



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

**EVALUACIÓN DE UN PROCESO ANAEROBIO EN DOS ETAPAS PARA LA
PRODUCCIÓN DE METANO A PARTIR DE EFLUENTES VITIVINÍCOLAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA:

FELIPE ANDRÉS OJEDA GONZÁLEZ

TUTOR PRINCIPAL

GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTORAL

EDSON BALTAZAR ESTRADA ARRIAGA, IMTA

JORGE ARREOLA VARGAS, UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE JALISCO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, DICIEMBRE 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

Presidente:	Dr. Juan Manuel Morgan Sagastume
Secretario:	Dra. Gerogina Fernández Villagómez
1 ^{er} Vocal:	Dr. Jorge Arreola Vargas
2 ^{do} Vocal:	Dr. Edson Baltazar Estrada Arriaga
3 ^{er} Vocal:	Dr. Germán Buitrón Méndez

LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL TRABAJO:

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas Unidad Académica Juriquilla, Instituto de Ingeniería, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, Blvd. Juriquilla 3001, 76230 Querétaro, México.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Germán Buitrón Méndez

FIRMA

Dedicatoria

A mis padres Yolanda y Pedro, por el infinito apoyo y amor que me han dado.

*A Daniela y Mauricio por ser un un ejemplo de vida, y por el mejor regalo que me han
dado en la vida, ser el tío de Dominga.*

Y a todos a quienes me acompañaron en esta aventura.

Agradecimientos

Se agradece el apoyo del Fondo de Sustentabilidad Energética SENER – CONACYT a través del proyecto 247006 Clúster de Biocombustibles gaseosos.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de maestría.

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), el Instituto de Ingeniería (II) y al Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (LIPATA) por la facilidad de ocupar sus instalaciones para la realización del trabajo de investigación.

Al Dr. Germán Buitrón, tutor principal, por brindarme la oportunidad de pertenecer a su grupo de investigación, por su valiosa guía, asesoramiento y ayuda durante la realización de este trabajo de investigación y mi estadía en México.

A los doctores Edson Estrada y Jorge Arreola por formar parte de mi comité tutor y apoyar en el enriquecimiento de este trabajo de investigación con sus observaciones y comentarios.

A la maestra Gloria Moreno, al maestro Jaime Pérez y al licenciado Ángel Hernández por su asistencia técnica en el laboratorio y cómputo, así como todos sus comentarios de apoyo durante los momentos de incertidumbre.

A los doctores Julián Carrillo y Karla Muñoz por su guía y apoyo durante el trabajo en el laboratorio.

Tabla de contenido

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Índice de figuras	vi
Índice de tablas	ix
1 Antecedentes	1
1.1 Industria del vino en México	1
1.2 Proceso de elaboración de vino	2
1.3 Residuos producidos por procesos de producción de vino	4
1.3.1 Efluentes vitivinícolas	6
1.4 Tratamientos biológicos del agua residual de la industria del vino	9
1.4.1 Tratamientos aerobios.....	11
1.4.2 Tratamientos anaerobios.....	11
1.5 Tecnologías anaerobias para el tratamiento de efluentes vitivinícolas	20
2 Justificación	24
Hipótesis	25
Objetivos	25
Metodología	26
3.1 Caracterización de los efluentes vitivinícolas	26
3.2 Arranque del reactor en dos etapas	27
3.2.1 Montaje y arranque del reactor acidogénico	27
3.2.2 Montaje y arranque del reactor metanogénico	28
3.3 Pruebas de potencial bioquímico	29
3.3.1 Potencial bioquímico de metano con efluente vitivinícola.....	29
3.3.2 Potencial bioquímico de metano con efluente de un reactor acidogénico como sustrato	31

3.3.3	Aclimatación de lodo a temperatura termófila.....	32
3.4	Métodos analíticos	33
3.4.1	Volumen y composición del biogás	33
3.4.2	Sólidos totales y sólidos volátiles totales.....	34
3.4.3	Demanda Química de Oxígeno (DQO)	34
3.4.4	Cuantificación de carbohidratos.....	34
3.4.5	Ácidos grasos volátiles (AGV)	34
4	Resultados.....	35
4.1	Caracterización de los efluentes vitivinícolas	35
4.2	Reactor Acidogénico.....	38
4.3	Aclimatación de lodo a temperatura termófila	42
4.4	Pruebas de potencial bioquímico de metano	44
4.4.1	Potencial bioquímico de metano con efluente vitivinícola.....	44
4.4.2	Potencial bioquímico de metano con efluente de un reactor acidogénico como sustrato	47
4.5	Reactor metanogénico	58
5	Conclusiones.....	63
6	Literatura citada	64

Índice de figuras

Figura 1.1. Diagrama de flujo del proceso de vinificación dentro de una bodega. Modificación de HAprowINE, 2011.....	5
Figura 1.2. Etapas de la digestión anaerobia (Abbasi, 2012)	15
Figura 3.1. Fases del trabajo de investigación.....	26
Figura 3.2. Montaje del reactor acidogénico.	27
Figura 3.3. Sólidos atrapados en 2 L de efluente vitivinícola.	28
Figura 3.4. Montaje del reactor metanogénico.	29
Figura 3.5. Ejemplo de la metodología para calcular la tasa de producción de metano, utilizando efluente acidogénico (EA).....	31
Figura 3.6. Montaje experimental para la prueba de potencial bioquímico de metano. (a) Baño regulador de temperatura; (b) Reactores con agitación; (c) Trampa de CO ₂ con solución alcalina y (d) Sistema de medición de volumen de biogás.	32
Figura 4.1. Valores de concentración de materia orgánica total y soluble, sólidos totales y volátiles para cada uno de los efluentes vitivinícolas caracterizados.	35
Figura 4.2. Valores de concentración de fenoles, sulfatos y cloruros para cada uno de los efluentes caracterizados.	36
Figura 4.3. Evolución de la DQOs y ácidos grasos volátiles (representados en DQO equivalente) a la salida del reactor acidogénico durante su operación.	39
Figura 4.4. Evolución de los carbohidratos durante la autofermentación del inóculo para el reactor acidogénico.	40
Figura 4.5. Volumen de metano acumulado para cada uno de los lotes, siendo (▲) glucosa a 35°C y sustrato acidogénico a (■) 35°C, (●) 45°C y (◆) 55°C.....	43
Figura 4.6. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente vitivinícola (CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).	45

Figura 4.7. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluentes vitivinícolas como sustrato.....	46
Figura 4.8. Valores finales de pH para cada condición, utilizando efluentes vitivinícolas como sustrato.	47
Figura 4.9. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 35°C (CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).	49
Figura 4.10. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 35°C.	50
Figura 4.11. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 55°C ($S_0/X_0 = 0.5$, CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).....	51
Figura 4.12. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55 °C ($S_0/X_0 = 0.5$).....	52
Figura 4.13. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 55°C ($S_0/X_0 = 0.85$, CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).....	53
Figura 4.14. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55° C ($S_0/X_0 = 0.85$).....	54
Figura 4.15. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 55°C (226 días) ($S_0/X_0 = 0.5$, CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).....	54
Figura 4.16. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55° C (226 días) ($S_0/X_0 = 0.5$).	55
Figura 4.17. PBM obtenido utilizando efluente acidogénico (EA) como sustrato a diferentes concentraciones iniciales.	56

Figura 4.18. Velocidad específica de producción de metano utilizando efluente acidogénico (EA) como sustrato a diferentes concentraciones iniciales.	57
Figura 4.19. Evolución de la DQO y remoción de materia orgánica durante la operación del reactor metanogénico.	59
Figura 4.20. Evolución de la velocidad de producción y porcentaje de metano en el biogás, durante la operación del reactor metanogénico.	61

Índice de tablas

Tabla 1.1. Caracterización de distintos efluentes vitivinícolas.	8
Tabla 1.2. Comparación de cargas orgánicas, tiempos de residencia hidráulico y materia orgánica removida medida como DQO para tratamientos biológicos aplicados a aguas residuales vitivinícolas. Fuente: Adaptación de Andreottola et al. (2009).....	10
Tabla 1.3. Procesos anaerobios para el tratamiento de efluentes vitivinícolas.	21
Tabla 4.1. Trazas de metales presentes en los efluentes (ND = no detectado).	37
Tabla 4.2. Valores del potencial bioquímico de metano y remoción de materia orgánica para cada lote durante el periodo de aclimatación.	44
Tabla 4.3. Parámetros medidos en las pruebas de PMB utilizando efluente vitivinícola como sustrato.	45
Tabla 4.4. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 35°C.....	49
Tabla 4.5. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55°C ($S_0/X_0=0.5$).....	51
Tabla 4.6. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55°C ($S_0/X_0=0.85$).....	53
Tabla 4.7. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55°C (226 días) ($S_0/X_0=0.5$).	55
Tabla 4.8. Comparación de porcentaje y producción específica de metano, de distintos trabajos que trabajan con efluentes vitivinícolas como sustrato.	62

1 Antecedentes

1.1 Industria del vino en México

La producción de vino es uno de los principales sectores en la industria de alimentos. La producción mundial al año 2017 fue 246.7 millones hL, siendo Italia, Francia y España los mayores productores (OVI, 2017).

En México, durante los últimos años el mercado de vino ha aumentado y experimentado grandes cambios debido a distintos factores, por ejemplo, a la aceptación ya no solo de hombres de mediana edad con un perfil socioeconómico medio-alto y alto, sino que a un grupo de la población más joven y dinámico, junto con el aumento del consumo por parte del público femenino gracias a la mayor incorporación al mercado laboral. La oferta de este producto, pensando en el consumidor final, ha aumentado y se han incrementado también los canales de distribución y comercialización, teniendo gran presencia los vinos importados, pero también ha aumentado de manera significativa la producción de vinos mexicanos (Amo, 2018).

La industria vitivinícola mexicana está conformada por más de 100 bodegas y cuenta con una oferta mayor a 1000 etiquetas provenientes de los Estados de Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, Nuevo León, Puebla, Querétaro, Sonora y Zacatecas. Además de acuerdo a datos entregados por el Consejo Mexicano Vitivinícola, durante 2016, se reportaron ventas un 10% mayor, en comparación al año 2015, y por primera vez el vino nacional logró ser el más consumido en el país, dejando atrás a los vinos de origen español y chileno, lo que expresa la aprobación y buena recepción que ha tenido el consumidor por la calidad de los vinos mexicanos en la categoría de vinos de mesa conocidos como de media y alta gama, incluso superando en ventas a vinos importados como España y Chile (Consejo Mexicano Vitivinícola, 2017).

En el estado de Querétaro, la industria del vino ha ido creciendo y ha promovido esta actividad como atracción turística. Los municipios implicados en el desarrollo de las actividades vitivinícolas son El Marqués, Tequisquiapan, Ezequiel Montes y Colón, en los cuales se pueden encontrar importantes viñedos que colocan al estado como el tercer mayor

productor de vinos del país, con 350 hectáreas de viñedos plantados en 2013, que generaron 2,138 toneladas de uvas, con las cuales se produjeron 1,583,333 litros de vino (Consejo Mexicano Vitivinícola, 2017).

1.2 Proceso de elaboración de vino

El vino es una bebida alcohólica hecha a partir de la fermentación de jugo exprimido de uva. Sin embargo, el proceso de fabricación inicia desde mucho antes. En primer lugar, todo vino se produce a partir de una zona determinada, bajo condiciones ambientales y de suelo apropiados, especiales para cada tipo de vid. Por ejemplo, los suelos pedregosos y pobres dan lugar a excelentes Cabernet Sauvignon, mientras que climas fríos son más adecuados para el Pinot Noir y variedades blancas. El cuidado de las parras es de suma importancia para que se den buenos frutos, con aromas y sabores específicos. Los racimos y hojas que estén de más deben ser removidos para evitar que consuman nutrientes que serán asimilados por los racimos de interés. Además, se debe controlar el crecimiento de la parra para mantener en niveles adecuados la exposición de los racimos y se deben controlar también las plagas y enfermedades a las que se exponen las plantas (Letelier, 2015).

La vendimia se realiza cuando los granos de uva alcanzan una concentración de azúcar apropiada y suficiente madurez de taninos (actúan con las proteínas salivales formando macromoléculas que influyen en la percepción en boca del vino, específicamente la sensación de astringencia) (Watrelet et al., 2017). La cosecha de las uvas puede ser realizada de forma manual o con maquinaria especializada dependiendo de la calidad de vino que se esté fabricando, la primera se utiliza para vinos de alta calidad y la segunda para vinos varietales. Luego de la cosecha, los granos de uva son depositados en gamelas o cajas para ser transportadas a las bodegas, donde se realiza el despallado que consiste en quitar los tallos o escobajo y todo aquello que sea ajeno del grano. Este proceso puede ser hecho a mano o de manera mecánica utilizando despalladoras. Posteriormente se realiza la molienda donde se obtiene el mosto (solo el jugo de la uva para el caso del vino blanco, y jugo, hollejo y semillas para el caso del vino tinto), que pasa al proceso de fermentación alcohólica realizado en cubas de acero inoxidable donde el jugo de uva se transforma en vino gracias a la acción de levaduras bajo condiciones controladas de tiempo y temperatura (aproximadamente de 8 días

a una temperatura entre 28° y 30°C, para los vinos tintos, y aproximadamente 20 días a una temperatura entre 14° y 17°C, para el caso de los vinos blancos). Para el proceso de producción de vino tinto, durante o previo a la fermentación se realiza un proceso llamado maceración, que consiste en dejar en contacto el jugo obtenido de la uva con el hollejo y las semillas con el objetivo de extraer ciertos componentes que proporcionarán cuerpo, color y ciertos sabores al vino. Para aumentar la transferencia de compuestos desde el hollejo y las semillas al jugo, se realiza el proceso de remontaje, que consiste en tomar jugos desde el fondo de las cubas y depositarlo en la parte superior, con el fin de romper la capa de orujo que se forma por la compactación y deshidratación de hollejo y semillas, que se trasladan a la parte superior del líquido debido a que burbujas de CO₂ formadas debido a la fermentación, empujan estos sólidos hacia la superficie (Marin, 2016). Una vez realizada la fermentación alcohólica se realiza una segunda fermentación, pero esta vez de tipo maloláctica, utilizando bacterias lácticas que transforman el ácido málico que se encuentra en la pulpa de las uvas en ácido láctico. Este proceso ayuda a generar características favorables al vino como la disminución de la acidez, se desarrollan sabores y aromas específicos para cada vid y se suaviza. Esta última fermentación se realiza para la elaboración de vinos tintos, pero en ocasiones también puede ser realizada en vinos blancos (Letelier, 2015).

A diferencia de la fabricación de vinos tintos, como se mencionó anteriormente, durante la fabricación de vinos blancos el jugo de uva no se pone en contacto con el orujo, por lo tanto la molienda debe realizarse de manera rápida para evitar que se extienda el contacto entre ambas fases. Esto debe tener una organización y logística muy eficaz en las bodegas. Dado que la fermentación se lleva a cabo a menores temperaturas que para el vino tinto, el proceso de fermentación del vino blanco tarda más, debido a que la temperatura de operación no es la óptima para el metabolismo de las levaduras (Letelier, 2015).

Una vez realizadas la o las fermentaciones, y las características del vino son las adecuadas, comienza el proceso de descube, que consiste en el vaciado de las cubas o tanques de fermentación, se mezclan los licores obtenidos y se hace el prensado de los sólidos que se mantenían dentro de los tanques. Luego todos los líquidos son clarificados, es decir se

limpian tanto de las levaduras, como de borras y comienza el proceso de almacenamiento (Letelier, 2015).

Finalmente, la mayoría de los vinos tintos son enriquecidos para mejorar sus características tanto de sabor como de aroma al dejarlos reposar en barricas de madera, principalmente roble. Una vez que alcanzan los estándares deseados son embotellados y guardados en cavas bajo condiciones controladas de humedad y protegidos de la luz solar (Letelier, 2015).

1.3 Residuos producidos por procesos de producción de vino

A través de las distintas operaciones y procesos anteriormente mencionados, como recepción de uva, producción de mosto, fermentación, maduración-estabilización, filtración, transporte y disposición, el proceso de fabricación de vino genera diferentes tipos de residuos.

Los desechos de la industria vitivinícola, aunque son generados en su mayoría durante un periodo corto de tiempo (cosecha), se distribuyen a lo largo del año y podrían considerarse materiales peligrosos si no se eliminan adecuadamente (Bustamante et al., 2008; Da Ros et al., 2014). Estos residuos tienen distintas características tanto físicas como químicas. Durante las primeras etapas del proceso, es decir durante la vendimia, molienda y prensado de las uvas se generan principalmente hojas, ramas y uvas caídas durante la cosecha, brotes y raíces durante la post cosecha, escobajo durante la etapa de despalillado y orujos en el caso del vino blanco debido al proceso de prensado de las uvas. Luego, ya dentro de las actividades de bodega y embotellado, los principales residuos que se generan provienen en su mayoría del lavado y enjuague de tanques de fermentación, barriles, botellas, barricas, otros equipos y suelos, sumado a las aguas para mantener temperatura durante la fermentación, orujos y borras tras el descube y borras con tierras o placas de celulosa durante la filtración y estabilización (Valderrama, 2008). Los principales residuos generados durante las distintas etapas de fabricación, sin contabilizar las distintas aguas utilizadas, se muestran en la Figura 1.1.

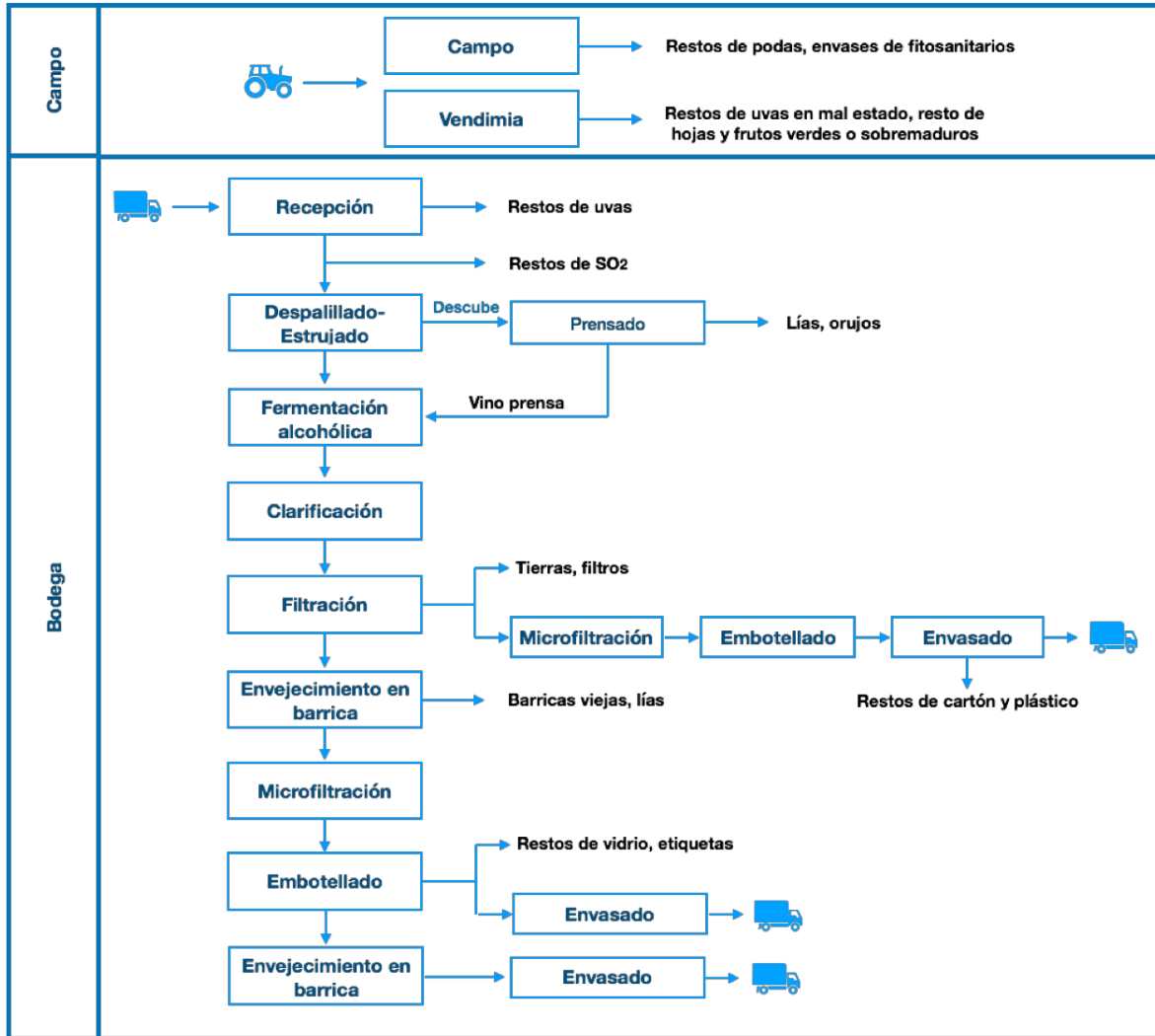


Figura 1.1. Diagrama de flujo del proceso de vinificación dentro de una bodega. Modificación de HAproWINE, 2011.

