_0-S_e (mgDQO/l)	τ (d)	$R_{RS} =$ $[(S_0-S_e)/\tau]$ (mgDQO/l.d)
I	120933± 7044	33350± 6479	87643	33	2629,3
II	145439± 2821	42359± 8184	103080	20	5154,0
III	107999± 15098	40725± 6617	67274	11	6054,7
IV	115267± 8816	49938± 5006	65329	9	7665,2

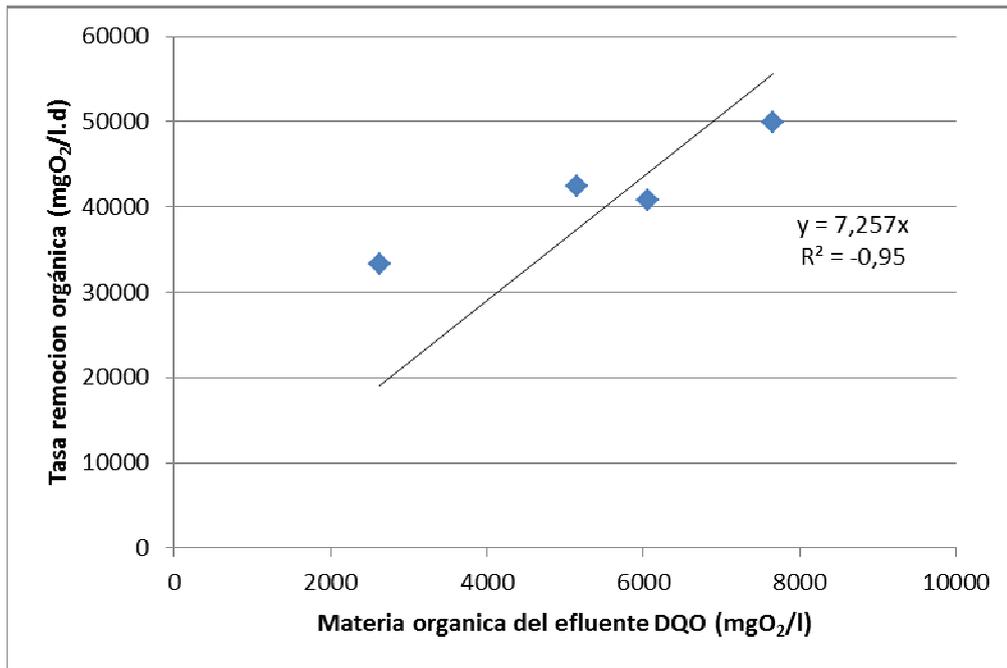


Figura 4.12. Tasa de remoción volumétrica de la materia orgánica (R_{RS}) en función de la concentración de la materia orgánica en el efluente del reactor (S_e)

De la figura 4.12 se calculó la pendiente de la recta obtenida al aplicar la regresión lineal a los puntos marcados. El valor de dicha pendiente fue la constante de degradación de la materia orgánica; para este caso $K = 7,257 \text{ d}^{-1}$.

No se encontraron valores de constantes cinéticas de degradación para RALEs funcionando con vinazas, en cambio existen otros que presentan mucha variabilidad, por ejemplo los publicados por Borja y Banks (1994) que presentaron valores entre 0,9 y 4,7 d^{-1} utilizando reactores de lecho inmovilizado, alimentados con desechos de frutas acidificado como sustrato. Diamantis y Aivasidis (2010), encontraron diferentes K , a diferentes temperaturas (23, 21 y 19 d^{-1} , para 37,30 y 25° C respectivamente), en un mismo sistema UASB alimentado con efluentes de frutas pre-acidificados.

La constante K , está estrechamente relacionada, tanto con el tipo de efluentes (complejo, simple soluble o no), como con las condiciones operacionales (concentración de biomasa, pH, temperatura, etc) por lo que varía sensiblemente para sistemas distintos (Diamantis y Aivasidis, 2010), por lo que se puede decir que la K encontrada es aplicable al sistema ensayado en las condiciones ensayadas.

4.4 COMPOSICION DEL BIOGAS PRODUCIDO POR EL RALE

Debido a complicaciones con el sistema de medición de caudales de biogás, resultó imposible determinar el flujo de biogás producido durante el ensayo. No obstante, se pudo obtener datos acerca de la composición del biogás, por lo menos durante la última etapa de funcionamiento.

Los resultados de los análisis del biogás en la última etapa del ensayo, mostraron un $39,21 \pm 2,6\%$ de metano (tabla 4.5). Estos valores son menores a los publicados por Prats en 1996, quien habla una proporción de entre 40 y 50 % de metano en el biogás de residuos agropecuarios y a los 58 % publicados por Sanchez Riera et al. (1985) para un biogás producido a partir de vinaza

Tabla 4.6 Composición del biogás producido durante la última etapa de funcionamiento del RALE a una VCO de 12 kgDQO/m³d.