Uno de los principales residuos producidos en el proceso es el agua de lavado, que contiene mayormente sales alcalinas como sosa cáustica, para eliminar distintos compuestos como ácidos orgánicos (Strong et al., 2008; Kyzas et al., 2016). El fragmento orgánico de las aguas residuales se compone principalmente de azúcares altamente solubles, alcoholes, ácidos y compuestos recalcitrantes de alto peso molecular (por ejemplo polifenoles, taninos y ligninas) que no se pueden separar fácilmente por métodos físicos o químicos (Lucas, 2010; Vadivel et al., 2014), además tienen valores bajos de pH (Bustamante et al., 2008).

También se pueden encontrar residuos sólidos que contienen compuestos orgánicos, como tallos, semillas y orujos, que como se mencionó son producidos durante las etapas de trituración, drenaje y prensado; y sedimentos (lías) que contienen pulpa, tartratos y levaduras acumulados durante la etapa de fermentación y descube, también se pueden encontrar sólidos inorgánicos como arcilla de bentonita y tierra de diatomeas procedentes de los procesos de clarificación. Las cantidades de residuos sólidos dependen tanto de la cantidad de uva que se procese, como del número de etapas de fermentación y clarificación utilizadas en la fabricación de cada tipo de vino. También depende del tipo de equipos utilizados para estos procesos. Además de los residuos sólidos y líquidos, se generan gases de efecto invernadero como CO₂, compuestos orgánicos volátiles (Lucas et al., 2010).

Una bodega típica produce cerca de una tonelada de orujo por 9-13 toneladas de uvas frescas trituradas, y entre 0.2 y 4 litros de efluente por cada litro de vino producido (Kyzas et al., 2016; Welz et al., 2016).

1.3.1 Efluentes vitivinícolas

De acuerdo a la investigación hecha por España-Gamboa (2011), en 2008 la producción mundial de vinazas alcanzó 79 mil millones de litros y aproximadamente el 95% de esta producción fue generada por distintos tipos de fermentación y destilación. Se denomina vinaza a todo aquel residuo líquido producido por procesos de destilación, y a pesar de no ser el caso para la industria del vino, a los efluentes producidos por los distintos procesos durante la fabricación de este producto se les puede llamar vinazas vitivinícolas, pero para evitar confusiones sobre los términos a utilizar, a todo residuo líquido o semisólido producido por este tipo de industria se le llamará efluente vitivinícola. También se ha mencionado que en México, la industria del vino, donde la fermentación es el proceso fundamental, va aumentando día a día, por lo que es de suma importancia conocer las características que pueden presentar estos residuos y así planear su disposición o tratamiento para no afectar al medioambiente.

Con respecto específicamente a los residuos líquidos, es decir los efluentes vitivinícolas, como ya se mencionó la industria vinícola genera grandes volúmenes que van desde 0.2 y 4

litros de efluente por cada litro de vino producido. Las aguas residuales provenientes de esta industria se componen de sólidos en suspensión, polifenoles, ácidos orgánicos, alcoholes, azúcares (maltosa, glucosa, y fructosa), aldehídos, jabones, detergentes, compuestos nitrogenados e inorgánicos, incluyendo algunas trazas de metales pesados. El contenido total de nitrógeno de estas aguas es bajo en comparación con otras materias primas tales como la remolacha, la caña de azúcar, la papa y la cebada (Welz, 2016). La concentración de manganeso en el vino oscila entre 1 y 3 mg L⁻¹, y se encuentra también en la porción sólida de la uva, específicamente en las semillas. El uso de hexacianoferrato de potasio, utilizado para la eliminación del hierro en el vino, produce precipitación de zinc. El plomo es un metal pesado que se encuentra en mayores concentraciones en estas aguas residuales, debido al pH ácido de las aguas residuales, que favorece la solubilización de este elemento presente en los equipos utilizados la producción de vino (España-Gamboa, 2011).

Además estos efluentes se caracterizan por una alta concentración de materia orgánica representada como demanda química de oxígeno (DQO) que puede ir desde 50 a 296 g/L y contener alta salinidad (España-Gamboa, 2012; Mosse et al., 2011). Además, estas aguas residuales también contienen compuestos fitotóxicos, antibacterianos y recalcitrantes, tales como fenoles y polifenoles, que tienen efectos negativos sobre los microorganismos y plantas en los lugares de descarga. Los compuestos altamente coloreados, tienden a reducir la penetración de la luz solar en los ríos y lagos, lo que reduce la actividad fotosintética, junto con las concentraciones de oxígeno disuelto pueden provocar condiciones peligrosas para la vida acuática si son vertidos sin algún tipo de tratamiento previo (Prasad et.al, 2008).

La concentración de los distintos compuestos presentes en los efluentes vitivinícolas tiene variaciones considerables dependiendo de distintos factores tales como el proceso de vinificación (tinto, blanco, rosa, entre otros), el tipo de uvas, las tecnologías usadas o incluso el origen de la viña, por lo tanto en la Tabla 1.1 se muestra una comparación de distintos trabajos en los que se han caracterizado estos efluentes, quedando en evidencia las variaciones que pueden existir entre un efluente y otro.

Tabla 1.1. Caracterización de distintos efluentes vitivinícolas.

Parámetro	Unidades	Albarrán- Contreras et al. (2016)	Bustamante et al. (2005)	Mosse et al. (2011)*
pH	-	3.5	4.2	3 - 12
Conductividad eléctrica	S/m	-	0.52	0.8 – 3.1
Sólidos totales	g/L	57.5	38.4	1.6 – 79.6
Sólidos volátiles	g/L	51.1	24.1	0.6 – 54.9
Sólidos suspendidos totales	g/L	34.9	ND	0 – 30.3
Sólidos suspendidos volátiles	g/L	32.6	ND	-
DQO_{total}	g/L	252.4	50.2	0.3 – 296.1
Carbohidratos totales	g/L	32.9	ND	0 – 13
Fenoles	mg/L	197	318	0 – 1450
Hierro	µg/L	180	61	-
Níquel	µg/L	130	300	-
Cobre	µg/L	48	1940	-
Zinc	µg/L	737	1280	-
Cobalto	µg/L	6	230	-
Cadmio	µg/L	ND	70	-
Cromo	µg/L	ND	310	-
Plomo	µg/L	ND	980	-
Etanol	mg/L	60	ND	-

No detectado (ND). * Rangos mínimos y máximos encontrados en 10 artículos.

Existen numerosas opciones de tratamientos biológicos y fisicoquímicos, todos ellos dirigidos a lograr una reducción significativa de la concentración de materia orgánica y de

los sólidos presentes. También, algunos pueden reducir la carga inorgánica. Además, algunos efluentes vitivinícolas pueden ser utilizados como fertilizante debido a su contenido de nutrientes, sobre todo calcio y potasio, pero debido a su alto contenido de material orgánico, la disposición directa en el medio ambiente puede contaminar suelos y aguas subterráneas (Prasad et al., 2008; España-Gamboa, 2011).

1.4 Tratamientos biológicos del agua residual de la industria del vino

Los tratamientos biológicos son particularmente adecuados para el tratamiento de las aguas residuales de la industria vitivinícola, ya que la mayoría de los componentes orgánicos del efluente residual son fáciles o moderadamente biodegradables. A pesar de eso, en términos de biodegradabilidad, hay una variación considerable en las proporciones de los contaminantes, como los azúcares fácilmente biodegradables, los alcoholes moderadamente biodegradables y los compuestos fenólicos lentamente biodegradables o también llamados recalcitrantes en los efluentes de distintas industrias o incluso en distintas etapas de un mismo proceso, lo cual puede ser fundamental a la hora de escoger un tipo de tratamiento (Strong et al., 2008).

Los tratamientos biológicos pueden dividirse en dos grupos, los procesos aerobios y anaerobios. El alto contenido orgánico de estos efluentes hace que el tratamiento anaerobio sea más atractivo que el tratamiento aerobio. No se recomiendan procesos aerobios como tratamiento de los efluentes recién salidos de la planta debido al alto consumo de energía para aireación y enfriamiento que requieren para la remoción de contaminantes, además, el 50% de la DQO se convierte en lodo. En procesos anaerobios, más del 50% de la DQO se puede convertir en biogás, que se considera un combustible renovable (Wilkie, 2000; Pant & Adholeya, 2007). La Tabla 1.2 muestra distintos tipos de tratamientos biológicos aplicados para aguas residuales provenientes de la industria vitivinícola, junto con los rangos de carga orgánica en los que son aplicados.

Tabla 1.2. Comparación de cargas orgánicas, tiempos de residencia hidráulico y materia orgánica removida medida como DQO para tratamientos biológicos aplicados a aguas residuales vitivinícolas. Fuente: Adaptación de Andreottola et al. (2009)

Tratamiento biológico	Carga orgánica (kgDQO/m ³ /d)	TRH	DQO removida (%)
Tratamientos aerobios			
Lodos activados (cotratamiento con agua residual urbana)	0.81	-	90
Lodos activados	0.4 – 3.2	-	88 – 98
Lodos activados “jet-loop”	0.4 – 5.9	2.1 – 4.4 d	94 - 98
Reactor de membrana	0.5 – 2.2	1.8 d	> 97
Reactor de lote secuencial	0.8 – 1.3	24 h	> 90
Reactor de lecho fijo	0.4 – 5.5	-	91%
Reactor de lecho móvil	0.3 – 9.0	-	78 – 97
	4.6 – 9.0	10 h	86 – 99
Tratamientos anaerobios			
Digestión anaerobia (biomasa suspendida)	1 – 5	48 h	65 – 95
ASBR	8.6	2.2 d	> 98
UASB	2 – 15	43 – 48	93 - 96
Filtro anaerobio	5 – 20	20 – 38 h	88 – 98
USBF híbrido	5 – 13	> 20 h	85 - 98
Lecho fluidizado	15 – 30	-	80 – 98
Humedales artificiales	-	14 d	77 - 88

1.4.1 Tratamientos aerobios

Son aquellos procesos biológicos en los cuales, los distintos microorganismos requieren de oxígeno disuelto en el medio para su metabolismo y acción sobre las partículas orgánicas que componen las aguas residuales. La presencia de O₂ hace que este elemento sea el aceptor de electrones en las distintas reacciones involucradas. Dentro de estos tratamientos de encuentran los procesos de lodos activados, reactores de biopelícula de lecho fijo, entre otros, en donde se obtiene como producto final: dióxido de carbono y biomasa. Estos procesos se utilizan con frecuencia a pesar de la generación de grandes cantidades de lodos que posteriormente deben ser tratados. Los procesos aerobios generalmente son utilizados para tratar los efluentes antes de su disposición final, posterior a tratamientos realizados luego de ser sacadas de bodega. Dentro de los principales objetivos de este tipo de tratamientos se encuentra la remoción tanto de DQO como del color, este último es provocado por moléculas llamadas melanoidinas. La decoloración se debe realizar ya que las tonalidades no se pierden a pesar de haber pasado por tratamientos previos, la decoloración biológica es una alternativa eficiente y amigable con el medioambiente. Es realizada por consorcios microbianos que remueven melanoidinas, y se ha demostrado que estos consorcios logran eficiencias de remoción mayores que utilizando cepas aisladas debido al efecto que tienen las interacciones metabólicas de los distintos microorganismos. Los consorcios están conformados por hongos como *Penicillium decumbens*, *Aspergillus sp.*, *Aspergillus niger*, *Flavodon flavus*, *Phanerochaete sp.*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes vesicolour*, entre otros, y bacterias como *Bacillus sp.* y *Pseudomonas sp* entre otras. (Jiranuntipon et al., 2008).

1.4.2 Tratamientos anaerobios

Los procesos anaerobios, es decir en ausencia de oxígeno, se presentan como una alternativa más barata y además se caracterizan por la producción de biogás, que dependiendo del proceso que se lleve a cabo, contiene compuestos como metano o hidrógeno. El primero puede ser utilizado como combustible para generar la energía y tiene la característica de ser amigable con el medioambiente (España-Gamboa, 2011). Debido a los distintos avances que se han alcanzado para mejorar estos tratamientos, se han desarrollado reactores de alta velocidad, con ventajas como baja producción de lodos y por lo tanto con menores

requerimientos de nutrientes en comparación con los tratamientos aerobios (España-Gamboa, 2011), además se logran aislar olores y aerosoles (Solera et al., 2002).

A pesar de estos beneficios, en los procesos anaerobios se debe tener en cuenta que en caso de sobrecarga, se pueden acumular ácidos grasos volátiles (AGV) que provocan una caída de pH que puede ser letal para el desarrollo del proceso (Lofrano & Meric, 2016).

La eficacia que se puede lograr al utilizar este tipo de tratamientos anaerobios depende de distintos factores, como por ejemplo: el origen y estado del inóculo (Koch et al., 2017), la cantidad de microorganismos activos retenidos dentro del sistema, que depende de manera directa de la composición y concentración de compuestos del agua residual a tratar, configuración del sistema y operación del proceso (Solera et al., 2002).

Varias configuraciones de los procesos anaerobios son utilizadas para el tratamiento de efluentes de este tipo, algunas de ellas son: reactor de tanque agitado continuo (CSTR), lagunas anaerobias, reactor anaerobio de flujo ascendente (UASB), filtro anaerobio (AF), digestores híbridos, reactor de flujo ascendente con filtración (USBF), reactor secuencial discontinuo anaerobio (ASBR), reactores de lecho fluidizado (Lofrano & Meric, 2016).

1.4.2.1 Digestión Anaerobia

La digestión anaerobia consiste en la transformación de materia orgánica compleja en metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2), en proporciones de 60-80% y 40-20% respectivamente, a través de un complejo sistema de reacciones bioquímicas. Estas reacciones se dividen en cuatro etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis (Figura 1.2). Cada una de estas etapas incluye a un conjunto específico de microorganismos. Para que la digestión funcione de manera estable y eficiente se requiere que las cuatro etapas funcionen como un proceso conectado (Lidholm & Ossiansson, 2008). Cada una de estas etapas se describen a continuación:

1.4.2.1.1 Hidrólisis

La hidrólisis consiste en un grupo de reacciones que degrada la materia orgánica, como hidratos de carbono, proteínas y lípidos, en monómeros solubles, como azúcares,

aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga, respectivamente. El proceso de hidrólisis se subdivide en hidrólisis biológica, que hace referencia a la degradación del sustrato a través de enzimas hidrolasas, producidas y liberadas por los microorganismos presentes en el medio, hidrólisis química producida por ácidos o bases débiles, que pueden ser añadidos para acelerar la velocidad de esta etapa y la hidrólisis física como tratamientos térmicos o ultrasonido (Lidholm & Ossiansson, 2008).

En general el proceso de hidrólisis de sustratos simples y solubles es bastante rápido, no así la de sustratos complejos (Vavilin, 2008).

La población bacteriana involucrada en la hidrólisis, consiste en una mezcla compleja de distintas especies, predominando las bacterias anaerobias estrictas. Sin embargo, existe una población importante de bacterias anaerobias facultativas, donde pueden encontrarse los estreptococos y otros gérmenes entéricos. Con respecto a la cantidad de bacterias presentes en los lodos, es posible encontrar 10^8 a 10^{10} bacterias hidrolíticas por mL de lodo en rango mesófilo (Montalvo & Guerrero, 2003).

1.4.2.1.2 Acidogénesis

En la acidogénesis se fermentan u oxidan anaeróbicamente los compuestos de la hidrólisis (azúcares disueltos, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga) dentro de las células, luego de ser difundidos a través de la membrana celular. Estos compuestos pueden ser transformados a moléculas que utilizan directamente las arqueas metanogénicas o a compuestos orgánicos reducidos que son transformados en una etapa posterior por las bacterias acetogénicas, para que puedan también entrar a la etapa de metanogénesis. Es un proceso energéticamente favorable, y es muy difícil que su limitante sea la velocidad de la reacción (Batstone, 2006).

Este grupo trófico está compuesto principalmente de bacterias anaerobias estrictas, sin embargo, una pequeña cantidad de éste tiene la capacidad de utilizar el oxígeno, un ejemplo de ellas son las bacterias del ácido láctico (Montalvo & Guerrero, 2003).

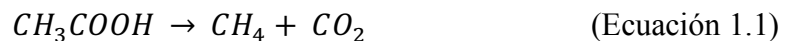
1.4.2.1.3 Acetogénesis

Los ácidos grasos volátiles producidos en la etapa de acidogénesis son básicamente ácidos grasos de cadena corta, como acetato, propionato y butirato. Durante acetogénesis, un grupo de bacterias anaerobias estrictas transforma los ácidos grasos volátiles a acetato e hidrógeno, que puede ser utilizado para producir metano en la fase de metanogénesis. Las reacciones involucradas en esta etapa, como se mencionó anteriormente, tienen como uno de sus productos el hidrógeno, el cual es inhibidor del proceso, por esta razón, se crea una asociación entre estas bacterias y las arqueas metanogénicas que consume hidrógeno, con el fin de hacer que esta etapa de degradación sea viable energéticamente (Lidholm & Ossiansson, 2008).

Se ha estimado, gracias a diversos estudios, que el 54% del acetato e hidrógeno, producidos durante el proceso de la digestión anaerobia, se obtiene gracias a la acción de las bacterias acetogénicas. Se ha reportado que existen poblaciones entre 10^5 y 10^6 bacterias de este tipo por mL en los digestores (Montalvo & Guerrero, 2003)

1.4.2.1.4 Metanogénesis

Es la última etapa de la digestión anaerobia donde distintos microorganismos, producen metano. La formación de este compuesto ocurre a través de dos grandes rutas. En primer lugar se encuentra el proceso de formación de metano y dióxido de carbono a partir de ácido acético, que es el principal producto de la fermentación. Esta reacción es realizada por microorganismos que consumen este ácido, de acuerdo a la Ecuación 1.1 (Batstone, 2006; Rodriguez et al., 2006).



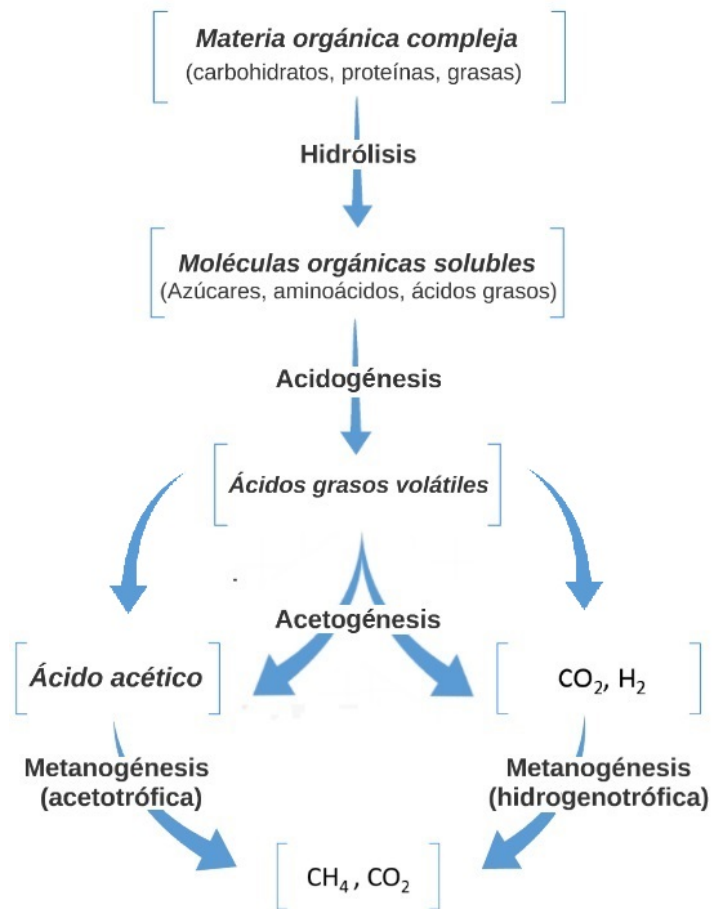
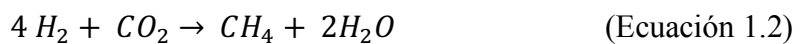


Figura 1.2. Etapas de la digestión anaerobia (Abbasi, 2012)

En la primera etapa se produce aproximadamente el 70% del metano, y el restante en la ruta que usa el hidrógeno para reducir el dióxido de carbono a metano, esto lo llevan a cabo arqueas metanogénicas llamadas hidrogenotróficas, de acuerdo a la Ecuación 2.