Gas	proporción
Metano CH4	37,21
Aire (CO2)	56,93
Otros Gases	5,86

Si bien no se midió concentración de H₂S en el biogás, es de esperar que una gran proporción esté presente junto con la fracción que en la tabla 4.5, se denominó “otros gases”. La presencia de H₂S, significa que hubo una alteración de las vías metabólicas en el digestor anaeróbico debido a la competencia que existe entre las bacterias metanogénicas y las sulfatoredutoras (*Chernicharo, 2007*) y de esa manera podría explicarse la baja proporción de metano en el biogás obtenido.

CONCLUSIONES

5

5. CONCLUSIONES

5.1 CONCLUSIONES DEL TRABAJO

De los resultados detallados y discutidos en el capítulo anterior es posible formular las siguientes conclusiones:

- La vinaza derivada del proceso de destilación para la obtención de alcohol es un sustrato complejo que ha demostrado tener un índice de biodegradabilidad anaeróbica (BA), elevado y por consiguiente ser un buen sustrato para la degradación anaeróbica
- Los lodos de lagunas de sacrificio de vinaza son una fuente efectiva de inóculos para los reactores de alta carga orgánica. En especial para el reactor de lecho empacado, por su alto contenido de sólidos fijos.
- El reactor de lecho fijo resultó ser una tecnología apropiada para el tratamiento de la vinaza, capaz de trabajar a altas velocidades de carga orgánica, ser robusta para los cambios en las cargas orgánicas de trabajo y poseer una gran capacidad buffer capaz, de soportar pH muy bajos con la alimentación sin necesidad de neutralización química.
- El sistema funciona con buena eficiencia de remoción, hasta por lo menos, una velocidad de carga orgánica de 12 KgDQO/m³.d en las condiciones ensayadas y presenta una constante cinética de orden uno de 7,257 d⁻¹
- Además es capaz de producir un biogás rico en metano que puede almacenarse con fines energéticos dándole un valor agregado al tratamiento.

5.2 RECOMENDACIONES

Durante la proyección del trabajo se habían previsto, que el reactor contase con un toma muestra lo suficientemente grande para poder extraer muestras del relleno y así poder cuantificar el crecimiento de la biomasa adherida al soporte, dentro del reactor y con un caudalímetro de gas en línea, para poder cuantificar el biogás producido durante su funcionamiento. Por diversos motivos ni lo uno ni lo otro fueron posibles de realizar, por lo tanto quedan pendiente como futuros trabajos de investigación el estudio del crecimiento de la biomasa dentro del reactor y la producción volumétrica de biogás. Con ambos datos, más el de remoción de DQO, se podría proponer modelos matemáticos para predecir el funcionamiento del reactor a otras escalas.

Otra línea de trabajo que podría surgir a partir de éste, es el estudio de la influencia de las altas concentraciones de azufre en el sustrato y como afecta a la competencia entre las bacterias metanogénicas y las sulfatoreductoras, a la producción de metano.

BIBLIOGRAFIA

6

6. BIBLIOGRAFÍA

ABNT Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1997 Tánques sépticos. Unidades de tratamento complementar e disposição final de efluentes líquidos. Projecto, construção, e operação. NBR13.696, Rio de Janeiro 15p

Adams, C.D., McKinney, R.E., 1989. En Proc. 44th Purdue Ind Waste Conf. Ann Arbor Science pp 1-18. Michigan, E.E.U.U.

AFNOR , Association Francaise de Normalisation, 1997. Norme NFT90-105-2, Dosage des matière en suspension, Methode par centrifugación

Albornoz, P.F., Ramirez M., Rojas Quinteros, H. Migliavacca, J., Quiaia, E.A., 2012. Compost a Partir de Pulpa de Limón y Cachaza. Revista Avance Agroindustrial, vol. 33, N°1, 34-38.

Alvarez J.M, Viturtia A.M., Luengo P.L. y Cecchi F., 1993. Kinetic and performance study of a batch two phases anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes, Biomass Bioenergy ,5, 481-488.

APHA, AWA, WEF, 2005. Standard method for examination of water and wastewater. 21th, Washington DC. American Public Health Association

Bautista-Zúñiga, F., Durán de Baz, M.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.

Beries, A., Raynald,J., Jover, J.P., 1982. Fixed Film Reactor with Plastic Media for Methane Fermentation of distilleries Waste-Water. Proc. 2nd. Conf. Energy from Biomass. Berlín.

Bonastre, N. y Paris, J.M., 1989. Survey of Laboratory, Pilot and Industrial Anaerobic Filter Installations. Process Biochemistry.

Borja R. y Banks C.J., 1994. Kinetic study of anaerobic digestion of fruit processing wastewater in immobilized-cell bioreactor, BiotechnolAppl Biochem. 20, 79-92.

Borja , R. Sanchez E., Martin, A., Jimenez, A.M., 1996. Kinetic Behavior of Waste Tyre Rubber as Microorganism Support in Anaerobic Digester Treating Cane Molasse Distillery Slope. Bioproc. Biosyst. Eng. (16) 17-23.

Borzacconi, L., López, I., 1994. Relevamiento de Reactores Anaeróbicos en America Latina. En: Tratamiento Anaerobio, III Taller y seminário Latinoamericano "Tratamiento Anaerocio de Aguas Residuales", Montevideo, Uruguay.