Las arqueas metanogénicas que son los microorganismos abundantes en esta etapa, no poseen muchas de las características celulares básicas que tienen las bacterias, como por ejemplo la constitución de la pared celular, la composición lipídica de la membrana celular junto con enzimas y portadores de electrones, entre otras características. Además, son anaerobias

estrictas con la capacidad de utilizar solamente algunos tipos de sustratos (Montalvo & Guerrero, 2003).

La metanogénesis es una etapa crítica en el proceso de digestión anaerobia, debido a las características que presentan los microorganismos que la realizan, y también por ser una de las etapas más lentas del proceso.

La degradación anaerobia de los compuestos orgánicos puede ser eficiente y estable cuando existe una tasa de metabolismo equilibrada entre las bacterias que forman ácido y las arqueas metanogénicas. Puede llegar a existir un desequilibrio debido a una carga orgánica excesiva, lo que provocaría una acumulación de productos ácidos intermedios que inhiben a los microorganismos productores de metano (Li et al., 2017).

1.4.2.2 Digestión anaerobia en dos etapas

El proceso de digestión anaerobia en dos etapas se refiere a la utilización de dos reactores que contengan distintas comunidades microbianas, con actividad y funciones distintas. En uno de los reactores ocurren las reacciones de hidrólisis y fermentación-acidificación, ésta es la primera etapa denominada “acidogénica”, y en un segundo reactor ocurren las reacciones acetogénicas y metanogénicas, etapa llamada “metanogénica”.

La separación de las etapas tiene como principal fundamento que los microorganismos encargados de realizar cada uno de los procesos se comporta y tiene necesidades distintas, por lo tanto, al operar cada reactor bajo las condiciones adecuadas, se fomenta el crecimiento y actividad de cada consorcio. Los dos pasos comúnmente citados como limitantes de velocidad en el proceso de digestión anaerobia, y que son separados, son la hidrólisis de sustratos complejos y la metanogénesis (Kaspar & Wuhrmann, 1978).

En la primera etapa, las reacciones de hidrólisis pueden potenciarse mediante un mayor contacto entre enzimas extracelulares y los sustratos complejos. Un volumen de reactor más pequeño que contiene principalmente organismos hidrolíticos y acidificantes puede crear mayores concentraciones de enzimas. Las bacterias acidogénicas convierten la materia orgánica soluble principalmente en acetato, propionato, butirato, H₂ y CO₂. El pH óptimo de las bacterias acidogénicas es de 5.2 a 6.5, y la tasa de crecimiento específica es

aproximadamente 2 días, por lo tanto tener volúmenes de reactor menores, TRH bajo y valores de pH entre el óptimo de estas bacterias fomenta el crecimiento y actividad de ellas (Solera et al., 2002).

En el segundo reactor se fomenta el crecimiento de metanógenos que se encuentran entre los microorganismos más exigentes; dentro de las necesidades o requerimientos que tienen para su crecimiento se encuentran vitaminas, minerales traza como Co y Ni, ácidos grasos (acetato) y cofactores específicos (coenzima M) exclusivos para este tipo de microorganismos. Aproximadamente el 70% del metano producido proviene del acetato y el resto de CO₂ e H₂. El entorno de pH óptimo para metanógenos está dentro del rango de 7.5 a 8.5 y crecen más lentamente que las bacterias acidogénicas. Por otro lado, existen productos generados por las bacterias acidogénicas como el propionato y el butirato que no pueden ser metabolizados por los microorganismos metanogénicos, y deben degradarse aún más a acetato y H₂ por bacterias acetogénicas. Estas bacterias crecen muy lentamente, con un tiempo mínimo de duplicación de 3.6 días, similar a tasa de crecimiento de las arqueas metanogénicas. El pH óptimo de estos microorganismos es de 6 a 7, por lo tanto su crecimiento también sería fomentado en éste reactor, que debe tener TRH y pH mayor que el acidogénico (Kaspar & Wuhrmann, 1978; Solera, Romero, & Sales, 2002).

Existen ventajas y desventajas al utilizar este tipo de procesos. Dentro de las desventajas se encuentra que como las reacciones de acidificación se separan de las reacciones metanogénicas, las vías de degradación de los sustratos que ocurren en sinergia podrían verse afectadas (Fox & Pohland, 1994), además, los sistemas que utilizan multietapas por lo general requieren de una mayor inversión económica y son más complejos de operar. A pesar de lo anterior, los avances en la aplicación de procesos en dos etapas han demostrado una mayor cinética de biodegradación y estabilidad del proceso en comparación con los procesos convencionales de una etapa (Fu et al., 2017). Junto con lo anterior, permite la selección y el enriquecimiento de diferentes bacterias en cada uno de los reactores, también se puede evitar la sobrecarga y la acumulación de compuestos tóxicos, la primera etapa puede actuar como un buffer metabólico, evitando el shock de pH a la población metanogénica.

1.4.2.3 Procesos termófilos

La temperatura de operación del digestor está considerada como uno de los principales parámetros de diseño, debido a que modifica la tasa máxima específica de crecimiento de los microorganismos (Balachandar et al., 2013). Existen tres rangos de temperatura a los cuales se trabaja en los procesos anaeróbicos:

- Psicofilia (10-30° C)
- Mesofilia (30-40° C)
- Termofilia (50-60° C)

En general, el proceso de digestión anaerobia se lleva a cabo bajo condiciones mesofílicas debido a que su operación es más estable y requiere un menor gasto de energía (Khalid et al., 2011), pero también existe la posibilidad de realizarlo a temperaturas termófilas. Si se compara con un tratamiento mesófilo, el tratamiento termófilo ofrece algunas ventajas, tales como mayores tasas de producción metabólica y metano, menores tiempos de retención, (Duran & Speece, 1997), lo que puede generar reducción en los tamaños de los reactores y por lo tanto la implementación de la digestión anaerobia a temperaturas termófila demanda menores costos de capital e instalación que al utilizar temperaturas mesófilas (Leite et al., 2017). Además, parte de la energía utilizada para elevar la temperatura puede ser recuperada al obtener mayores rendimientos. También se alcanza un mayor grado de reducción de patógenos y menos viscosidad en el efluente (Khalid et al., 2011; Watanabe et al., 2017). Finalmente, se logra soportar una mayor carga orgánica, por lo tanto, pueden tratarse sustratos de mayor concentración en un menor tiempo y sin necesidad de diluir (Mata-Alvarez et al., 2000; Mao et al., 2015).

A pesar de las ventajas que se logran al aumentar la tasa de degradación y disminuir los tiempos de retención (por debajo de los 15 a 20 días típicos en procesos de digestión anaerobia), al aplicar estos cambios en la operación convencional, se puede generar el lavado de la biomasa metanogénica presente en el reactor, afectando tanto a la producción de metano, como a la remoción de materia orgánica, y por lo tanto a la calidad del efluente (Leite et al., 2017). Junto con lo anterior el tratamiento termófilo también provoca una menor estabilidad (mayor sensibilidad a pequeños cambios de temperatura), y el colapso del proceso

debido a caídas de pH generadas por la acumulación excesiva de ácidos grasos volátiles (Watanabe et al., 2017).

En general, para poner en marcha un proceso a temperaturas termófilas, es necesario realizar una adaptación microbiana del inóculo desde temperaturas mesófilas, fomentando la selección de subpoblaciones de bacterias y arqueas metanogénicas, que se encuentran presentes naturalmente en los sistemas mesófilos, pero en bajas concentraciones. Existen diferentes procedimientos para realizar la aclimatación, se pueden clasificar en estrategias de un paso, o paso a paso, donde la primera de ellas, a pesar de obtener valores similares luego de la aclimatación, genera grandes perturbaciones en los parámetros. (Boušková et al., 2005). Independiente de la estrategia a usar, el proceso de cambio de temperatura, es decir la aclimatación, es un proceso lento, y puede generar disminución de la alcalinidad y el pH, junto con un menor porcentaje de remoción de la materia orgánica (Leite et al., 2017).

1.4.2.4 Utilización de biogás como combustible

Los combustibles fósiles como petróleo, gas natural y carbón, satisfacen la mayor parte de la demanda mundial de energía (cerca del 80%). Existen diversos problemas asociados con la utilización de dichos combustibles, una de ellas es que es un recurso limitado y debido su consumo excesivo se están agotando drásticamente. Además, sus productos de combustión están causando problemas ambientales a nivel global (Kalinci, 2009; Buitrón, 2014).

El biogás es considerado como una prometedora fuente de energía alternativa y puede tener distintas aplicaciones como la generación de calor o electricidad a partir de biogás quemado y de esta forma realizar procesos energéticamente sustentables en las plantas de tratamiento, licuefacción a metanol (es decir, cambio de fase gas a líquido) o purificación para alimentar a las redes de distribución de gas natural (Liew et. al, 2012). Producir energía a partir del metano presente en el biogás ayuda también a la independencia y seguridad energética de lugares o países que no cuentan con combustibles fósiles como recursos naturales propios (Nigam & Singh, 2011).

Por lo anterior, es de suma importancia mejorar los procesos de digestión anaerobia, que generan energía limpia a partir de la remoción de contaminantes presentes en aguas residuales como los efluentes vitivinícolas.

1.5 Tecnologías anaerobias para el tratamiento de efluentes vitivinícolas

Existen distintas tecnologías o configuraciones para aplicar el tratamiento de digestión anaerobia, estas pueden ser en una etapa, donde todas las reacciones biológicas ocurren en un solo reactor; o dos etapas, donde en el primer reactor se llevan a cabo reacciones de hidrólisis y acidogénesis, y en el segundo las reacciones de acetogénesis y metanogénesis. Dentro de estas configuraciones, también se puede variar la forma en que se encuentran los microorganismos dentro del reactor biológico, pudiendo estar como biopelículas (es decir en forma de gránulos o sujeta a un soporte plástico o mineral) o en forma suspendida. Las tecnologías que utilizan de forma suspendida a microorganismos generalmente se aplican cuando las aguas residuales contienen sólidos en suspensión (Moletta, 2005), como es el caso de los residuos producidos por la industria vitivinícola. Por lo tanto, los desechos semisólidos como lías y los efluentes son adecuados para ser tratados utilizando procesos anaerobios con el fin de disminuir su concentración de materia orgánica y recuperar energía a través del biogás generado. Los rangos típicos de operación para tratamientos de digestión anaerobia son tasas de carga orgánica entre 3 y 8 kgDQO/m³/d con un tiempo de retención hidráulica cercano a los 20 días. Los rendimientos de remoción de DQO están en el rango de 65-95% y alrededor un 60% de metano de en el biogás (Da Ros et al., 2014).

En la Tabla 1.3 se puede observar que diferentes autores han utilizado distintas configuraciones de procesos anaerobios con el fin de tratar efluentes vitivinícolas, por ejemplo Ruiz et al. (2002), utilizan un reactor de lote secuencial anaerobio (ASBR), que al igual que el SBR aeróbico, consiste en la repetición de un ciclo que incluye cuatro pasos que son: llenado, reacción, sedimentación y vaciado (Kennedy et al., 1991). La aplicación de esta tecnología es de interés debido a su flexibilidad operativa, en tiempo y secuencias del ciclo, además no necesita de clarificadores posteriores al tratamiento (Ruiz et al., 2002). La operación del ASBR permite un buen control de la calidad de los efluentes, ya que el vaciado

del reactor puede realizarse cuando se ha eliminado la materia orgánica soluble. En este trabajo se presentaron los resultados del tratamiento de efluentes vitivinícolas a temperatura mesófila, utilizando una relación S_0/X_0 de 0.38 gDQOt/gSSV junto con la descripción de la automatización del reactor y el estudio detallado de los ciclos de tratamiento.

Tabla 1.3. Procesos anaerobios para el tratamiento de efluentes vitivinícolas.

Tipo de reactor	Volumen (L)	TRH (h)	Carga orgánica (kg DQO/m ³ /d)	Remoción (%)	Producción de metano (L _{CH4} /h)	Ref.
SBR	5	52.8	8.6	98	1.8	Ruiz et al. (2002)
UASB	2.3	24	6.3	90	0.1 (biogás)	Keyser et al. (2003)
Filtro anaerobio	3	240	9.02	77.5	0.22	Yang et al. (2011)
UASBF híbrido	1100	20	12	96	175.3	Molina, et al. (2007)
Acidogénico previo a lecho fijo	358	19	15.16	-	17	Robles et al. (2017)

Por otro lado, Keyser et al. (2003) utilizaron tres reactores UASB para el tratamiento efluentes, y utilizó distintos lodos como inóculo, el primero fue lodo granular enriquecido con *Enterobacter sakazakii* y alcanzó una remoción de materia orgánica medida como DQO al 90% por un periodo de 17 días con un TRH de 24 h; el segundo se inoculó con gránulos provenientes de una cervecera y se logró una remoción del 85% de la materia orgánica por un periodo de 50 días, en el tercero se inoculó lodo anaerobio y mostró los problemas típicos como el lavado de la biomasa no granular. Se comprobó que la selección de microorganismos en el lodo ayuda a la formación de ácidos grasos volátiles, disminuyendo la cantidad de materia orgánica presente en el efluente del reactor y disminuyendo el tiempo de operación.

La configuración del reactor UASBF híbrido es una tecnología interesante ya que combina las principales ventajas del filtro anaerobio de flujo ascendente (UAF) y los reactores UASB para la retención de biomasa. De esta manera, es posible minimizar el taponamiento o problemas de flotación de la biomasa (Fernandez et al., 2001). Utilizando este tipo de reactor, Molina et al. (2007), mostraron que este tipo de reactores son factibles de utilizar durante largos periodos de tiempo (cuatro años), ya que presentan cortos tiempos de arranque luego de parar el funcionamiento de la planta y rápido funcionamiento normal luego de recibir sobrecargas orgánicas, características muy convenientes para este tipo de aguas residuales que tienen picos de producción en las épocas de vendimia. Además, lograron efluentes de buena calidad luego del tratamiento (Tabla 1.3) y porcentajes de metano en el biogás (entre 70 y 74%).

La tecnología de filtro anaerobio fue probada por Yang et al. (2011). Este tipo de reactores son muy utilizados actualmente, tanto para aguas residuales industriales como para aguas residuales urbanas, debido a su flexibilidad y facilidad de operar. La desventaja no menor que presenta es el taponamiento y distribución poco uniforme de los microorganismos en él, lo que puede afectar significativamente la eficiencia del reactor. Por eso, en este trabajo utilizaron soportes distintos, ya que las características fisicoquímicas del material tienen una gran influencia en la fijación de la biomasa (Jo et al., 2016), además el material o forma de éste puede afectar las características hidrodinámicas del filtro, la fuerza de corte de la burbuja y la capacidad de distribución de agua y gas (Yang et al., 2011). En el trabajo comprobaron que la utilización de uno híbrido llamado SHM, por su nombre en inglés “soft and hard packing double-media”, presenta mejoras en los parámetros de operación, obteniéndose los resultados mostrados en la Tabla 1.3.

Finalmente se presentan los datos del trabajo realizado por Robles et al. (2017), quienes desarrollaron un controlador para la producción de biogás en reactores anaerobios de lecho fijo, donde el influente de este reactor metanogénico fue la salida de un reactor acidogénico, para evitar problemas de acidificación. Si bien, el enfoque de este trabajo va en el control, muestra una perspectiva interesante acerca de la separación de las distintas etapas de la digestión anaerobia, que independiente de tener más reactores (que pueden generar

requerimientos mayores de inversión o de personal), pueden ayudar de manera significativa la estabilización y rendimiento del proceso completo, soportando cargas orgánicas bastante mayores que otros procesos de solo una etapa.

Distintas son las tecnologías que sirven para remover la materia orgánica presente y formar biogás (Andreottola et al., 2009; España-Gamboa et al., 2011; Lofrano & Meric, 2016). Por lo tanto, es necesario evaluar la composición del sustrato para poder seleccionar el tratamiento más adecuado, teniendo en cuenta los parámetros de operación reportados en literatura para evaluar y mejorar la operación y estabilidad del tratamiento.

2 Justificación

Los distintos avances tecnológicos que ha desarrollado la humanidad han provocado una inevitable dependencia de distintos combustibles fósiles, utilizados como principal recurso energético, cubriendo casi un 80% de la demanda energética mundial (Guo et al., 2010). Existen diversos problemas asociados con la utilización de dichos combustibles, una de ellas es que es un recurso limitado, por lo tanto, tarde o temprano se agotará y urge la necesidad de obtener energía de forma alternativa. Además, los productos de combustión que generan están causando grandes problemas a nivel mundial.

La utilización de residuos orgánicos para la producción de biocombustibles, como metano, a través de procesos biológicos como la digestión anaerobia, es un enfoque prometedor para satisfacer la creciente necesidad de energía (van Haandel, 2014) y dar independencia energética a las industrias generadoras de este tipo de residuos. Existe una gran oportunidad en algunos estados de México como Querétaro, donde la actividad vitivinícola crece a un ritmo del 15 % anual, y la gestión adecuada de los residuos como los efluentes vitivinícolas puede generar grandes beneficios tanto a nivel económico, como medioambiental (Estrella, 2017)

La digestión anaerobia es un proceso muy estudiado y bien establecido, pero es de suma importancia encontrar enfoques nuevos que permitan mejorar tanto la remoción de materia orgánica como la producción de metano. Sin embargo, uno de los grandes problemas que se producen al operar procesos de digestión anaerobia es la acidificación al utilizar altas cargas orgánicas. Una opción para superar este problema es la separación de las etapas, es decir operar la fase acidogénica en un reactor separado a la fase metanogénica. Además, debido a la alta cantidad de sólidos presentes en estos efluentes vitivinícolas, la utilización de una etapa de hidrólisis y acidogénesis permite fomentar la solubilización y evita problemas operacionales. Finalmente, no existe mucha información acerca del tratamiento de aguas residuales industriales crudas producidas en el proceso de elaboración del vino, lo cual abre una ventana importante en cuanto a investigación y mejora de este proceso.

Hipótesis

La separación de la digestión anaerobia en dos etapas (acidogénica y metanogénica) utilizando efluentes vitivinícolas como sustrato permitirá disminuir el TRH, por lo tanto incrementar la carga orgánica y propiciará la producción de ácido acético en la etapa acidogénica.

Objetivos

Evaluar el desempeño de un proceso anaerobio en dos etapas (acidogénica y metanogénica) para la producción de metano utilizando de efluentes vitivinícolas.

Particulares

- Analizar la influencia del tiempo de residencia hidráulico sobre la producción de ácidos grasos volátiles en un reactor acidogénico alimentado con efluentes vitivinícolas como sustrato.
- Determinar el potencial bioquímico de metano del efluente acidogénico a temperaturas mesófilas y termófilas.
- Estudiar el efecto del tiempo de retención hidráulica y la carga orgánica en un reactor metanogénico, utilizando efluente del reactor acidogénico como sustrato.

3 Metodología

El presente trabajo de investigación se realizó en tres partes principales. La primera de ellas consistió en la operación y optimización de un reactor acidogénico productor de ácidos grasos volátiles utilizando como sustrato efluentes vitivinícolas. La segunda fase consistió en la realización de pruebas de potencial bioquímico de metano con el fin de evaluar las mejores condiciones de operación, que favorezcan la producción de metano y remoción de materia orgánica. Se realizaron pruebas exploratorias en termofilia, luego de aclimatar lodo anaerobio granular a 55° C. Finalmente, la tercera fase consistió en la operación y optimización de un reactor metanogénico mesofílico utilizando como sustrato los efluentes producidos en el reactor metanogénico. Las etapas de la investigación realizada se muestran en la Figura 3.1.