Briseño Beltran, C.O., 2007. Structural and Environmental Aspect of Bioethanol Production. En Colombia. International Sugar journal V.109 n° 1297 41-45

Bryant, M. P., Wolin, E.A., Wolin, M. J., Wolfe, R. S., 1967. *Arch. Microbiol.* 59, 20-32

Butí, C. y Cancino F., 2005. Ictiofauna de la Cuenca endorreica Salí –Dulce, Argentina. *Acta Zoológica Lilloana*. Vol(1-2) 9-33.

Cajigas Ceron, A. A., Perez Vidal, A., Torres Lozada, P., 2005. Importancia del pH y la alcalinidad en el tratamiento anaeróbico de las aguas residuales del proceso de extracción del almidón de yuca. *Scientia et Technica*. Año XI, nº 27 pp 243-248.

Campos Pozuelo Antonia Elena. 2001. Tesis doctoral. UNIVERSITAT DE LLEIDA, Escola tècnica superior d'Enginyeria Agrària, Departament de Medi Ambient i Ciències del Sòl Laboratori d'Enginyeria Ambiental (LEA).

Cárdenas, G. J., Guzmán, B., 1982. Estudio de composición química y parámetros sanitarios en vinazas de fermentación alcohólica de melazas de caña de azúcar en Tucumán. *Rev. Ind. y Agríc. de Tucumán*. 59(1):71-92.

Castillo, M.E.F., Gomez, A.L., Cobo, D., Aguirre, C., 2010. Cogeneration Potential in Colombian Sugar Factories. *Sugar Industry/Zuckerindustrie* V. 135 nº9 561-565.

Castro Gonzales, A. y Durán de Buzúa, 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.

Chammy M., Rolando, 2005. Avances en Biotecnología Ambiental: Tratamiento de Residuos Líquidos y Sólidos. 2ª ed., Rolando Chamy M, editor gral. Ediciones Universitarias Valparaíso, Chile.

Chen, Y., Cheng, J., Creamer, K., 2008. Inhibition of a Anaerobic Digestion Process: a Review. *Bioresource Technology*. (99) 10 4044-64.

Chernicharo de Lemos, C.A., 2007. Reactores anaerobios. Principios de Tratamiento Biológico de Aguas Residuarias Vol.5, 2º ed. Belho Horizonte Departamento de engenharia sanitaria e ambiental UFGM.

Conil, P., 2006., Manejo de Vinazas: metanización y compostaje, aplicaciones industriales. Nota Técnica en: http://www.tecnicana.org/pdf/2006/tec_v10_no17_2006_p25-28.pdf

Dahab, M.F., Young J.C. 1982. Retention and Distribution of Biological Solids in Fixed-Bed Anaerobic Filter . Proc. 1st. Int. Conf. Fixed Film Biol. Processes, King Island, OHIO.

Dantur N. Scandaliaris, J., Perez Zamora, F. y Roncedo, M., 1996. Aprovechamiento Agrícola de los Residuos de la Agroindustria de la Caña de Azucar. Parte II. El Uso de la Vinaza. *Avance Agroindustrial* 17(1) 38-41.

Diamantis A., Aivasidis A., 2010. Kinetic analysis and simulation of anaerobic treatment of UASB anaerobic treatment of a synthetic fruit wastewater. *Global NEST Journal*, V.12, 2, 176-180.

Fajardo Ortiz, M.C., 1997. Producción de Inóculos para Reactores Anaeróbicos, Tesis de Master en Biotecnología, Universidad autónoma Metropolitana Iztapalapa, México.

Ferry, J., 1993. *Methanogenesis, Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics*. Ed Chapman Hall, New York.

Field, J.A., 1986. The effect of Tannic Compound on Anaerobic Wastewater Treatment. Tesis Doctoral. Universidad de Waweningen. Holanda

Field, J., Sierra Alvarez, R., Lettinga, G., 1988. Ensayos Anaerobios en: Depuración Anaerobia de Aguas Residuales. Actas del 4º Seminario D.A.A.R, Ed. Coordinada por F.Fdz Polanco; P.A García; S. Hernando; Secretariado de Publicaciones Universidad de Valladolid. Valladolid, España.1988.

Foresti, E.F.L., Van Haadel A., Zaiat M., Cavalcanti P., 1999. Fundamentos do Tratamento Anaeróbio. Capítulo 2. En: Tratamento de esgotos sanitários por processo anaeróbio e disposição controlada no solo. PROSAB, Brasil.

Frank Colombres, F., Golato, M.A., Feijóo E., Morales W.D., Paz D., Octaviano M., 2013. Combustion de vinaza con Materiales Celulósicos en Calderas Bagaceras. Presentado para su publicación en *Rev.lind.Agric.Tuc*. 2013.

Gacía-Buendía, A., Fernández, R., 1988. Development and Evaluation of Biofilters with Oriented Support -BSO- by ENADIMSA. Proc. 5th. Int. Symp. En anaerobic digestion, Bologna, Italia.