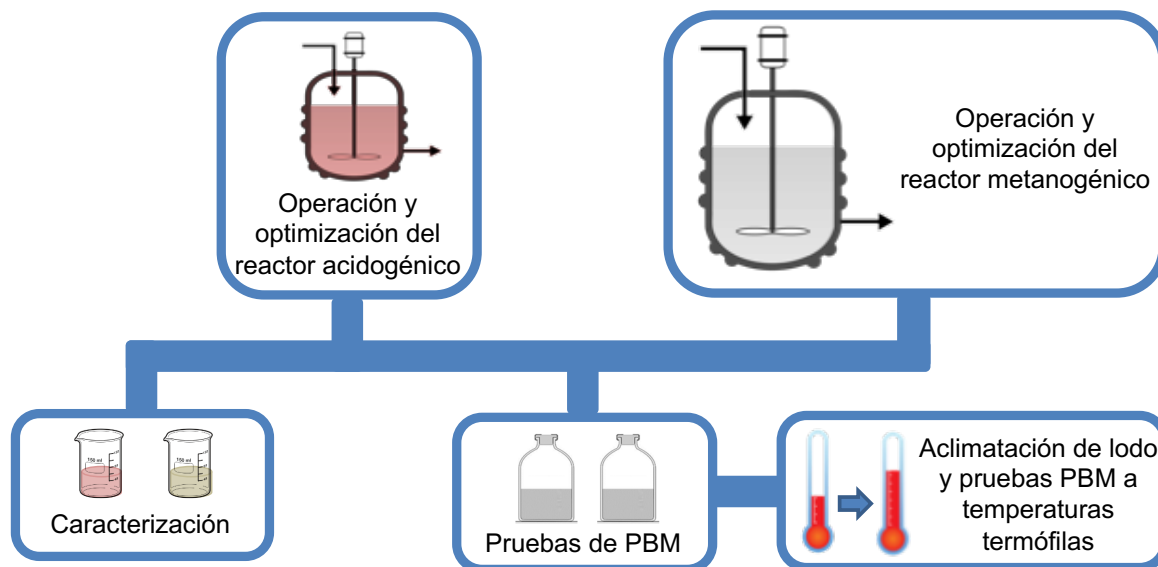


Figura 3.1. Fases del trabajo de investigación.

3.1 Caracterización de los efluentes vitivinícolas

Los efluentes vitivinícolas fueron tomadas de dos bodegas ubicadas en el municipio de Ezequiel Montes, Querétaro, que para el caso de esta investigación llamaremos “Bodega 1” y “Bodega 2”. Para su caracterización se realizaron los análisis de DQO total y soluble, sólidos suspendidos totales, volátiles y fijos (métodos estándar), pH, azúcares totales (método

fenol-ácido sulfúrico), fenoles (método 4-aminoantipirina), contenido de nutrientes y metales traza.

3.2 Arranque del reactor en dos etapas

3.2.1 Montaje y arranque del reactor acidogénico

En primer lugar, se realizó el montaje del reactor acidogénico. Para esto fue necesario realizar la aclimatación de los microorganismos acidogénicos presentes en el efluente vitivinícola. Con este fin se utilizó un reactor marca Applikon Biotechnology, modelo ez-Control de 1.5 L y volumen operacional de 1 L (Figura 3.2), en él se agregó efluente previamente pasado por un tamiz grueso para evitar el taponamiento de las mangueras por sólidos de mayor tamaño (Figura 3.3), se dejó reaccionar durante un día, se dejó decantar, se retiraron 250 mL del reactor y se agregaron 250 mL de sustrato. Esto se repitió diariamente, es decir se trabajó a un TRH de 4 días. El pH se mantuvo constante a 5.5, la agitación en 250 RPM y la temperatura en 35 °C. Una vez que se observó producción de ácidos grasos volátiles, se cambió el modo de operación a continuo, probando tiempos de retención hidráulico de 2 y 1 días.



Figura 3.2. Montaje del reactor acidogénico.



Figura 3.3. Sólidos atrapados en 2 L de efluente vitivinícola.

3.2.2 Montaje y arranque del reactor metanogénico

Se utilizó un reactor marca Infors HT, modelo Labfors 5 de 7.5 L y volumen operacional de 5 L, mostrado en la Figura 3.4. Se inoculó llenando el 20% del reactor con lodo anaerobio (Moreno et al., 2002) granular proveniente de una planta cervecera. Se realizó un lote con glucosa a una concentración de 5 g/L dentro del reactor para la activación del inóculo. La agitación se mantuvo a 150 RPM.

La alimentación del reactor se realizó de la misma forma que en reactor acidogénico, es decir de forma manual. Con el fin de mantener un TRH de 20 días diariamente se intercambiaron 250 mL del reactor con sustrato nuevo. Luego se alimentó de forma continua con efluente obtenido del reactor acidogénico y se probaron otros dos tiempos de residencia hidráulicos de 15 y 7 días.

El pH no fue controlado durante parte de la operación, pero si se monitoreó su valor diariamente. Luego de operar a TRH de 7 días, se agregó un controlador y el pH se mantuvo fijo a un valor de 7.5, utilizando soluciones de NaOH y HCl a 5 y 3 N respectivamente.

El volumen de biogás producido fue cuantificado con un medidor de flujo μ flow Bioprocess Control que entrega datos normalizados de biogás acumulado. La composición se determinó por cromatografía de gases, para realizar este análisis se tomó una muestra de 10 mL seca utilizando una válvula conectada al reactor y un filtro de jeringa, succionando y desplazando

el biogás tres veces para asegurar su homogeneidad utilizando una jeringa de 20 mL. Esta muestra se inyectó en un cromatógrafo de gases 8610C.

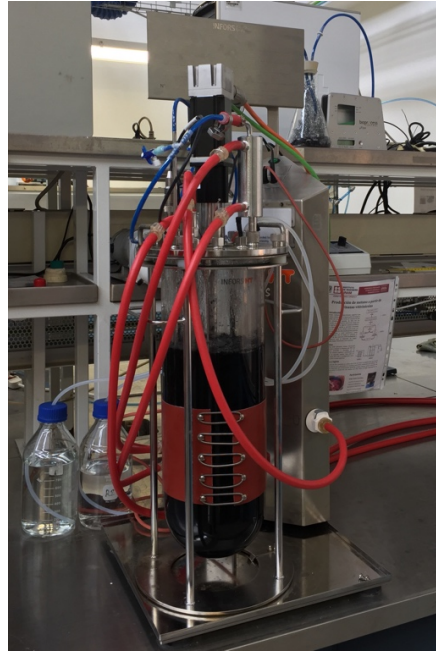


Figura 3.4. Montaje del reactor metanogénico.

3.3 Pruebas de potencial bioquímico

Se determinó el potencial bioquímico de metano (PBM) con el fin de evaluar la producción de metano y la remoción de materia orgánica bajo diferentes condiciones. Se evaluaron dos sustratos (efluente vitivinícola y efluente de un reactor acidogénico alimentado con efluentes vitivinícolas) y dos temperaturas (35 y 55 °C)

3.3.1 Potencial bioquímico de metano con efluente vitivinícola

Se utilizó un efluente vitivinícola como sustrato. Los ensayos se realizaron en un equipo AMPTS II (Bioprocess Control, Suecia). Se utilizaron botellas de 600 mL con un volumen de líquido de 380 mL y por triplicado. Se utilizó una concentración de inóculo de 20 gSV/L. El inóculo consistió en lodo anaerobio granular proveniente de una planta de tratamiento de

aguas de una cervecera. Las pruebas se realizaron a distintas concentraciones de efluente vitivinícola (10, 50 y 100 gDQO/L) y a 35°C.

Para aportar alcalinidad al sistema y evitar la acidificación por altas concentraciones de sustrato, se agregaron 3, 5 y 10 g/L de bicarbonato de sodio a las concentraciones de 10, 50 y 100 gDQO/L respectivamente. Se realizaron controles negativos solo con inóculo y solo con efluente vitivinícola, y un control positivo utilizando glucosa como sustrato (10 g/L). Se realizó una purga gaseando con nitrógeno durante treinta segundos para remover el oxígeno presente y promover una atmósfera anaerobia dentro de cada botella. El espacio de cabeza de cada botella se conectó a un recipiente con NaOH 3N utilizando una manguera de neopreno con el fin de precipitar el CO₂ presente en el biogás con timoftaleína como indicador. La salida de este recipiente con solución alcalina se conectó al medidor de biogás, que entrega datos normalizados de metano acumulado en un sistema en línea. La medición volumétrica del gas producido fue a través de un sistema automatizado del equipo que cuantifica cada 10 mL el volumen de metano generado.

Para estas pruebas también se realizó análisis de pH y DQO al inicio y al final del experimento.

3.3.1.1 Medición de la tasa de producción de metano

Para realizar el cálculo de las velocidades de producción de metano se utilizaron las tasas obtenidas directamente del equipo AMPTS, que calcula automáticamente las tasas puntuales de producción de volumen de metano a lo largo del tiempo. Se seleccionó un intervalo de tiempo discreto de la curva para calcular la velocidad de producción promedio. El punto inicial del intervalo comenzó cuando hubo una producción significativa de metano. Eso se dio cuando las variaciones del volumen de metano fueron mayores al 10%. El último punto del intervalo se tomó cuando el volumen de metano presentó una variación menor al 1%, es decir, cuando prácticamente no se produce metano. De esta forma es posible evitar interpretaciones por parte del operador para el cálculo de este valor. En la Figura 3.5 se muestra un ejemplo de las velocidades puntuales en el tiempo obtenidas con el equipo AMPTS. En ella se observa un comportamiento que refleja un crecimiento diáuxico de la

curva de metano acumulado y en el círculo rojo la zona en la cual se toman los puntos para calcular el promedio de este valor de acuerdo a la metodología propuesta.

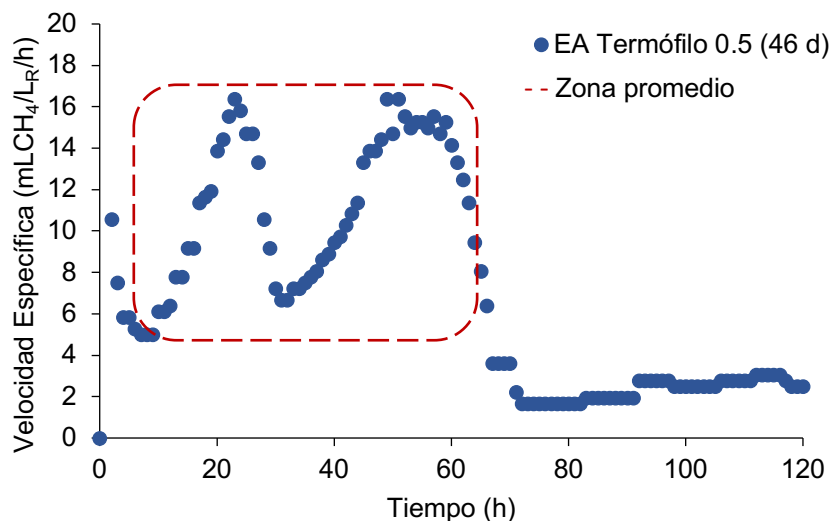


Figura 3.5. Ejemplo de la metodología para calcular la tasa de producción de metano, utilizando efluente acidogénico (EA).

3.3.2 Potencial bioquímico de metano con efluente de un reactor acidogénico como sustrato

Este estudio se llevó a cabo con el fin de utilizar el sustrato real con el cual se trabajó en el reactor metanogénico para evaluar la influencia de la concentración de sustrato.

Los ensayos se realizaron con el mismo equipo descrito en el apartado 3.3.1. El inóculo utilizado en la prueba a temperatura mesofílica (35 °C) fue lodo granular anaerobio proveniente de una planta de tratamiento de aguas de una industria cervecera. El inóculo termofílico fue lodo del mismo origen, previamente aclimatado a una temperatura de 55° C, la estrategia de aclimatación es mostrada en el apartado 3.3.3. El sustrato utilizado fue el efluente del reactor acidogénico que utiliza efluentes vitivinícolas como sustrato. Se realizaron pruebas por triplicado utilizando concentraciones 5, 10 y 15 gDQO/L, manteniendo la relación S_0/X_0 en 0.5 para ambas temperaturas, además una a 0.85 en termofilia y finalmente una prueba a 0.5, luego de 226 días a 55 °C. La concentración de

inóculo se varió para mantener las relaciones sustrato-inóculo de 0.5 y 0.85. El montaje del sistema se muestra en la Figura 3.6.

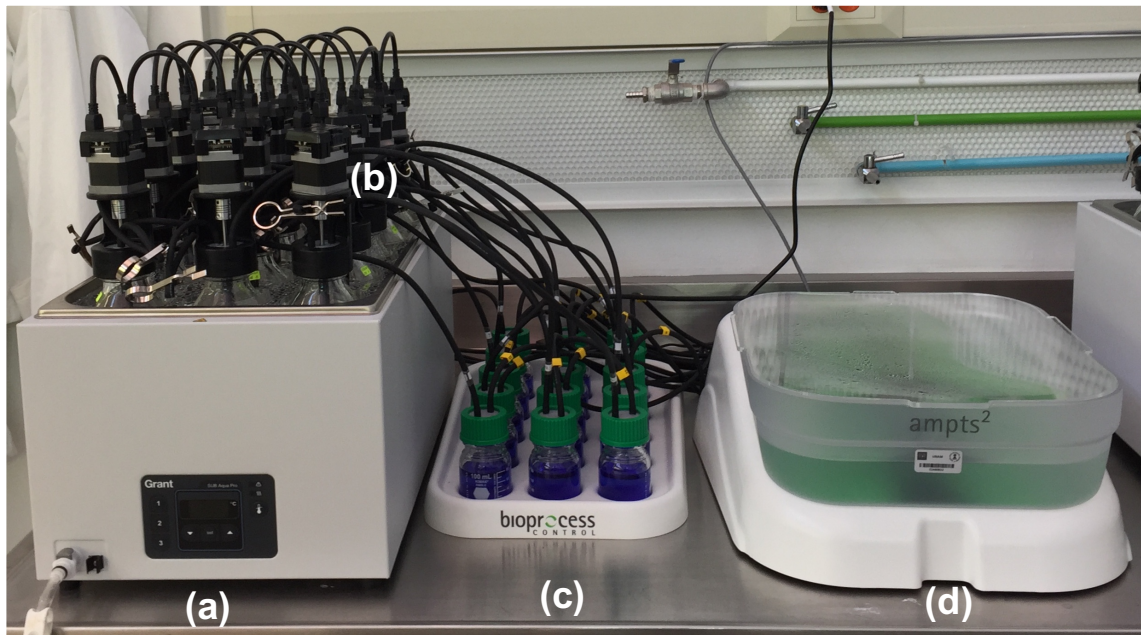


Figura 3.6. Montaje experimental para la prueba de potencial bioquímico de metano. (a) Baño regulador de temperatura; (b) Reactores con agitación; (c) Trampa de CO₂ con solución alcalina y (d) Sistema de medición de volumen de biogás.

Al igual que en el experimento anterior se agregó bicarbonato de sodio con el fin de mantener la alcalinidad en el sistema a una concentración de 5 g/L. También se realizaron controles negativos utilizando solo inóculo y solo con efluente vitivinícola. También se realizaron controles positivos utilizando glucosa como sustrato a 10 g/L para el experimento en mesofilia y 5 g/L para el realizado bajo condiciones termófilas.

Tanto el montaje, análisis y cálculo de velocidad fue realizado de igual forma que en el punto 3.3.1.

3.3.3 Aclimatación de lodo a temperatura termófila

Se utilizó un reactor de volumen total de 7.5 L y 5 L de volumen útil (Infors HT, modelo Labfors 5) operado en modo discontinuo (Figura 3.4). El reactor se inoculó con lodo granular anaerobio proveniente de una planta de tratamiento de aguas de una cervecera a una

concentración de 20 gSV/L. Para su activación se procesaron 3 lotes utilizando glucosa a una concentración de 5 g/L y 35° C. Seguido de esto, se utilizó como sustrato efluente de un reactor acidogénico alimentado con efluentes vitivinícolas a una concentración de 10 gDQO/L dentro del reactor. El volumen de biogás se midió utilizando un medidor para la detección de flujo μ flow (Bioprocess Control). Se terminó cada lote cuando la curva de biogás acumulado se vuelve asintótica. Para realizar un nuevo lote, se dejó decantar el lodo, se retiró sobrenadante y se agregó el nuevo sustrato. Los lotes se realizaron a la misma temperatura hasta que la variación de la cantidad máxima de biogás producido fuese igual o menor al 10%. Seguido de esto, la temperatura del reactor se aumentó en 10 °C y se utilizó la misma estrategia hasta alcanzar una temperatura de 55 °C. El pH y la agitación fueron constantes a 7 y 200 rpm respectivamente. Se realizaron mediciones de DQO al principio y al final de cada lote, y el porcentaje de metano se midió utilizando un cromatógrafo de gases SRI 8610C.

3.4 Métodos analíticos

3.4.1 Volumen y composición del biogás

El volumen de biogás producido fue cuantificado con un medidor de flujo μ flow (Bioprocess Control) que entrega datos normalizados de biogás acumulado, con una precisión de medición de $\pm 1\%$ y una resolución de aproximadamente 10 mL. La composición se determinó por cromatografía de gases. Para realizar este análisis se tomó una muestra de 10 mL completamente seca desde el volumen de gas utilizando una jeringa de 20 mL. Esta muestra se inyectó en un cromatógrafo de gases 8610C equipado con un detector de conductividad térmica y dos columnas empacadas en serie (columna empacada con gel de sílice de 1.83 m x 0.32 cm y columna de tamiz molecular 13x de 1.82 m x 3.175 mm). Las temperaturas del inyector y del detector se mantuvieron a 90 y 150°C, respectivamente. La temperatura inicial de la columna de 40 °C se mantiene durante 4 minutos, luego se incrementa hasta 110°C con una velocidad de 20 °C/min. La temperatura final de la columna se mantuvo durante 3 minutos. Se utilizó nitrógeno como gas acarreador con un flujo de 20 mL/min.

3.4.2 Sólidos totales y sólidos volátiles totales

La concentración de ST y SVT de los sustratos y del inóculo se cuantificaron por gravimetría, acorde a los procedimientos descritos en los métodos estándar (APHA, 2005).

3.4.3 Demanda Química de Oxígeno (DQO)

Para cuantificar la DQO se utilizó el método Hach 435. Este consiste en tubos de ensayos ya preparados con una solución estándar (dicromato de potasio, ácido sulfúrico, plata y mercurio), para determinar la DQO en un rango de 0 a 15000 mg DQO/L. La lectura del valor de DQO se realizó en un espectrofotómetro portátil Hach DR/2010 a una longitud de onda de 620 nm.

3.4.4 Cuantificación de carbohidratos

La cuantificación de carbohidratos se realizó por el método colorimétrico fenol-ácido sulfúrico por (Dubois et al., 1956), para el cual se utilizó una curva de calibración hecha con glucosa. Este método consiste en poner 0.5 mL de la muestra, 0.5 mL de fenol 5%(v/v) y finalmente 2.5 mL de ácido sulfúrico 98%(v/v) en un tubo, y dejar que la reacción se lleve cabo durante 20 minutos. Finalmente, la concentración se determinó en un espectrofotómetro portátil Hach DR/2010 a una longitud de onda de 490 nm.

3.4.5 Ácidos grasos volátiles (AGV)

Los AGV se determinaron tomando 1 mL de una muestra centrifugada y posteriormente filtrada a 0.45 μ m. Para su cuantificación se utilizó un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (FID) marca Agilen Tech 6890N VARIAN 330 C, equipado con una columna capilar de sílice Zebram ZB-FFPA de 0.53 mm de diámetro, 15 metros de largo y 1 μ m de espesor de película. La temperatura inicial del horno fue de 55°C durante tres minutos y posteriormente se incrementa a una tasa de 45°C por minuto hasta llegar a 135°C. La temperatura del inyector fue de 190°C, la temperatura del detector fue de 210°C, como gas portador se utilizó es el nitrógeno.