Galindo, M., Vece, M., Perondi, M., Monserrat Araoz, M., García, M., Hidalgo M. del V., Apella, M., Blesa, M., 2001. Chemical Behavior of the Salí River, Province of Tucumán, Argentina. *Environmental Geology* 40: 847-852

Garcia, J.L., Bhorat, K.C., Patel Ollivierd B., 2000. Taxonomic phylogenetic and ecological Diversity of Methanogenic Archaea. *Anaerob.* 6. 205-226

Garcia, O., A. y Rojas, C.C., 2006. Posibilidad de Uso de la Vinaza en la Agricultura de Acuerdo con su Modo de Acción en el suelo. Nota Técnica en: http://www.tecnicana.org/pdf/2006/tec_v10_no17_2006_p3-13.pdf

Gonzáles, J.S. y Valdés, P., 1994. Aplicación de la Digestión Anaerobia a los Residuales de la Industria Láctea. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 10, 37-40

Goyos, A. y Bolaños, G., 2005. Un Estudio Preliminar Sobre el Tratamiento de Vinazas en Aguas Supercríticas. XXIII congreso Colombiano de Ingeniería Química. Manizales, en:
www.revistavirtualpro.com/files/TIE07_200612.pdf

Hulshoff, Pol L., 1989. The Phenomenon of Granulation of Anaerobic Sludge. Tesis doctoral. Universidad de Wageningen, Holanda.

Hulshoff Pol L.W.; de Zeeuw W.J. Velzeboer C.T.M.; Lettinga G.; 1983 Granulation in UASB reactors. Water Sci Technol. 15. 291- 304.

Jackson-Moss, C.A., Duncan, J.R., Cooper D.R, 1989. The effect of calcium on anaerobic digestion. Biotechnol Lett. 11 (3) 219-224.

Jenkins, J.M.y Sawyer, C., 1983. Measuring Anaerobic Sludge Digestion and Growth by a Simple Alkalimetric Titration . Journal WPCF, 55,n5.

Jhung, J.K., Choi, E., 1994. A Comparative Study of UASB and Anaerobic Fixed Film Reactors with Level Development of Sludge Granulation. Wat Res. Vol29, 1 271-277.

Kugelman, I.J, MacCarty, P.L., 1965 Cation Toxicity and Stimulation in Anaerobic Wastewater Treatment. Journal Water Pollution Control Federation (37) nº1.

Lay, J.J., Li, Y.Y., Noike, T., 1997 Influence of pH and Moisture Content on the Methane Production in High-Solids Sludge Digestion. Water Reserch 31 (10): 1518-1525.

Leclerc, M., Delbes, C., 2001., Single Strand Conformation Polymorphism Monitoring of 16S rDNA Archea During Start Up of Anaerobic Digester FEMS Microbiol. Ecol. 34(3):213-220.

Lema, J.M., Méndez, R. Soto M., 1992. Bases Cinéticas y Microbiológicas en el Diseño de Reactores Anaerobios. Rev. Ingeniería Química, Enero, 191-201.

Lemos de Brito, F., Rolim, M.M., 2005. Comportamento do Efluente do Solo Fertirrigado Com Vinhaza. Agropecuaria Técnica V.26 nº1 60-67

Lettinga, G., Hulshoff Poll, L.W., 1996. Biological Wastewater Treatment. Part I: Anaerobic Wastewater Treatment. Lectures notes. Wageningen Agricultural University. Ed January 1996.

Lettinga, G., van Velsen, A. F.M., Hobma, S.W., de Zeeuw, W., Klapwijk, A., 1980. Use of the Upflow Sludge Blanket (USB) Reactor Concept for Biological Wastewater Treatment, Specially for Anaerobic Treatment. Biotech and Bioeng Vol 22, Issue 4, 699–734.

Lopez, I., Borges, L.I., Odriozola, M., Ramos, D., Passeggi, M., Borzacconi, L., 2011. Potassium Inhibition in Anaerobic Treatment of Distillery Vinasse. X DAAL. X Latin american workshop an symposium on anaerobic digestión, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil.

Maestrojuan, G., Boone, J., Mah, R.; Sach, M., Boone, D., 1992. Taxonomy and Halotolerance of Mesofilic Methanorsarcina strains, Assigments of Strain to Species and Synonymy of Methanosarcina mazei and Methanosarcina frisia. Int. J. Syst. Bacteriol. 42, 4, 561-567.

M_c Carty, P.L., 1981. History and Overview of Anaerobic Digestión.. Second International Symposium on Anaerobic Digestion.

Metcalf y Eddy, INC., 1998. Ingenieria de Aguas Residuales: Tratamiento, Vertido y Reutilización. 3°ed. Madrid. McGraw Hill Ed. Vol.1., Trsduccion de la 3°ed. En ingles: Wastewater engeneering, Treatm ent, Disposal , Reuse.

Ministerio de desarrollo productivo de la provincia de Tucumán, 2012. www.producciontucuman.gov.ar/documentos/Dir_programación_Desarrollo/azucar2012.pdf

Molina, C.F; Intartaglia, C., 2010. Biometanización: una Alternativa Tecnológica para el Tratamiento de las Vinazas de Destilarias de Alcohol en Tucumán. Avance Agroindustrial Vol. 31 No. 1 pp. 37-41.

Montserrat Pérez, Romero, L.I, Nebot, E., Sales, D., 1997. Colonization of a Porous Sintered-Glass Support in Anaerobic Thermophilic Bioreactors.