4 Resultados

4.1 Caracterización de los efluentes vitivinícolas

Se realizó la caracterización de tres efluentes vitivinícolas provenientes de dos bodegas distintas ubicadas en el municipio de Ezequiel Montes, Querétaro. Para evitar variaciones en la concentración de sustrato en la entrada, cada efluente fue homogeneizada previo a sus análisis de composición.

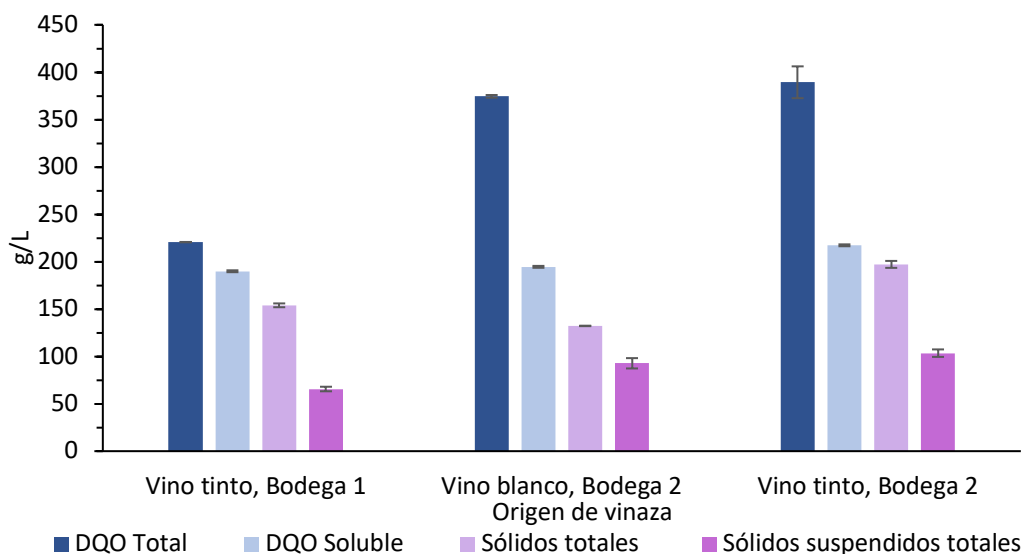


Figura 4.1. Valores de concentración de materia orgánica total y soluble, sólidos totales y volátiles para cada uno de los efluentes vitivinícolas caracterizados.

En literatura se han reportado distintos estudios que muestran la composición de efluentes vitivinícolas (España-Gamboa, 2011; Mosse et al., 2011; Vlyssides et al., 2010). En la Figura 4.1 es posible observar los elevados valores de concentración de materia orgánica presente en los distintos efluentes, teniendo valores más elevados que los encontrados en bibliografía. Los efluentes provenientes de la Bodega 2 presentan los valores más altos de DQO total. La DQO soluble representa un 86%, 52% y 56% de la DQO total para los efluentes de tinto de la Bodega 1, blanco Bodega 2 y tinto Bodega 2, para los tres efluentes se presentan valores similares con un promedio de 201 ± 15 g/L. Estas variaciones pueden tener distintos orígenes,

atribuibles a los procesos utilizados en la fabricación del vino, la escala de las viñas, incluso el tipo de uva que se utilice para la fabricación del vino (Lofrano & Meric, 2016).

Por otro lado, en la misma figura es posible observar que los efluentes de vinos tintos tienen una mayor concentración de sólidos totales, esto toma sentido debido a que la fermentación realizada al vino tinto incluye jugo, hollejo y semillas de la uva, a diferencia del vino blanco donde solo se realiza con el jugo (Letelier, 2015). La cantidad de sólidos presentes en los efluentes es fundamental para la elección del tipo de tratamiento a usar, en el presente caso, se encontró que los sólidos suspendidos corresponden a un 43, 70 y 52% para los efluentes vitivinícolas de tinto Bodega 1, blanco Bodega 2 y tinto Bodega 2. Esto implica que los reactores en dos etapas son una alternativa viable debido a que en la primera etapa se fomenta la fase hidrolítica, y al no tener biomasa fija, no existirían problemas de taponamiento o arrastre del lodo.

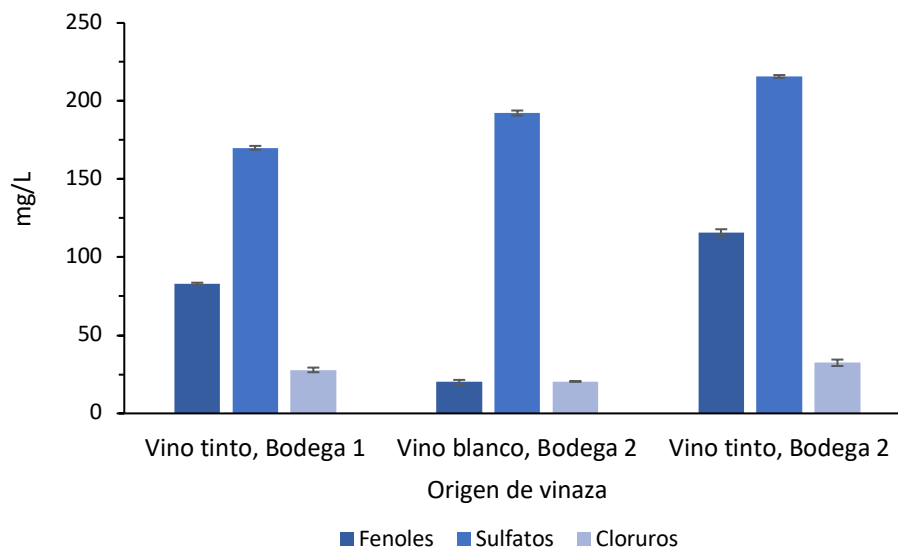


Figura 4.2. Valores de concentración de fenoles, sulfatos y cloruros para cada uno de los efluentes caracterizados.

Otro parámetro importante dentro de esta caracterización es el fenol, ya que en altas concentraciones puede ser inhibitorio e incluso tóxico para los microorganismos, en la Figura 4.2 se muestran las concentraciones de este compuesto. Al igual que los sólidos, en los

efluentes de vino tinto se encuentran valores más altos de este compuesto, debido posiblemente a la misma razón, como la fermentación se lleva a cabo con los restos sólidos de la uva, puede generar un aumento de este compuesto en la fase líquida. A pesar de lo anterior, los valores no alcanzan los rangos inhibitorios para el proceso de digestión anaerobia (1.2 g/L) (Kayembe et al., 2013). Dentro de la Figura 4.2, también se puede observar que tanto para sulfatos y cloruros, no hay una variación importante entre los efluentes con respecto a estos valores. Es importante mencionar los sulfatos pueden ser reducidos a sulfuros, que a su vez pueden ser inhibitorios en rangos de 100-800 mg/L (Chen et al., 2008), además, el H₂S es un contaminante del biogás, que en plantas de tratamiento puede generar grandes problemas en la operación.

También se realizó análisis de concentración de etanol y ácidos grasos volátiles a los efluentes vitivinícolas de vino tinto provenientes de la Bodega 1, en ellos se encontró que existen 91.3 ± 9.2 g/L de etanol, equivalente a gran parte de la DQO presente en el efluente. Por otro lado, de los ácidos grasos volátiles medidos, solo se encontró acetato a una concentración de 0.91 ± 0.1 g/L.

Finalmente en la Tabla 4.1 muestra los valores de trazas de metales presentes en los efluentes que no alcanzan a ser inhibidores para el proceso de digestión anaerobia (Chen et al., 2008).

Tabla 4.1. Trazas de metales presentes en los efluentes (ND = no detectado).

Parámetro	Unidades	Vino tinto, Bodega 1	Vino blanco, Bodega 2	Vino tinto, Bodega 2
Hierro	µg/L	0.31	1.52	ND
Níquel	µg/L	ND	ND	ND
Cobre	µg/L	2.85	0.66	0.67
Zinc	µg/L	1.61	1.05	3.17
Cobalto	µg/L	ND	ND	ND
Plomo	µg/L	0.32	0.32	0.11

4.2 Reactor Acidogénico

La operación del reactor en dos etapas se realizó primero montando el reactor acidogénico, utilizando los efluentes vitivinícolas de vino tinto de la Bodega 2, con el objetivo de obtener el sustrato tanto para las pruebas de potencial bioquímico de metano como para la operación del reactor metanogénico. Todos los experimentos se realizan a temperatura mesófila (35 °C).

A diferencia de algunos autores que han estudiado la influencia del inóculo en la etapa acidogénica (van Aarle et al., 2015), en este trabajo se fomentó el crecimiento de microorganismos nativos del sustrato (efluentes vitivinícolas) para las etapas de hidrólisis y acidogénesis. Existen estudios enfocados a la producción biológica de hidrógeno que demuestran que no es necesario invertir en pretratamientos para el inóculo, ya que la autofermentación del sustrato fomenta el crecimiento de microorganismos adaptados a él que permiten llevar a cabo las reacciones acidogénicas (Penteado et al., 2013), por eso, en este trabajo se decidió usar la misma estrategia. Para realizar la autofermentación, como se mencionó en el punto 3.1.2, al trabajar a TRH de 4 días, se dejaron decantar los sólidos el reactor entre un ciclo y otro.

El objetivo de este reactor fue la formación de ácidos grasos volátiles; por lo tanto, se tomaron en cuenta ciertas consideraciones de operación que fomentan la producción de principalmente acetato. En este contexto, uno de los principales parámetros de operación a considerar es el pH, distintos autores mencionan la importancia de este parámetro para guiar las rutas metabólicas de la fermentación (Bengtsson et al., 2008). Por esta razón el pH en el reactor se mantuvo en un valor de 5.5, el cual, de acuerdo a información proporcionada por Kandyliis et al. (2016), a un pH de entre 5 y 6, se promueve la formación de ácido acético y butírico. La Figura 4.3 presenta la concentración de ácidos grasos volátiles representados en DQO equivalente, donde el acetato representa más del 98% del total de ácidos grasos volátiles formados. Al día 20 se nota un aumento en la concentración de ácidos grasos volátiles, por lo tanto, es en ese punto donde se deja de operar en ciclos diarios, dejando de decantar los sólidos, ya que el inóculo está realizando las reacciones esperadas y se cambia la operación a continuo.

Por otro lado, en la misma Figura 4.3, se puede observar que los valores de DQO se mantienen constantes en un valor promedio de los 203 ± 12 , 197 ± 18 , 196 ± 23 g/L durante los tres TRH utilizados, lo que quiere decir que las condiciones de pH bajo, tasa de carga orgánica alta y corto tiempo de retención hidráulica son factores que evitan el establecimiento de metanógenos en el reactor (Fox & Pohland, 1994), y se demuestra debido a que no se detecta metano en el biogás, ni remoción de materia orgánica, solo existe transformación de ésta, es decir, de materia orgánica compleja a ácidos grasos volátiles, principalmente acetato.

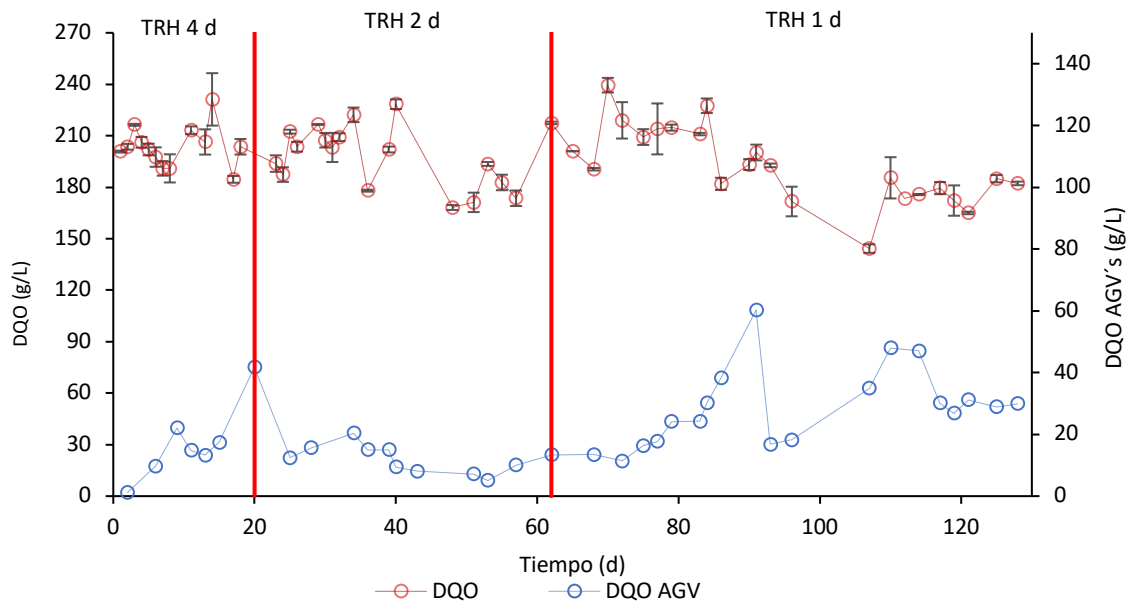


Figura 4.3. Evolución de la DQOs y ácidos grasos volátiles (representados en DQO equivalente) a la salida del reactor acidogénico durante su operación.

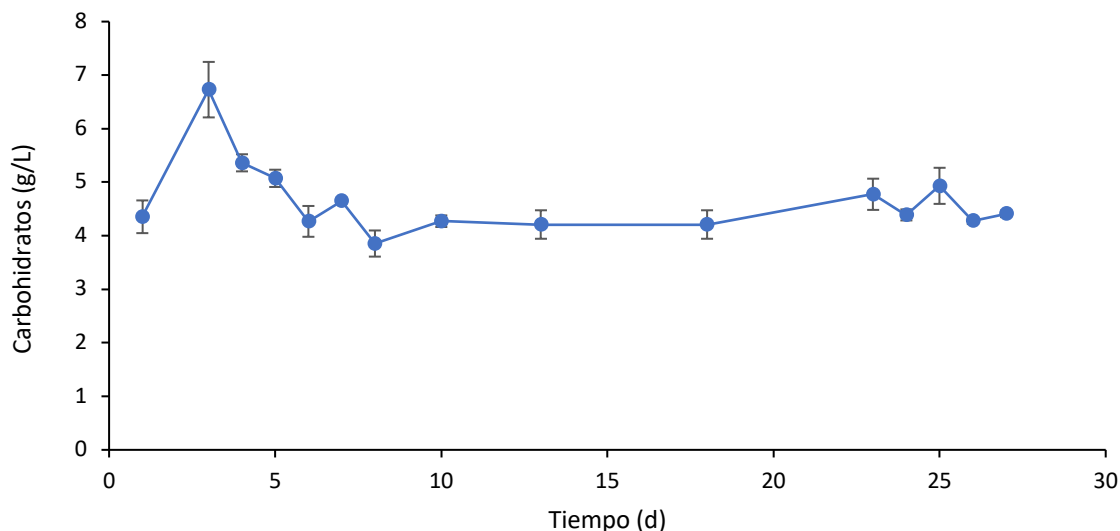
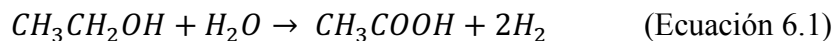


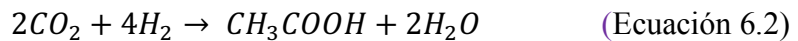
Figura 4.4. Evolución de los carbohidratos durante la autofermentación del inóculo para el reactor acidogénico.

La Figura 4.4 muestra los valores de carbohidratos en el efluente del reactor durante el primer periodo de operación, si se comparan los valores del día 1 y 3, es posible observar que existe una acumulación de estas moléculas, concentración que va disminuyendo a medida que pasan los días, esto se atribuye al aumento de bacterias acidogénicas que utilizan los carbohidratos como sustrato. Para el día 13, la concentración se mantiene relativamente constante, con valores entre 4 y 5 g/L. Esto implica que los carbohidratos que se están formando gracias a las bacterias hidrolíticas son consumidos por las acidogénicas.

En ese contexto, es posible observar que con la concentración de carbohidratos presentes en el reactor, no es posible alcanzar las concentraciones de acetato que se logran formar (Figura 4.3). Parte del resto acetato se pudo haber formado por carbohidratos subestimados y principalmente por otras rutas de formación de este compuesto, ya que en la Figura 4.4 no se observa que exista un gran consumo de este compuesto. Una de estas rutas es a partir de otro sustrato presente en el reactor, el etanol. Esta ruta homoacetogénica se representa en la siguiente ecuación (Refai et al., 2014):



Esto toma peso debido a que la concentración de etanol en el efluente crudo es de 91.3 ± 9.2 g/L y que esta reacción de oxidación microbiana es más favorable termodinámicamente que otras rutas de formación de acetato (Refai et al., 2014). Dado que no se detectó hidrógeno en el biogás, la producción de acetato se puede explicar por otra ruta metabólica: la homoacetogénesis autotrófica, que utiliza el hidrógeno y dióxido de carbono como sustrato, de acuerdo a la siguiente ecuación (Bundhoo & Mohee, 2016):



En el día 20 se alcanzó una formación considerable de ácidos grasos volátiles de 42 g/L. Entonces se decidió realizar una disminución del TRH a 2 días. En este punto, la operación del reactor cambió a continuo, es decir ya no se dejaron decantar los sólidos diariamente, sino que existió una alimentación y agitación continua. La salida del reactor se controló con un sensor de nivel.

En la Figura 4.3 se observa que el valor de DQO del efluente no varió de forma considerable. Por otro lado, es posible observar que la concentración de ácidos grasos volátiles disminuye y se mantiene relativamente constante con un valor promedio de 11.8 g DQO/L.

En el día 62 se redujo nuevamente el TRH a un día. Se pudo observar que la concentración de ácidos grasos volátiles se incrementó considerablemente llegando a un máximo de 62 g DQO/L. Teniendo en cuenta que la DQO en ese punto tiene un valor de 200 g/L, y que el promedio de la concentración de etanol en el efluente durante la segunda mitad del periodo a ese TRH fue de 70.4 g/L, equivalente a 147 g/L de DQO, es posible afirmar que prácticamente toda la DQO soluble que no es etanol fue transformada a ácidos grasos volátiles, específicamente a acetato, por lo que el objetivo se cumplió.

Cabe recalcar que este tipo de efluentes se caracteriza por tener una alta cantidad de sólidos. Esto afectó la operación del reactor, provocando el taponamiento de las tuberías cuando se trabajó aun TRH bajo. Particularmente en los días 91 y 114, se puede observar una clara disminución en las concentraciones de AGV's, atribuibles a esta situación, ya que concuerda con los días donde el taponamiento provocó que el reactor no se alimentara correctamente.

Debido a ello, se recomienda hacer una separación de sólidos y pre-digerirlos con el fin de desbaratar más los sólidos y solubilizarlos mejor antes de entrar al reactor acidogénico.

4.3 Aclimatación de lodo a temperatura termófila

Durante la aclimatación los microorganismos se adaptan a las condiciones que se necesitan en la operación ya sea requerimientos del sustrato, una alta concentración de compuestos tóxicos, o a parámetros operacionales que se requieran para mejorar el proceso, como por ejemplo la temperatura. En este trabajo se aplicó para el segundo caso, donde la aclimatación se llevó a cabo con el fin de obtener un lodo capaz de operar a una temperatura de 55 °C. Para realizarlo, se utilizó la estrategia sugerida por Boušková, et al. (2005) que se basa en un aumento gradual de la temperatura, evitando que se produjeran grandes perturbaciones en la producción de metano. El inóculo se adaptó durante 78 días.

Los resultados de la aclimatación se muestran en la Figura 4.5. Cabe recordar que el aumento de temperatura se realizó cuando los valores de volumen máximo de metano acumulado presentaron coeficientes de variación menores al 10%.

La Tabla 4.2 muestra que utilizando como sustrato el efluente de un reactor acidogénico los valores máximos de metano producido por gramo de DQO inicial fueron de 215, 274 y 251 mLCH₄/g DQO_{Inicial} para 35, 45 y 55 °C, respectivamente.

Lo anterior indica que hubo una selección de los microorganismos a medida que se fue aumentando la temperatura, donde los microorganismos fueron capaces de mantener buenos rendimientos de producción de metano, junto con altos porcentajes de remoción de materia orgánica, pues durante todo el periodo de experimentación la remoción estuvo arriba del 70%, con un máximo 85% a una temperatura de 45 °C.

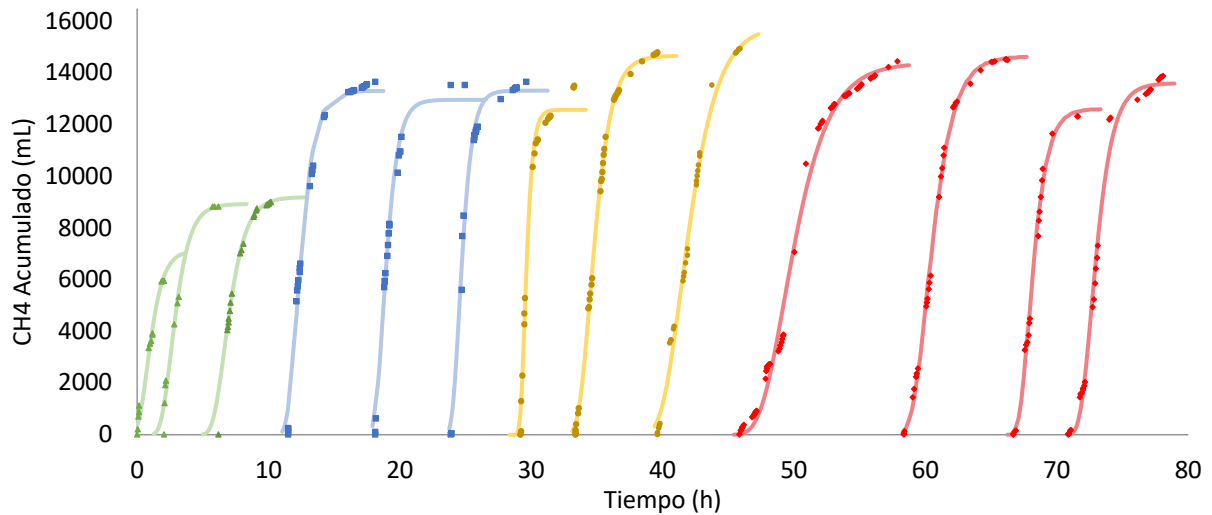


Figura 4.5. Volumen de metano acumulado para cada uno de los lotes, siendo (\blacktriangle) glucosa a 35°C y sustrato acidogénico a (\blacksquare) 35°C, (\bullet) 45°C y (\blacklozenge) 55°C.

Por otro lado, al aplicar la temperatura termófila no se alcanzó un mayor volumen de biogás acumulado (Figura 4.5), y los valores de biogás por gramo de DQO inicial, a pesar de ser buenos, no presentan diferencias significativas entre cada una de las etapas del experimento, utilizando análisis estadísticos con un 95% de confianza (Tabla 4.2).

Chachkhiani et al. (2004), observaron que los microorganismos dominantes bajo condiciones termófilas no fueron mesófilos adaptados, sino que los termófilos ya estaban presentes en el inóculo en un muy bajo porcentaje. Por lo tanto, el proceso de selección de los microorganismos genera que parte de ellos no resistan los cambios aplicados. Debido a esto, la concentración de SV puede verse afectada dado que la aclimatación puede durar un largo periodo de tiempo. Esto se observó en el presente trabajo, donde la concentración de sólidos volátiles disminuyó de 20 g SV/L al final de los ciclos a 35 °C, a 19.8 g SV/L al final de la etapa a 45° C y finalmente a 13.1 g SV/L al final la etapa a 55° C. Esta disminución de los SV, manteniéndose relativamente constante el volumen máximo de metano acumulado, implica que la velocidad específica de producción de metano (por gSV) aumentó de 76 mLCH₄/g SV/d en mesofilia a 86.4 mLCH₄/g SV/d al aplicar temperaturas termófilas, concordando con los datos encontrados en literatura, aun así, para este periodo de trabajo, no

es posible comprobar con los experimentos realizados si los microorganismos presentes son mesófilos adaptados o efectivamente termófilos.

Tabla 4.2. Valores del potencial bioquímico de metano y remoción de materia orgánica para cada lote durante el periodo de aclimatación.

Condición	Glucosa 5g/L, 35° C			Efluente Acidogénico. 10 g/L, 35° C			Efluente Acidogénico. 10 g/L, 45° C			Efluente Acidogénico 10 g/L, 55° C			
mLCH₄/gDQO_{inicial}	266	288	349	225	217	202	226	277	322	244	289	216	257
% Remoción (DQO)	72	90	93	74	78	76	84	80	85	71	78	78	74

4.4 Pruebas de potencial bioquímico de metano

4.4.1 Potencial bioquímico de metano con efluente vitivinícola

Se realizó una prueba de PBM utilizando efluentes vitivinícolas, provenientes de la Bodega 1. La Figura 4.6 muestra la producción acumulada de metano de cada una de las pruebas realizadas a distintas concentraciones de efluente (10, 50 y 100 gDQO/L) los controles negativos (sin inóculo y sin sustrato) y un control positivo utilizando glucosa como sustrato. En ella es posible observar que, utilizando efluente vitivinícola como sustrato, prácticamente no existe fase de latencia.

Para poder realizar una comparación entre cada una de ellas es necesario obtener los parámetros cinéticos presentados en la Tabla 4.3. Es posible observar que tanto la velocidad de producción de metano como el volumen máximo de metano se alcanzan utilizando concentraciones de sustrato de 10 y 50 g/L.

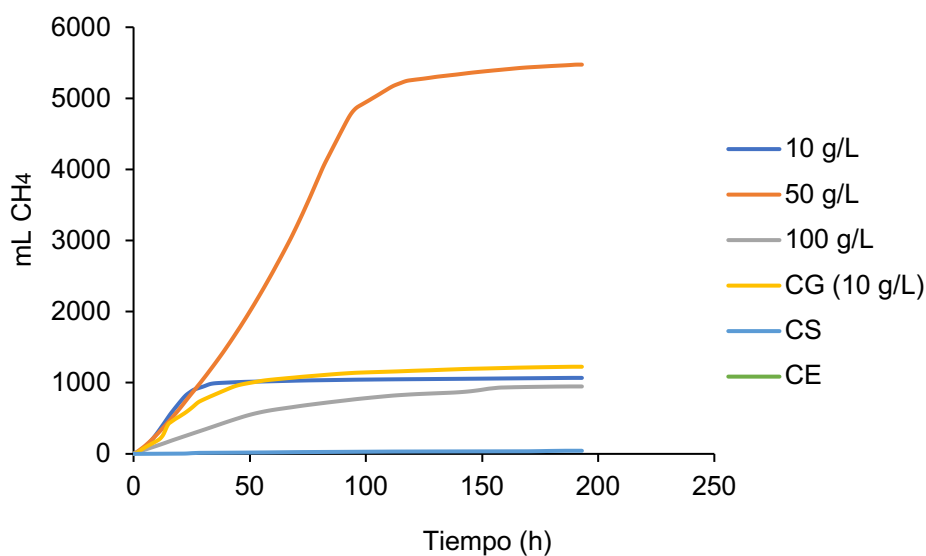


Figura 4.6. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente vitivinícola (CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).

Tabla 4.3. Parámetros medidos en las pruebas de PMB utilizando efluente vitivinícola como sustrato.

Concentración de vinaza	10 g/L	50 g/L	100 g/L	Control Glucosa
Volumen _{max} (mL)	954	5622	906	1182
Velocidad _{max} (mL/h)	31.4	49.1	10.4	22.0
g DQO _{removido}	2.7	14.6	13.2	3.5
mL CH ₄ /g DQO _{Inicial}	272	262	23	322
Velocidad específica de producción (mL/L _R /h)	83	129	27	58

Otro parámetro que hay que tener en cuenta cuando se trata del tratamiento de aguas residuales es la remoción de materia orgánica. Esto se representa calculando el porcentaje de remoción de materia orgánica medida como DQO durante el periodo de trabajo. En la Figura 4.7 se muestran los valores iniciales y finales de DQO para cada una de las botellas, donde sus porcentajes de remoción son 85.7; 95.8; 31.5 % para las botellas a 10, 50, 100 g/L respectivamente.

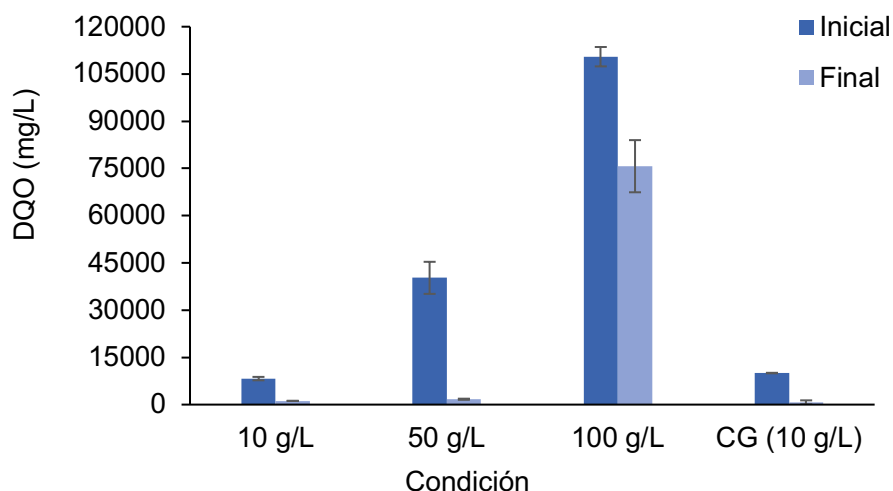


Figura 4.7. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluentes vitivinícolas como sustrato.

Se realizó el cálculo del potencial bioquímico de metano por gramo de DQO inicial (Tabla 4.3). Se observó que, para todos los tratamientos utilizados, a excepción de las condiciones 10 y 50 g/L, existen diferencias estadísticamente significativas con un $P > 0.05$, observándose que las concentraciones más eficientes son también las de 10 y 50 g/L. Esto se puede deber a distintos factores, el primero de ellos es que los microorganismos pueden ser inhibidos cuando se tiene una muy alta concentración de sustrato, por lo tanto, es necesario realizar una disminución de la concentración para poder hacer más eficiente el sistema. Por otro lado, como se observó en la caracterización, existen ciertos compuestos que pueden ser tóxicos para los microorganismos, uno de ellos es el fenol. Por lo tanto, altas concentraciones de

efluente vitivinícola, aumentan la concentración de este compuesto en el medio, lo que puede desencadenar en la disminución del rendimiento del proceso.

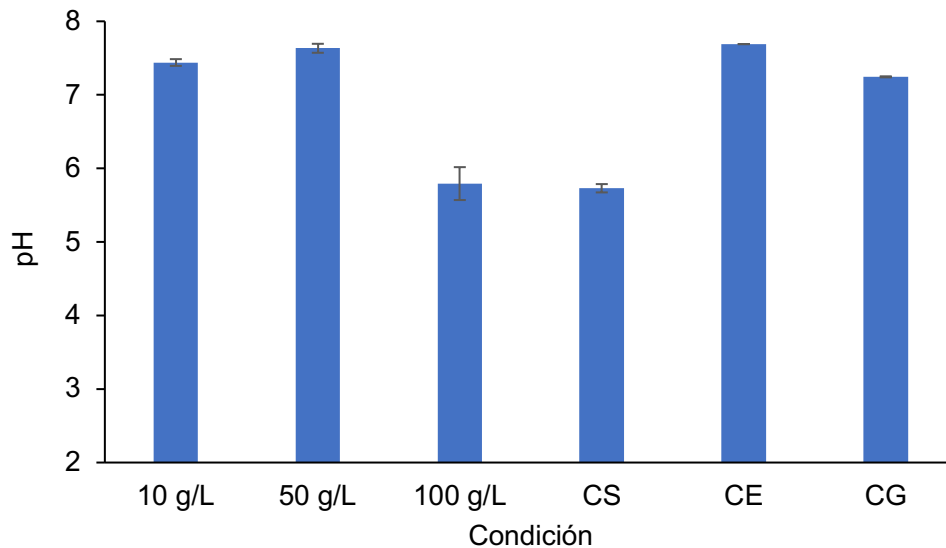


Figura 4.8. Valores finales de pH para cada condición, utilizando efluentes vitivinícolas como sustrato.

Finalmente, en la Figura 4.8, se muestran los valores de pH que se alcanzan al final de la corrida experimental. En ella es posible observar que al utilizar una concentración de 100 g/L, el pH disminuye significativamente con respecto a las otras pruebas experimentales, llegando a un valor menor a 6. Esto se debe a que la etapa de acidogénesis es mucho más rápida que la metanogénesis, por esta razón se acumulan los ácidos grasos volátiles, desencadenando una disminución en el pH, lo que provoca una baja en la eficiencia de la metanogénesis, debido a que las arqueas encargadas de este proceso son muy sensibles a este parámetro.

4.4.2 Potencial bioquímico de metano con efluente de un reactor acidogénico como sustrato

Estas pruebas se realizaron con el fin de evaluar condiciones de operación que fomenten de mejor manera la producción de metano. Para realizarlas se utilizó como sustrato efluente de un reactor acidogénico alimentado con efluentes vitivinícolas de vino tinto provenientes de

la Bodega 1. Las pruebas se realizaron con una relación $S_0/X_0 = 0.5$ y temperatura mesófila (35 °C). Posteriormente, se realizaron las pruebas con la misma relación S_0/X_0 , pero a temperatura termófila (55 °C), luego a una relación de 0.85 también a temperatura termófila (55 °C), y finalmente se realizó una última prueba a temperatura termófila (55 °C) luego de un periodo de 226 días a esa temperatura, utilizando una relación $S_0/X_0 = 0.5$. Se probaron concentraciones de sustrato de 5, 10 y 15 g/L.

Para poder realizar una comparación entre los tratamientos realizados y las concentraciones utilizadas, fue necesario calcular parámetros como velocidad de producción de metano y volumen máximo de metano.

Los parámetros obtenidos para la condición en mesofilia se realizaron manteniendo una relación de $gDQO_{\text{sustrato}}/gSV_{\text{inóculo}}$ igual a 0.5, de acuerdo a la recomendación dada por Holliger et al. (2016), y se presentan en la Tabla 4.4, calculados a partir de los datos promedio de biogás acumulado presentados en la Figura 4.9. En ella es posible observar que utilizando efluente acidogénico como sustrato, prácticamente no existe fase de latencia. Por otro lado, en la Tabla 4.4 se muestra la velocidad máxima de producción de metano, alcanzándose mejores resultados al utilizar 10 y 15 g/L de sustrato inicial.

Al igual que en el experimento anterior, otro parámetro de suma importancia es la remoción de materia orgánica, representada como DQO. En la Figura 4.10 se muestran los valores iniciales y finales de este parámetro para cada una de las botellas, donde sus porcentajes de remoción son 81.7; 78.3; 76.6 % para las botellas a 5, 10, 15 g/L respectivamente.

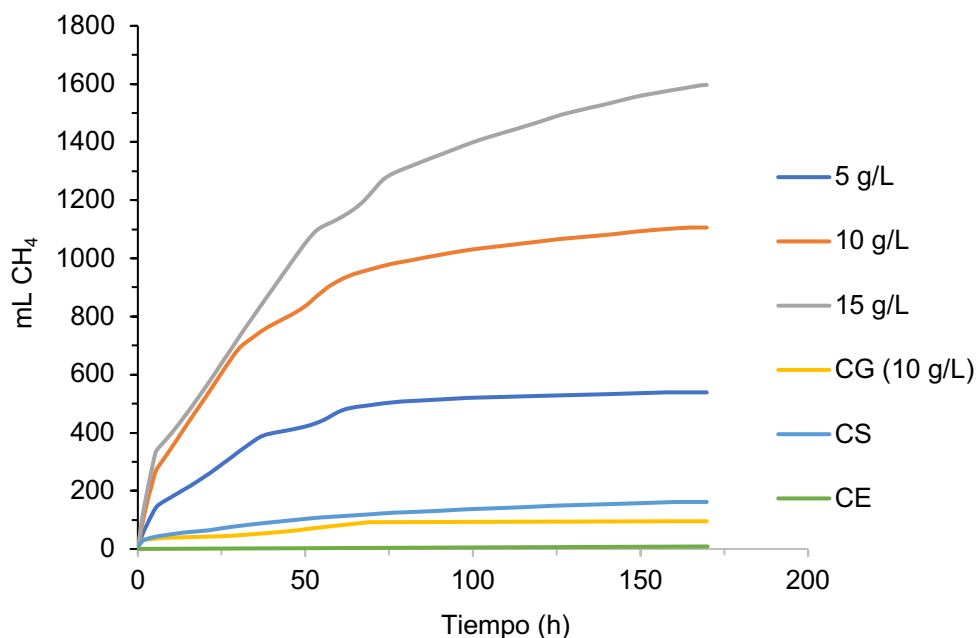


Figura 4.9. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 35°C (CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).

Tabla 4.4. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 35°C.

Concentración de sustrato	5 g/L	10 g/L	15 g /L	Control glucosa
Volumen _{max} (mL)	286	903	1501	1100
Velocidad _{max} (mL/h)	10.2	20.7	20.3	29.5

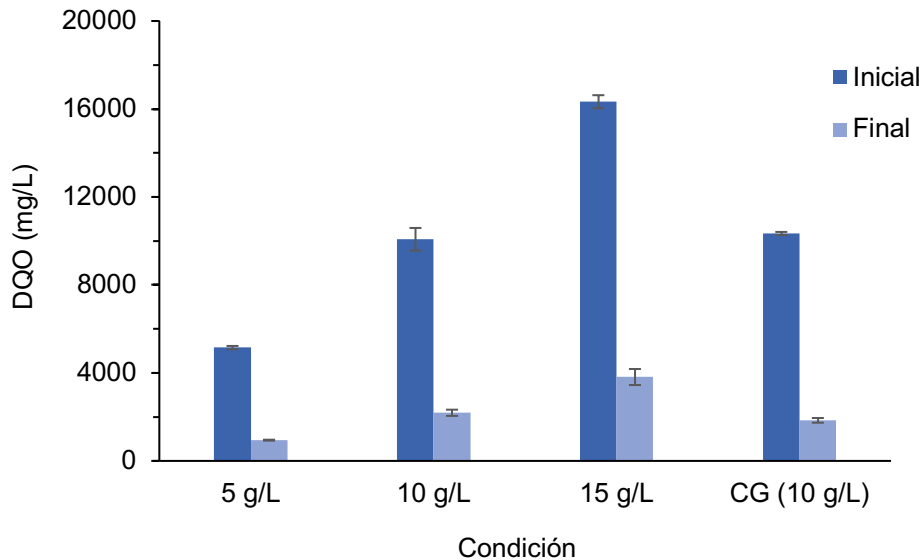


Figura 4.10. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 35°C.

Para las pruebas en termofilia se utilizaron las mismas condiciones de operación que en el experimento anterior, de esta forma se obtuvieron los parámetros cinéticos al utilizar una temperatura de 55° C. El lodo a utilizar fue el previamente aclimatado, cumpliendo un tiempo de 46 días a esa temperatura.

Las curvas de biogás acumulado promedio para las primeras pruebas en termofilia ($S_0/X_0 = 0.5$) se muestran en la Figura 4.11, y los parámetros se muestran en la Tabla 4.5. Con los datos obtenidos, es posible observar que al realizar este tratamiento, los parámetros obtenidos son menores a los obtenidos utilizando temperaturas mesófilas. No así los valores de remoción de materia orgánica, alcanzándose valores de 80.1%; 81.4% y 77.3% para las condiciones de 5, 10 y 15 g/L respectivamente (Figura 4.12) muy similares a la condición anterior.

Lo anterior repercute directamente en el potencial bioquímico de metano, mostrados en la Figura 4.17.