Morandini, M., 2011. Alternativa de Manejo de Vinaza en Tucumán. Informe de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres presentado a la Secretaria de Estado de Medio Ambiente de la provincia de Tucumán.

Noyola, A. 1994. Diseño, Inoculación y Arranque de Reactores UASB. En III Taller y seminario Latinoamericano "Tratamiento de Aguas Residuales" Montevideo Uruguay, pp.133-143.

Patel, H., Madamwar, D., 2002. Effects of Temperatures and Organic Loading Rates on Biomethanations of Acidic Petrochemical Wastewater Using an Anaerobic Up-Flow Fixed-Film Reactor. Biosource Technology 82, 65-71.

Perera, J.G.H., 2009. Concentración y Combustión de Vinazas en: www.tucuman.gov.ar/variados/docs/concentracionYcombustionDe_Vinazas.pdf

Perez Bermudez, I. y Garrido Carralero, N., 2006. Aprovechamiento Integral de Vinazas de Destilería. Instituto Cubano de Investigaciones de los derivados de la caña de azúcar (ICIDCA) en: <http://www.inese.es/html/files/pdf/amb/iq/435/09ARTICULOAB.pdf>

Pérez Zamora, F., Scandaliaris, J, Dantur N.C., Roncedo, M., 1990. Efecto de Altas Dosis de Vinaza en la Brotación y Crecimiento Inicial de la Caña (Edad Planta). Rev. Ind y Agrícola de Tucumán 67 (1) 79-89.

Pieper, H.J., 1990. Utilization of Waste Materials in Alcohol Industry. Food Biotech. 4 (1) 203-214.

Pintos, J.D.S. y Chernicharo, C.A.L., 1995. Tratamiento de Esgoto Doméstico em Filtro Anaerobio Utilizando Rejeito da Industria Siderurgia como Meio Soporte. En: Anais do 18° Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitaria e Ambiental, ABES. Salvador.

Ploper, L.D y Morndini. M., 2011. Alternativas de Disposición de la Vinaza en los Suelos de Tucumán. Informe de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres presentado a la Secretaria de Estado de Medio Ambiente de la Provincia de Tucumán.

Ponsá salas, S., 2010. Diferentes Indices Para Expresar la Biodegradabilidad de Residuos Sólidos Orgánicos. Aplicación a Plantas de Tratamiento de Residuos a Escala Industrial. Tesis Doctoral. Escola d'engenyeria; Universitat Autònoma de Barcelona.

Prats I., 1996. Manual de Gestión de Purines de la Selva, Reutilización Agrícola. España. Generalitat de Catalunya. Revista computarizada de producción porcina, vol 6, 2, 40-41.

Rajeshwari, K.V., Balacrishnan, M., Kansal, A., Lata, K., Kishore, V.V.N., 2000. State of Art of Anaerobic Digestion Technology for Industrial Wastewater Treatment Renew. Sust. Energy Rev. 4. 156-156

Rigola Lapeña, 1989. Tratamiento de Aguas Residuales: Aguas de Proceso y Residuales. Ed, Boixareud. Alfaomega y Marcombo Ed. Barcelona, España

Rios, L., 2012. Análisis Económico de la Zafra Azucarera en Tucumán y Dinámica del Mercado, Campaña 2012. En: www.inta.gob.ar/documentos/analisis-economico-de-la-zafra-azucarera-en-tucuman-y-dinamica-del-mercado.-campana-2012/at_multi_download/file/ev.econ.zafra.azucarera2012.2013.pdf

Rivera, A., Gonzáles, J.S., Castro R., Guerrero, B., Nieves, G., 2002 Tratamiento de Efluentes de Destilería en un Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente. Rev. Int. Contam. Ambient. 18 (3) pp. 131-137.

RODRIGUEZ, J.A. 2003. Arranque y operación de reactores anaerobios. Universidad del Valle. Cali (Colombia).

Sánchez Riera, F. Cordoba, P., Siñeriz, F., 1985. Use of the UASB Reactor for the Anaerobic Treatment of the Stillage from Sugar Canne Molasses. Biotech and Bioengi V. 27 1710-1716.