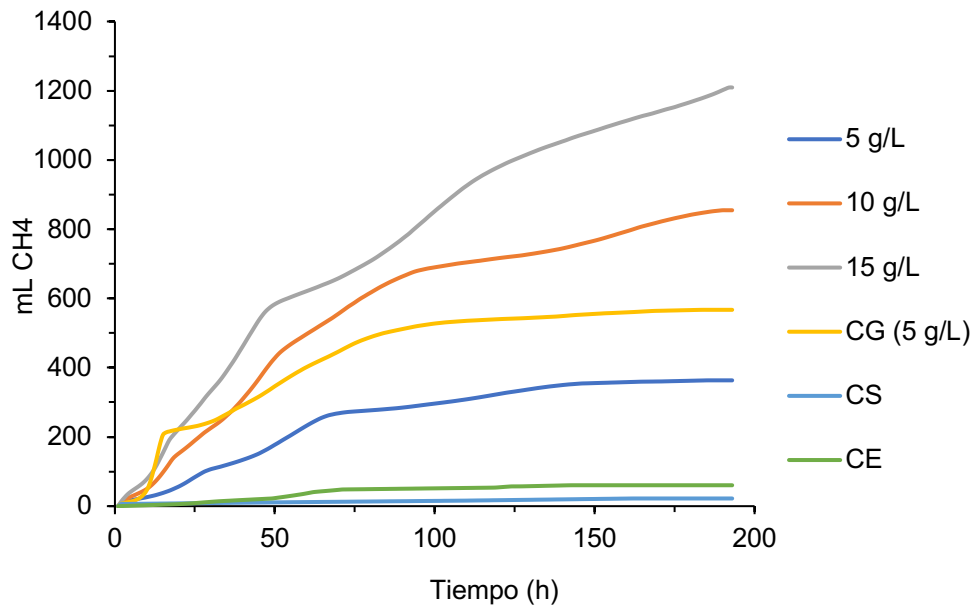


Figura 4.11. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 55°C ($S_0/X_0 = 0.5$, CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).

Tabla 4.5. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55°C ($S_0/X_0 = 0.5$).

Concentración de sustrato	5 g/L	10 g/L	15 g /L	Control glucosa
Volumen _{max} (mL)	327	742	1050	535
Velocidad _{max} (mL/h)	3.9	8.1	8.5	7

Como se ha mencionado en el presente trabajo, aumentar la temperatura hasta 55 ° C genera ventajas al proceso, como por ejemplo una mayor solubilidad y mejores tasas de reacciones (Da Ros et al., 2016), sin embargo existen estudios donde se ha reportado que temperaturas termófilas bajan el rendimiento general del proceso al compararlo con condiciones mesófilas (Rebecchi et al., 2013), sin ahondar en detalles y simplemente descartando su factibilidad un

proceso continuo posterior. Los bajos rendimientos al elevar la temperatura se pueden deber a diversos factores, en particular para este trabajo, el bajo rendimiento se atribuye a dos posibles razones principales, en primer lugar, a la relación S_0/X_0 , ya que el lodo, como se mencionó, fue el aclimatado a temperaturas termófilas y durante este periodo se lograron buenos rendimientos (punto 4.3) siendo la relación S_0/X_0 de 0.85 al final del último lote. Con este fin se realizó otra prueba de PMB utilizando esa relación sustrato-inóculo. Otra posibilidad es que el lodo no se haya aclimatado, solo se haya adaptado a temperaturas termófilas en el reactor. Por lo tanto, se realizó otra prueba luego de que el lodo permaneciera a 55° durante 226 días.

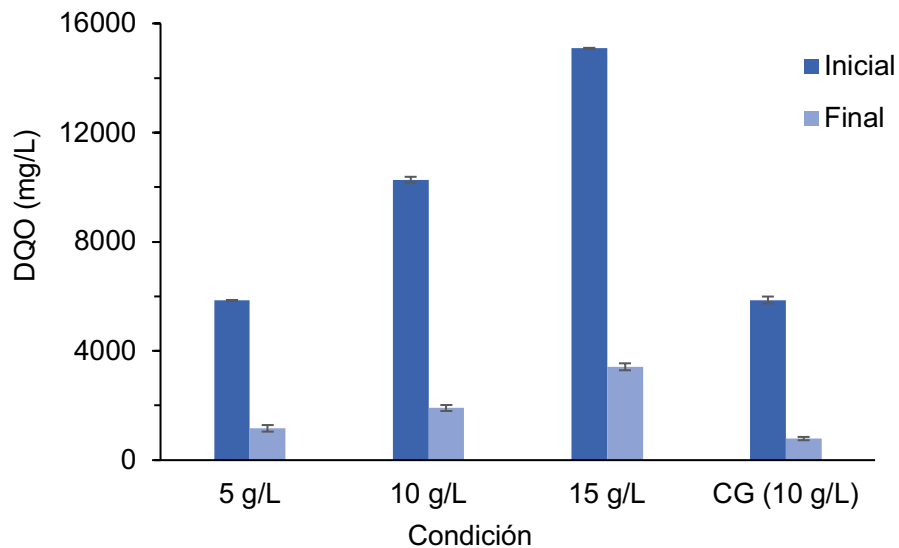


Figura 4.12. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55 °C ($S_0/X_0 = 0.5$).

Los resultados de la prueba utilizando la relación de 0.85 se muestran en la Figura 4.13, y los parámetros resultantes se muestran en la Tabla 4.6.

Al utilizar esta relación sustrato-inóculo es posible observar una muy baja diferencia con el tratamiento a relación de 0.5. Además, al utilizar esta relación sustrato-inóculo no se provocaron cambios importantes en la remoción de materia orgánica (Figura 4.14).

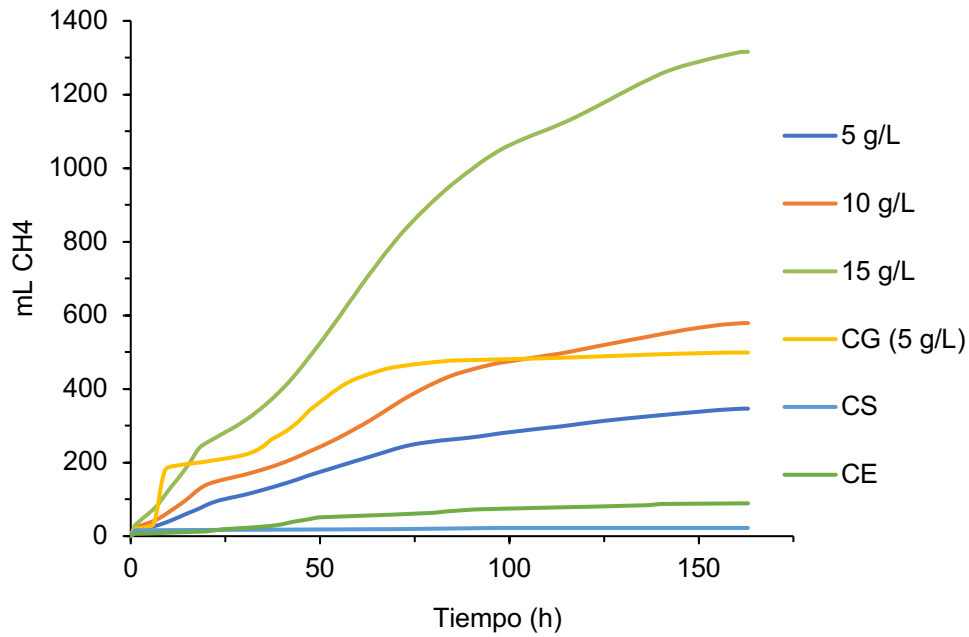


Figura 4.13. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 55°C ($S_0/X_0 = 0.85$, CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).

Tabla 4.6. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55°C ($S_0/X_0 = 0.85$).

Concentración de sustrato	5 g/L	10 g/L	15 g /L	Control glucosa
Volúmen _{max} (mL)	361	606	1390	482
Velocidad _{max} (mL/h)	3.3	5.1	11.2	7.5

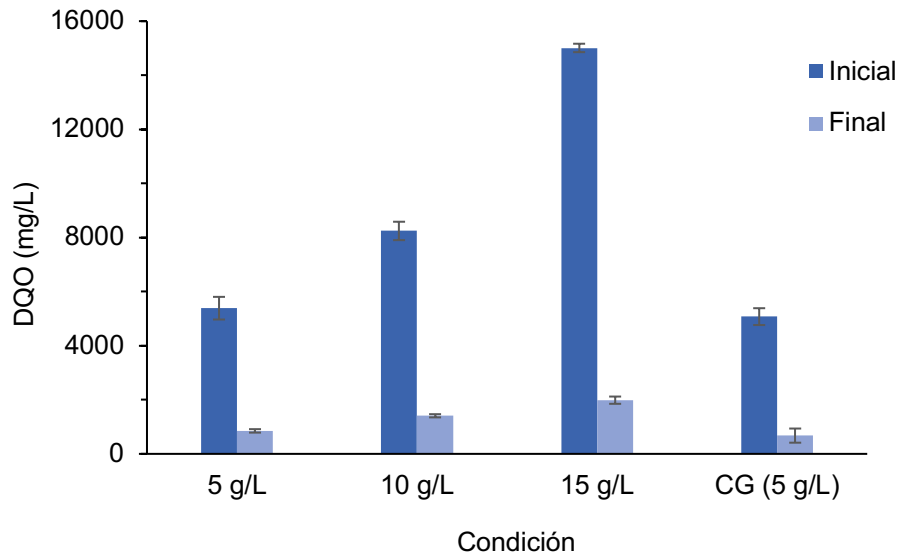


Figura 4.14. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55° C ($S_0/X_0 = 0.85$).

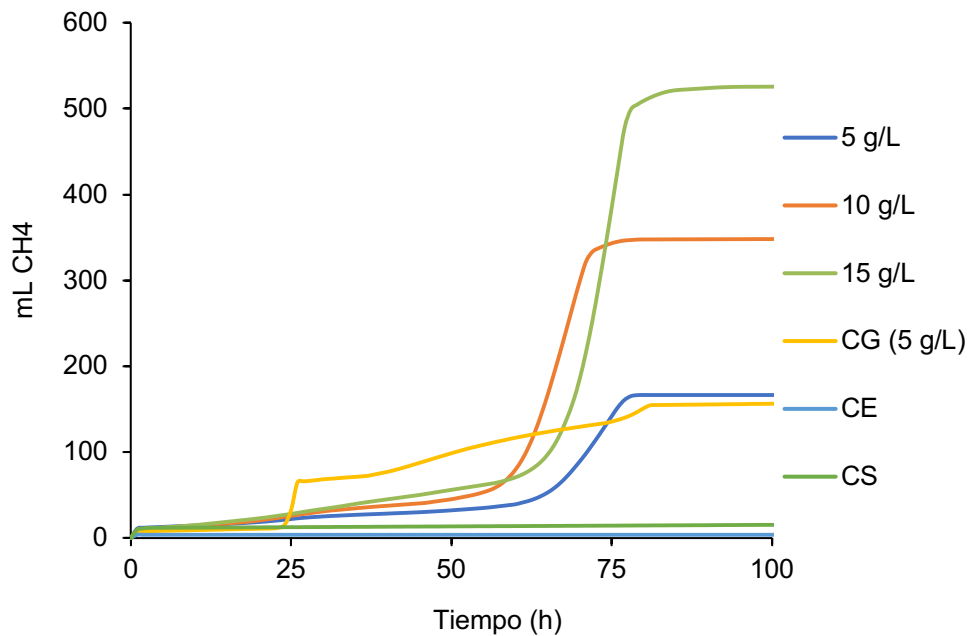


Figura 4.15. Metano acumulado utilizando distintas concentraciones iniciales de efluente acidogénico a 55°C (226 días) ($S_0/X_0 = 0.5$, CG: Control glucosa, CS: Control sustrato y CE: Control endógeno).

Finalmente, como se mencionó, se realizó la prueba a temperatura termófila (55 °C), utilizando el lodo que previamente fue aclimatado y utilizado para las pruebas anteriores, pero luego de haber permanecido por un periodo de 226 días a temperatura termófila. Las curvas de biogás acumulado para este ensayo se presentan en la Figura 4.15, mientras que los parámetros obtenidos se muestran en la Tabla 4.7. Los valores iniciales y finales de DQO para esta prueba se presentan en la Figura 4.16, donde se puede observar una clara disminución en la remoción de materia orgánica en comparación con los tratamientos anteriormente nombrados.

Tabla 4.7. Valores de los parámetros obtenidos para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55°C (226 días) ($S_0/X_0 = 0.5$).

Concentración de sustrato	5 g/L	10 g/L	15 g/L	Control glucosa
Volúmen _{max} (mL)	144	326	503	150
Velocidad _{max} (mL/h)	7.5	16.1	24.0	4.3

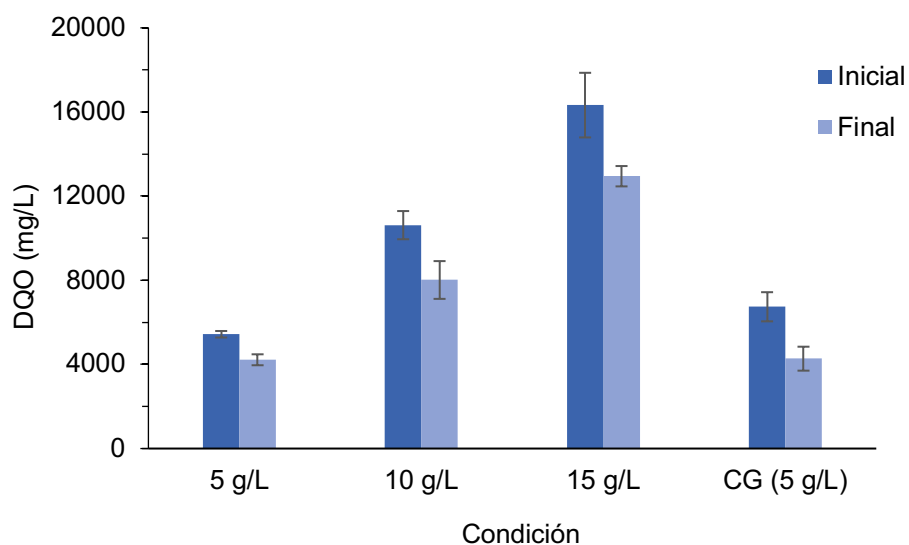


Figura 4.16. Valores iniciales y finales de materia orgánica representada como DQO para cada condición usando efluente acidogénico como sustrato a 55° C (226 días) ($S_0/X_0 = 0.5$).

Para poder realizar una comparación entre las concentraciones y los tratamientos utilizados es necesario comparar el potencial bioquímico de metano de cada uno de ellos ($\text{mL CH}_4/\text{gDQO}_{\text{inicial}}$) mostrados en la Figura 4.17, junto con las velocidades de producción específicas ($\text{mLCH}_4/\text{L}_R/\text{h}$) mostrados en la Figura 4.18.

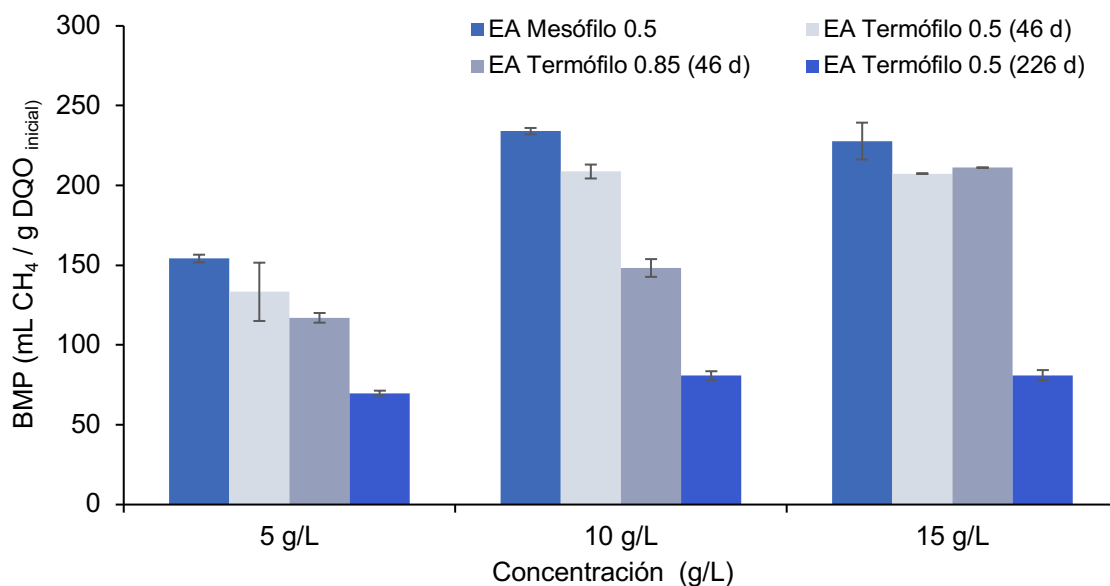


Figura 4.17. PBM obtenido utilizando efluente acidogénico (EA) como sustrato a diferentes concentraciones iniciales.

El potencial bioquímico de metano más bajo (Figura 4.17) se obtuvo al utilizar el lodo termófilo de 226 días y el más alto se alcanzó utilizando el lodo mesófilo ($234 \text{ mLCH}_4/\text{gDQO}_{\text{inicial}}$ a 10 g/L). En las cuatro condiciones utilizadas y para las tres concentraciones empleadas, los valores más altos se obtuvieron en mesofilia. Tian et al. (2015) mencionaron que utilizar la estrategia de aclimatación en un solo paso fue mejor, debido a que desde un inicio, los microorganismos termófilos presentes en el sistema pueden crecer a su temperatura óptima, factor clave para el establecimiento rápido de la comunidad. Figueroa-González et al. (2018) también realizaron los ensayos aumentando la temperatura en un solo paso, utilizando un sustrato similar en sus ensayos, los potenciales obtenidos en

condiciones termófilas fueron 1.8-2.9 veces mayores que los obtenidos en condiciones mesófilas. Lo anterior sugiere que la estrategia de aclimatación del lodo es un factor fundamental a la hora de obtener buenos rendimientos si se pretenden utilizar tratamientos termófilos.

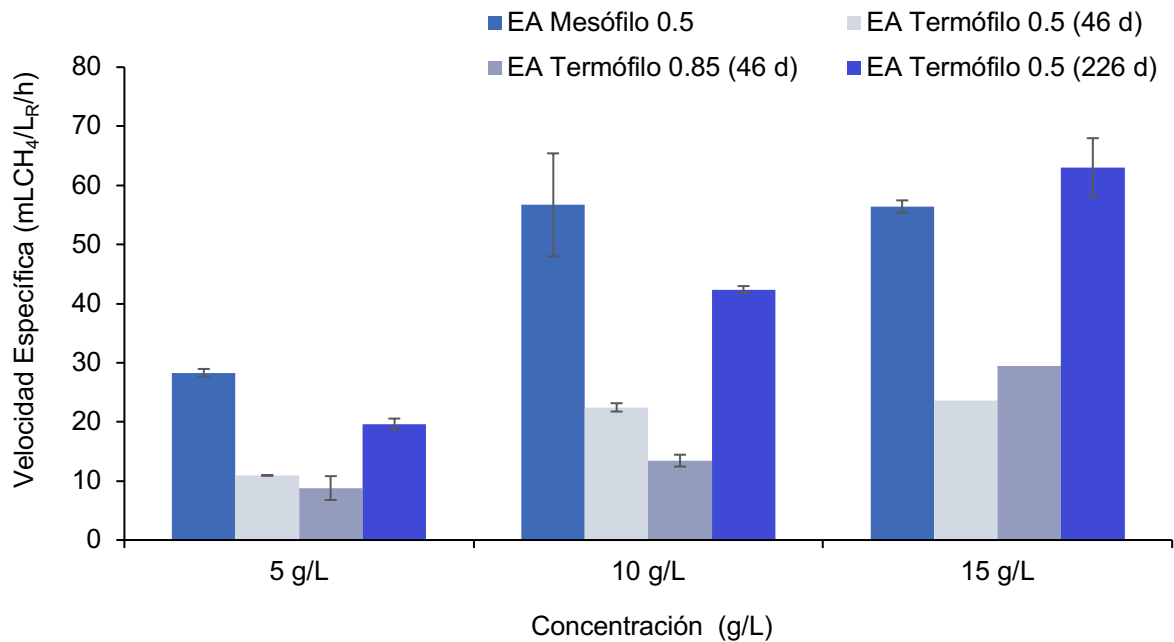


Figura 4.18. Velocidad específica de producción de metano utilizando efluente acidogénico (EA) como sustrato a diferentes concentraciones iniciales.