- Sanchez Riera, F., Valz-Gianinet, S., Callieri D., Siñeriz, F. 1982. Use of a Packed –bed Reactor for Anaerobic Treatment of Stillage of Sugar Cane Molasses. *Biotechnology letters*. V4, 2 127-132
- Santos Manhaes, M., DeSouza, D., Alves Berto, P.N., 2003. Acumulo de Potássio em Solos de Areas Canasvieiras Fertirrigadas no Norte Fulminense. *Agronomia* V.37 nº1 64-68.
- Scandaliaris, J., Dantur, C.N., Roncedo, M., 1987. Influencia de la Vinaza Sobre la Producción de Caña de Azúcar y las Propiedades del Suelo. *Rev. Ind. Y agrícola de Tucumán*. 64 (1): 1-44.
- Schnell, S., Schink, B., 1992. Anaerobic Degradation of 3 Amino Benzoate by a Newly Isolated Sulfate Reducer and a Methanogenic Enrichment Culture. *Arch. Microbiol.* 158:328-334.
- Secretaria de Estado de Medio Ambiente de la Provincia de Tucumán (SEMA) y Secretaria de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación (SAyDS). 2007. Principio de acuerdo marco. En: <http://aplicaciones.medioambiente.gov.ar/archivos/web/UPLCS/File/Anexos%20Cuenca%20Sal%20Dulce%20-%20Informe%20a%20Dic%202007.pdf>
- Secretaria de Estado de medio Ambiente de la Provincia de Tucumán. 2009. Resol 030/2009
- Secretaria de Estado de Medio ambiente de la provincia de Tucumán. (SEMA), 2011. Resolución 47/2011 S.E.M.A; “Alternativa de manejo de la vinaza en Tucumán. Aplicación de la vinaza en suelos no productivos”
- Secretaria de Estado de Medio ambiente, de la provincia de Tucumán (SEMA), 2011 Resolución 40/2011 S.E.M.A; Protocolo de Aplicación de Vinazas en Suelo.
- Seth, R., Goyal, S.K, Handa, B.K., 1995., Fixed Film Biomethanation of Distillery Spentwash Using Low Cost Porous Media. *Res. Cons. and Rec.* 14, 78-89.
- Siñeriz F., Diaz, H.F., Cordoba, P.R., Sanchez Riera, F. 1982. Avances en Digestión Anaeróbica. *Memorias del Segundo Simposio Panamericano de Combustibles y Productos Químicos Vía Fermentación*. Guatemala, p.124-8.
- Siñeriz, F., 1988. Report on the Use of Biomethanation in Argentina. *MIRCEN Journal* issue 1, (4); 143-149
- Soubes, M., 1994. Microbiología de la Digestión Anaerobia, en: *Tratamiento Anaerobio. III Taller y seminario Latinoamericano “Tratamiento de aguas residuales”* Ed. Universidad de la Republica, Montevideo, Uruguay.

Speece, R.E., 1983., Anaerobic Biotechnology for Industrial Wastewater Treatment. Environ. Sci. Technol., Vol. 17, No. 9.

Tejerina, W.A., Carmona, C.S., Laschi, M.J., Seghezzi, L. y Cuevas, C.M. 2004. Biodegradabilidad Anaeróbica de Efluentes Cerveceros, Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente Vol. 8, N° 2, 2004.

Thiele, J.H., Wu, W.-M., Jain, M.K., Zeikus, J.G., 1990. Ecoengineering high rate anaerobic digestion systems: analysis of improved syntrophic biomethanation catalysts. Biotechnol. Bioeng. 35, 990–999.

Vazoller, R.F., Manfio, G.F.P., Canhos, V.P., 1999., “Dominio *Archaea* Reinos Crenarcheotas, Euryarcheota y Korarcheota” en: Série Biodiversidade do estado de Sao Paulo, Vol.1: microorganismos e virus- Ed. Dr. Vamderle Perez Canhos- FEA/UNI-CAMP & Rosana F., Vazoller-Engenharia de Sao Carlos/USP.

Vega de Kuyper, J.C., 2007. Química del Medio Ambiente 2° Edición, AlfaOmega Grupo Editor ; Enero de 2007, México

Young, J.C, McCarty, P.L., 1969. The Anaerobic Filter for Waste Treatment. Water Pol. Cont. Federat. 41, 5

Young, J.C., y Yang, B.S., 1989. Design Consideration for Full Scale Anaerobic Filter. J.Wat. Pollution Control Fed. 61, 1576-1587.

Zhang, B., Zhao, H., Zhou, S., Shi, C., Wang, C., Ni, J., 2009. A Novel UASB-MCF-BAF Integrated System For High Strength Molasses Wastewater

APENDICE

7

7. APENDICE I

6.1 DETALLE DE MÉTODOS ANALÍTICOS: COMPOSICION Y PREPARACION DE LAS SOLUCIONES, INTERFERENCIA DE LOS METODOS

DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

Interferencias del método: los tubos de digestión y tapas a utilizar deben ser lavados antes del uso, en una solución de H_2SO_4 al 20%, de esta manera se previene la contaminación. Para muestras conteniendo cantidades significativas de iones inorgánicos (Fe, Sulfuro, magnesio, manganeso, etc.) suponiendo que se oxidan estequiométricamente y conociendo su concentración inicial, se obtiene el valor de la DQO por medio de correcciones (APHA, 2005).

Reactivos

- Solución de digestión (A). Agregar 500 ml de agua destilada 4,913 g de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) previamente secado en estufa a $103^\circ C$ por 2 horas, 167 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) y 33,3 g de sulfato de mercurio (II) ($HgSO_4$). Disolver, enfriar a temperatura ambiente y aforar a 1L.
- Solución catalítica (B). Disolver 10,7 g de sulfato de plata ($AgSO_4$) en 1 L de ácido sulfúrico concentrado. Dejar reposar por tres días sin agitar o hasta que se disuelva completamente el sulfato de plata.
- Standard de biftalato ácido de potasio (KHP): (para la preparación de la curva de calibrado). Moler ligeramente y luego secar a $120^\circ C$ el KHP hasta pesada constante. Disolver 425 mg en agua destilada y diluir a 1 L. Esta solución tiene un contenido teórico de DQO de 500 mg/L (ppm) y es estable por 3 meses en refrigeración.

d) Una vez finalizado el tiempo de digestión las muestras son enfriadas a temperatura ambiente y leídas en el espectrofotómetro Hach DR2800 a una longitud de onda de 600 nm.

- e) El espectrofotómetro devuelve el resultado directamente en mgO_2/l . ese resultada debe ser multiplicado por la inversa de la dilución para obtener el valor real de la DQO.

Cada ensayo se realizó por duplicado.

Preparación de las soluciones patrón para la construcción de la curva de calibrado:

- a) Se pesan 425 mg de KHP y se llevan a volumen en un matraz de 500 ml. Esta solución tiene una DQO teórica de $1000 \text{ mgO}_2/\text{l}$.
- b) partir de la solución patrón se preparan cinco diluciones en un rango entre 0 y $1000 \text{ mgO}_2/\text{l}$ de DQO, es decir (200, 400, 600, 800 y $1000 \text{ mgO}_2/\text{l}$).
- c) En los tubos de digestión, se arman las mezclas de reacción agregando: 1,5 ml de solución digestora, 3,5 de solución catalítica y 2,5 de cada dilución preparada en el punto anterior. Por cada dilución se preparan dos tubos de reacción.
- d) Además se prepara un tubo de digestión “blanco”, que posee 1,5 ml de solución de digestión, 3,5 ml de solución catalítica y 2,5 ml de agua destilada. Este tubo representa el $0 \text{ mgO}_2/\text{l}$.
- e) Los tubos se cierran herméticamente y se los coloca en el digestor por 120 minutos a 150°C .
- f) Una vez finalizado el tiempo de digestión las muestras son enfriadas a temperatura ambiente y leídas en el espectrofotómetro Hach DR2800 a una longitud de onda de 600 nm; en el modo de edición de “nueva curva”. De este modo los datos quedan guardados y se le asigna un nombre a los nuevos datos. Cada vez que se renueven los reactivos (solución de digestión y solución catalítica), se debe cargar una nueva curva patrón.

DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO (DBO)

Interferencias: Existen numerosos factores que afectan la prueba de la DBO, entre ellos la relación de la materia orgánica soluble a la materia orgánica suspendida, los sólidos sedimentables, los flotables, la presencia de hierro en su forma oxidada o reducida, la presencia de compuestos azufrados y las aguas no bien mezcladas. Al momento no existe una forma de corregir o ajustar los efectos de estos factores.

DBO carbonácea contra nitrogenácea. La oxidación de las formas reducidas del nitrógeno como amoníaco y nitrógeno orgánico, mediada por los microorganismos, ejercen una demanda nitrogenácea, que ha sido considerada como una interferencia en la prueba; sin embargo, esta puede ser eliminada con la adición de inhibidores químicos. Cuando se inhiba la demanda nitrogenácea de oxígeno, reportar los resultados como demanda bioquímica de oxígeno carbonácea (DBOC₅); cuando no se inhiba, reportar los resultados como DBO₅.

Requerimientos de dilución. Si el agua de dilución es de baja calidad, su DBO aparecerá como DBO de la muestra, efecto que será amplificado por el factor de dilución, y el resultado tendrá una desviación positiva. El método de análisis debe incluir agua de dilución de verificación y agua de dilución como blanco para establecer su calidad, mediante la medición del consumo de oxígeno con una mezcla orgánica conocida, generalmente glucosa y ácido glutámico. La fuente del agua de dilución puede ser: destilada a partir del agua de grifo, o agua libre de sustancias orgánicas biodegradables o bioinhibitorias tales como cloro o metales pesados. El agua destilada puede contener amoníaco o compuestos orgánicos volátiles; el agua desionizada también puede estar contaminada con compuestos orgánicos solubles lixiviados del lecho de la resina; el uso de destiladores con conductos o accesorios de cobre en las líneas de agua destilada pueden producir agua con cantidades excesivas de cobre, que actúa como biocida (APHA, 2005).

Reactivos

- 1) Hidróxido de litio granular.
- 2) Buffer fosfatos. Disolver 207 g de KH_2PO_4 , ajustar el pH a 7,2 con 21,75g de KOH 6 N, aforar a 1000 ml con agua destilada.

- 3) Solución cloruro de amonio 0,71 N. disolver 38.2g de NH₄Cl, ajustar el pH a 7 21,7g de KOH 6N y aforar a 1000 ml con agua destilada.
- 4) Solución de cloruro de calcio 0,25 N.
- 5) Solución de sulfato de magnesio 0,41 N
- 6) Solución de cloruro férrico 0,018 N

Tabla 1. Volúmenes de muestra para el método estándar Hach

Escala de DBO en (mg/L)	Volumen de la muestra (ml)	Volumen de inóculo (ml)	Volumen final (ml)	Factor de dilución
0 a 35	370	10 a 35	420	1.14
0 a 70	305	10 a 35	355	1.16
0 a 350	110	10 a 35	160	1.45
0 a 700	45	10 a 35	95	2.11

Tabla 2. Volúmenes de soluciones nutritivas.

Rango de DBO (mg/l)	Volumen final (ml)	Buffer Fosfato #2 (ml)	Amonio #3 (ml)	Calcio #4 (ml)	Hierro #6 (ml)	Magnesio #5 (ml)	Litio #1 (g)
0-35	420	0,3	0,1	2	2	2	0,45
0-70	355	0,5	0,2	2	2	2	0,45
0-350	160	1,1	0,6	2	2	2	0,45
0-700	95	1,3	2,9	2	2	2	0,45

BIODEGRADABILIDAD ANAEROBIA

Reactivos

(a) **Soluciones para el montaje de los ensayos de actividad metanogénica.** Las Cantidades indicadas para botellas de 100 ml, se detallan en los siguientes cuadros (tablas 3, 4, 5).

Tabla 3. Soluciones de macro y micronutrientes para lodos anaerobios

		Concentración	Cantidad
Solución de Macronutrientes	NH ₄ Cl	85 g/l	0,4 ml
	KH ₂ PO ₄	37 g/l	0,2 ml
	CaCl ₂ .2H ₂ O	8 g/l	0,2 ml
	MgSO ₄ .4H ₂ O	9 g/l	0,2 ml
Solución de elementos trazas	FeCl ₃ .4H ₂ O	1000 mg/l	0,2 ml
	CoCl ₂ .6H ₂ O	1000 mg/l	
	MnCl.4H ₂ O	250 mg/l	
	CuCl ₂ .2H ₂ O	15 mg/l	
	ZnCl ₂	25 mg/l	
	H ₃ BO ₃	25 mg/l	
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	45 mg/l	
	Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O	50 mg/l	
	NiCl ₂ .6H ₂ O	35 mg/l	
	EDTA	500 mg/l	
	HCl 36%	0,5 mL/l	
	Resazurín (Indicador de oxígeno)	250 mg/l	

Tabla 4. Fuente de nitrógeno

Extracto de Levadura	--	0,02 g
----------------------	----	--------

Tabla 5. Solución reductora:

Solución de Sulfuro	Na ₂ S.9H ₂ O	--	0,02 g
----------------------------	-------------------------------------	----	--------

ACTIVIDAD METANOGENICA ESPECÍFICA

Reactivos

(b) **Soluciones para el montaje de los ensayos de actividad metanogénica.** Las Cantidades indicadas para los viales de 100 ml, se detallan en las tablas 3, 4, 5 del apartado 3.5.7 y la tabla 6 a continuación.

Tabla 6. Solución de sustrato:

AGV	3,5-4,5 gDQO _{AGV} /l	3 ml
------------	--------------------------------	------

Esta solución debe mantenerse refrigerada y no almacenarse por más de un mes.

Procedimiento

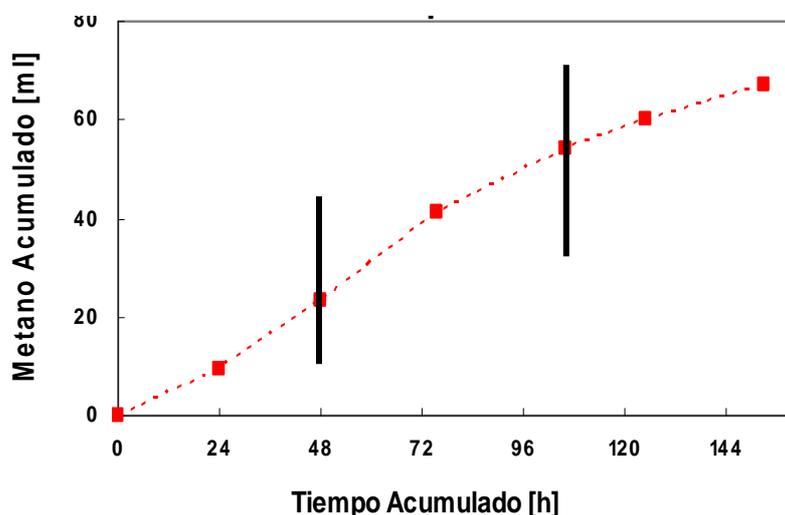


Figura 1. Monitoreo de producción acumulada de metano en el tiempo durante el ensayo de Actividad Metanogénica.

Tabla 7. Factores de conversión para producción de metano

Temperatura (°C)	CH4 Seco	CH4 Húmedo
20	376	385
25	382	394
30	388	405
37	395	418
40	401	433

3.1.11. ALCALINIDAD

Interferencias: Jabones, materia aceitosa, sólidos suspendidos o precipitados pueden entorpecer y causar una lenta respuesta del electrodo de pH.

Reactivos

- a) Solución estándar de ácido sulfúrico 0,1 N. Disolver 2,66 mL de H₂SO₄ concentrado en 1 L de agua destilada
- b) Agua destilada y desionizada.

3.1.12. RELACIÓN α

Interferencias: Jabones, materia aceitosa, sólidos suspendidos o precipitados pueden entorpecer y causar una lenta respuesta del electrodo de pH.

Reactivos

- a) Solución estándar de ácido sulfúrico 0,1 N. Disolver 2,66 mL de H₂SO₄ concentrado en 1 L de agua destilada
- b) Agua destilada y desionizada.