Es interesante observar que, indistintamente de la concentración, el lodo mesófilo degradó el sustrato con altas tasas iniciales (Figura 4.18). Eso sugiere que bajo condiciones mesófilas está presente un espectro más amplio de metanógenos que en condiciones termófilas. Las tasas obtenidas en condiciones termófilas fueron muy fluctuantes. A los 46 días de adaptación, se observan dos pendientes en las curvas de biogás acumulado en ambas relaciones sustrato-inóculo, (Figuras 4.11 y 4.13), lo que sugiere una degradación bifásica del sustrato. Sin embargo, el lodo adaptado durante 226 días presenta una clara pendiente en la curva de biogás acumulado, que aumenta con la concentración inicial. Este

comportamiento puede sugerir que a 55 °C luego de 46 días de aclimatación, los ensayos presentan microorganismos termotolerantes, lo cual podría explicar la degradación bifásica, mientras que a 55 ° y 226 días de aclimatación, los microorganismos termófilos que se desarrollan, generan solo una tasa máxima de producción de metano.

4.5 Reactor metanogénico

El reactor metanogénico se operó utilizando el efluente del reactor acidogénico como sustrato con una carga orgánica de 10.1 kgDQO/m³/d y un TRH de 20 días. Posteriormente la carga se aumentó a 13.2 kgDQO/m³/d que originó un TRH de 15 días. Finalmente, el reactor se operó con cargas de 26.1 y 30 kgDQO/m³/d utilizando un TRH de 7 días.

La Figura 4.19 muestra la concentración de entrada y salida del reactor, así como el porcentaje de remoción. Se puede observar que a los valores de remoción durante todo el periodo de experimentación se mantienen alrededor de un 95% lo cual concuerda con datos reportados en la literatura para aguas de este tipo (Da Ros et al.,2016; Moletta, 2005)

Cuando el TRH disminuyó a 7 días, se observó una baja en la remoción de materia orgánica. Posteriormente, a partir del día 58 se presentaron problemas en la operación. Estos problemas se debieron a una baja en el pH, el cual no fue controlado hasta el día 73. En los tiempos de retención previos, se hicieron análisis de alcalinidad en el efluente. Para esto se calculó el factor α , que corresponde a la relación entre la alcalinidad parcial y total, y se refiere a la capacidad que tiene el sistema para neutralizar ácidos. Para determinar este valor se realizaron titulaciones a valores de pH 5.75 y 4.3 (Pérez & Torres, 2008). Los resultados de estos análisis arrojaron factores iguales a 0.9, lo que indica que la capacidad de amortiguamiento del sistema era alta. Sin embargo, debido al aumento en la carga orgánica, se presentó una acidificación, que desencadenó un colapso en el sistema. Posterior al día 73, se incorpora un sistema de control de pH, manteniéndolo en un valor de 7.5, observándose que luego de casi 20 días de operación, el reactor funcionó sin problemas.

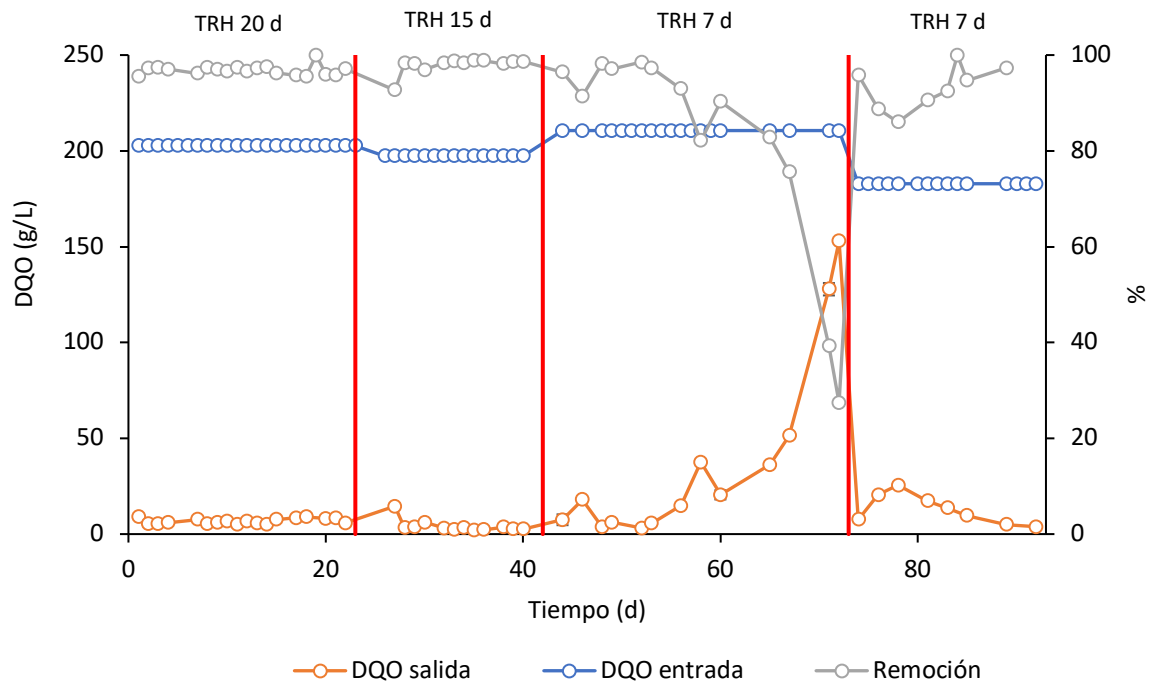


Figura 4.19. Evolución de la DQO y remoción de materia orgánica durante la operación del reactor metanogénico.

En la Figura 4.20 se puede observar tanto la producción diaria específica como el porcentaje de metano en el biogás. Se observó que el porcentaje de metano en el biogás se mantuvo relativamente constante, con un promedio de 68% desde el tercer día de operación (sin tomar en cuenta aquellos puntos donde se tuvo problemas de operación a TRH de 7 días).

La velocidad de producción de metano se mantiene en rangos acotados para cada tiempo de retención, tendiendo promedios de 3.3 ± 0.3 , 4.7 ± 0.7 , 6.9 ± 0.7 y 6.6 ± 0.1 LCH₄/L_R/d para 20, 15, y los dos periodos a 7 días de TRH respectivamente. La Tabla 4.7 presenta una comparación de los datos de operación de reactores operados con efluentes vitivinícolas. Se puede observar que la carga orgánica de 28 kgDQO/m³/d de este trabajo son de 4.4 a 1.8 mayores que lo que ha sido reportado. Los valores mostrados en la misma tabla llaman la atención, debido a que las producciones obtenidas están muy por arriba de los reportados, esto se puede deber a distintas razones, por ejemplo Keyser et al. (2003) muestran que en un inicio la producción de biogás fue baja debido a que el inóculo utilizado no estaba adaptado para la degradación de efluentes vitivinícolas (a pesar de que este proviene de una industria

cervecera al igual que el utilizado en el presente trabajo). También mencionan que logran aumentar la tasa de carga orgánica de forma exitosa hasta 10.12 kgDQO/L/d, pero no entregan datos de producción de biogás para hacer una comparación con los datos obtenidos a TRH 20 días, donde se presenta la misma carga orgánica. Con lo anteriormente discutido, se puede concluir que las diferencias encontradas tienen que ver con el sustrato utilizado, ya que a pesar de que no presentan la caracterización de sus efluentes vitivinícolas, la concentración de materia orgánica es significativamente menor a la utilizada en este trabajo, debido a las cargas y tiempos de residencia mostrados, probablemente deben haber diluido o centrifugado el sustrato.

Lo mismo ocurre con en el trabajo de Yang et al. (2011), donde tanto la concentración de DQO como la concentración de sólidos volátiles es mucho menor que en las reportadas en este trabajo, con valores de 18 g/L y 2.4 g/L respectivamente. Con respecto a sus resultados, a pesar de trabajar con tasas de carga orgánica similares a la primera usada en este trabajo (TRH 20 días), la producción de metano es de prácticamente la mitad y la remoción es menor. Lo anterior lleva a la conclusión que la utilización de dos etapas resulta benéfica pues la materia orgánica compleja es transformada en el reactor acidogénico principalmente a acetato lo que conlleva una alta transformación a metano en el segundo reactor.

Cuando se operan cargas elevadas en un reactor de un solo tanque (25 kgDQO/L/d) se observó que el proceso se acidificó (Molina et al., 2007), tal como ocurrió en el reactor operado a TRH 7 días. La diferencia fue que en este trabajo la acidificación se presentó cuando no existía un sistema adecuado de control de pH. Una vez incorporado se logró operar a una carga de 30 kgDQO/L/d, con proyecciones de aumentarla en trabajos futuros. Por lo anterior se plantea que la separación de etapas es una configuración adecuada que permite la estabilidad de ambas etapas (Robles et al., 2017), y tanto para el tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de DQO como para la producción de metano.

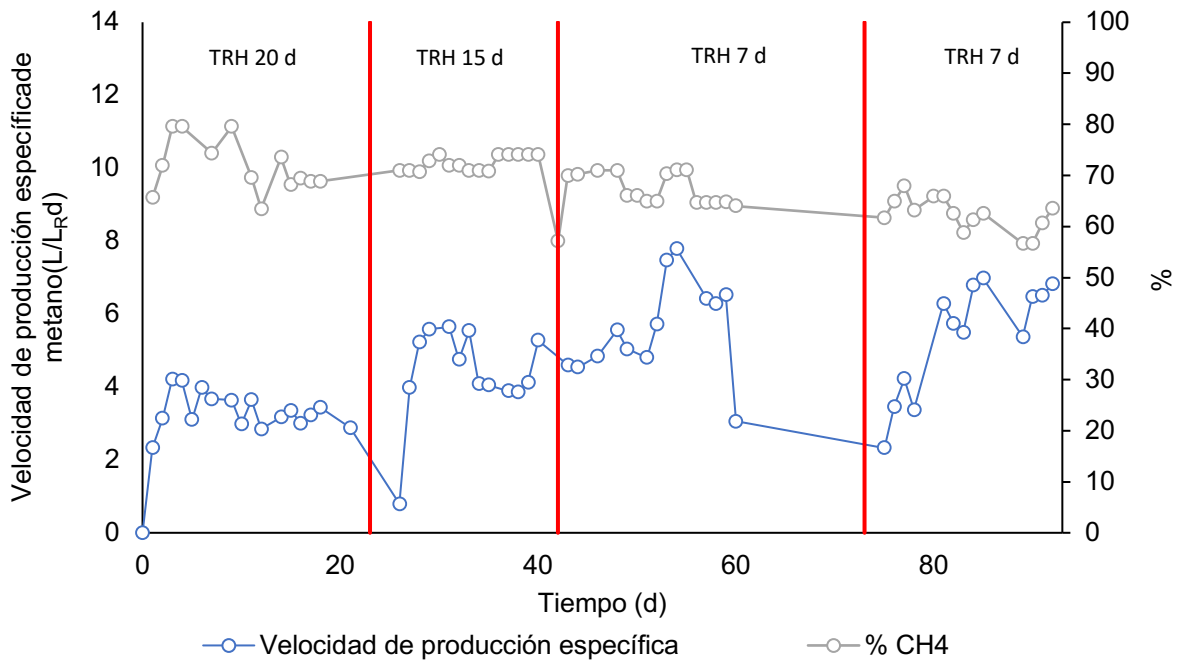


Figura 4.20. Evolución de la velocidad de producción y porcentaje de metano en el biogás, durante la operación del reactor metanogénico.

De acuerdo con la bibliografía revisada (Tabla 4.8), se observó que son escasos los trabajos que procesen los residuos vitivinícolas anaerobia. Esto indica un área de oportunidad en este tema, sobre todo cuando el efluente completo sin haber sido separado entra al proceso sin diluir. Lo anterior indica que la materia orgánica particulada puede ser adecuadamente tratada en un reactor acidogénico y aumentar la producción de biogás en el segundo reactor metanogénico. Sin embargo, como se comentó hay que hacer una separación de los sólidos sedimentables para evitar problemas en el reactor acidogénico.

Tabla 4.8. Comparación de porcentaje y producción específica de metano, de distintos trabajos que trabajan con efluentes vitivinícolas como sustrato.

Tipo de reactor	Volumen (L)	Carga orgánica (kgDQO/m ³ /d)	Remoción (%)	Producción de metano (L _{CH₄} /L _R /d)	Ref.
UASB	2.3	6.3	85	1.0	Keyser et al. (2003)
Filtro anaerobio	3	9.02	77.5	1.8	Yang et al. (2011)
UASBF híbrido	1100	12	96	3.8	Molina et al. (2007)
Acidogénico previo a lecho fijo	358	15.2	-	1.1	Robles et al. (2017)
Reactor en dos etapas	5	30	97	6.9	Este trabajo

5 Conclusiones

- Inicialmente se analizó la influencia del TRH en la etapa acidogénica, encontrándose que tiene influencia sobre la cantidad de ácidos grasos producidos en el reactor acidogénico. Al utilizar el valor de 1 día se alcanzaron valores de hasta 60 gDQO/L, con un 98% de acetato.
- Al utilizar los efluentes vitivinícolas crudos se observó que debido al alto contenido de sólidos, pueden existir problemas reológicos al tratar de escalar el reactor.
- Con el fin de obtener un inóculo termófilo para determinar el PMB a 55 °C se siguió una estrategia de aclimatación de tiempos variables, donde se obtuvo una tasa específica de producción de metano mayor (86.4 mL CH₄/gSV/d) que la obtenida con el lodo mesofílico (76 mL CH₄/gSV/d).
- Seguido de lo anterior, en la determinación del PBM se obtuvo que los valores de mesofilia fueron mayores que los realizados en termofilia. Sin embargo, la termofilia es prometedora ya que luego de 226 días de aclimatación la velocidad específica de producción de metano fue hasta 3 veces mayor que las obtenidas luego de 46 días de aclimatación, y utilizando una concentración de 15 g/L se superó la obtenida en mesofilia.
- Al momento de estudiar la relación existente entre el TRH y la producción de metano se encontró que existe una relación inversamente proporcional entre ellos. Después de una disminución progresiva del TRH, se observó que a 7 días se pudo operar a una carga de 30 g/L/d, obteniendo hasta 54.6 L_{CH₄}/L_{Efluente vitivinícola}, equivalente a un 71% del valor teórico.
- Finalmente, al operar el reactor en dos etapas (acidogénica y metanogénica), se pudo evaluar el desempeño de éste y aceptar la hipótesis, debido a que se pudo disminuir gradualmente el TRH en cada reactor alcanzándose una alta tasa de carga orgánica, el doble de lo encontrado en literatura para este tipo de residuos industriales y se logró propiciar la producción de ácido acético en la primera etapa.

6 Literatura citada

- Abbasi, T., Tauseef, S. M., & Abbasi, S. A. (2012). Anaerobic digestion for global warming control and energy generation—An overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(5), 3228–3242.
- Albarrán-Contreras, B. A., Carrillo-Reyes, J., & Buitrón, G. (2016). XVI International Congress of the Mexican Hydrogen Society. Biohydrogen production from wine vinasses by dark fermentation: effect of substrate concentration and pH. Queretaro, México.
- Amo, J. (2018). Resumen ejecutivo. El mercado del vino en México 2018. Retrieved from <https://www.icex.es/icex/es/navegacion-principal/todos-nuestros-servicios/informacion-de-mercados/paises/navegacion-principal/el-mercado/estudios-informes/DOC2018791307.html?idPais=MX>
- Andreottola, G., Foladori, P., & Ziglio, G. (2009). Biological treatment of winery wastewater: an overview. *Water Science & Technology*, 60(5), 1117–1125.
- APHA, AWWA, WEF, 1999. Standard methods for the examination of water and wastewater 20^o edition.
- Balachandar, G., Khanna, N., & Das, D. (2013). Biohydrogen Production from Organic Wastes by Dark Fermentation. In *Biohydrogen* (1st ed., pp. 103–144). Elsevier B.V.
- Batstone, D. J. (2006). Mathematical Modelling of Anaerobic Reactors Treating Domestic Wastewater: Rational Criteria for Model Use. *Reviews in Environmental Science and Bio Technology*, 5(1), 57–71.
- Bengtsson, S., Hallquist, J., Werker, A., & Welander, T. (2008). Acidogenic fermentation of industrial wastewaters: Effects of chemostat retention time and pH on volatile fatty acids production. *Biochemical Engineering Journal*, 40(3), 492–499.
- Boušková, A., Dohányos, M., Schmidt, J. E., & Angelidaki, I. (2005). Strategies for changing temperature from mesophilic to thermophilic conditions in anaerobic CSTR reactors treating sewage sludge. *Water Research*, 39(8), 1481–1488.

- Buitrón, G., Kumar, G., Martínez-Arce, A., & Moreno, G. (2014). Hydrogen and methane production via a two-stage processes (H₂-SBR + CH₄-UASB) using tequila vinasses. *International Journal of Hydrogen Energy*, 39(33), 19249–19255.
- Bundhoo, M. & Mohee, R. (2016). Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41(16), 6713–6733.
- Bustamante, M., Moral, R., Paredes, C., Pérez-Espinosa, A., Moreno-Caselles, J., & Pérez-Murcia, M. (2008). Agrochemical characterization of the solid by-products and residues from the winery and distillery industry. *Waste Management*, 28(2), 372–380.
- Bustamante, M. A., Paredes, C., Moral, R., Moreno-Caselles, J., Pérez-Espinosa, A., & Pérez-Murcia, M. D. (2005). Uses of winery and distillery effluents in agriculture: characterisation of nutrient and hazardous components. *Water Science and Technology*, 51, 145–151.
- Chachkhiani, M., Dabert, P., Abzianidze, T., Partskhaladze, G., Tsiklauri, L., Dudaury, T., & Godon, J. (2004). 16S rDNA characterization of bacterial and archaeal communities during start-up of anaerobic thermophilic digestion of cattle manure. *Bioresource Technology*, 93(3), 227–232.
- Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology*, 99(10), 4044–4064.
- Consejo Mexicano Vitivinícola. (2017). Consejo mexicano vitivinícola. Retrieved from <http://uvayvino.org.mx/vino-mexicano-el-mas-consumido-en-el-pais-en-2016/>
- Da Ros, C., Cavinato, C., Pavan, P., & Bolzonella, D. (2014). Winery waste recycling through anaerobic co-digestion with waste activated sludge. *Waste Management*, 34(11), 2028–2035.
- Da Ros, C., Cavinato, C., Bolzonella, D., & Pavan, P. (2016). Renewable energy from thermophilic anaerobic digestion of winery residue: Preliminary evidence from batch and continuous lab-scale trials. *Biomass and Bioenergy*, 91, 150–159.

- DuBois, M., Gilles, K. a., Hamilton, J. K., Rebers, P. a., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350–356.
- Duran, M., & Speece, R. E. (1997). Temperature-staged anaerobic processes. *Environmental Technology*, 18(7), 747–753.
- España-Gamboa, E., & Mijangos-cortes, J. (2011). Vinasses: characterization and treatments. *Waste Management & Research*, 29(12), 1235–12350.
- España-Gamboa, E., Mijangos-cortes, J., Barahona-perez, L., & Dominguez-maldonado, J. (2011). Vinasses: characterization and treatments. *Waste Management & Research*, 29(12), 1235–1250.
- Estrella, V. (2017) En Qro proyectan crecimiento en producción de vino. *El Economista*. Retrieved from <https://www.economista.com.mx/estados/En-Qro-proyectan-crecimiento-en-produccion-de-vino-20171026-0002.html>.
- Fernandez, J. M., Omil, F., Mendez, R., & Lema, J. M. (2001). Anaerobic treatment of fibreboard manufacturing wastewaters in a pilot scale hybrid USBF reactor. *Water Research*, 35(17), 4150–4158.
- Figueroa-González, I., Moreno, G., Carrillo-Reyes, J., Sánchez, A., Quijano, G., & Buitrón, G. (2018). From mesophilic to thermophilic conditions: one-step temperature increase improves the methane production of a granular sludge treating agroindustrial effluents. *Biotechnology Letters*, 40(3), 569–575.
- Fox, P., & Pohland, F. G. (1994). Anaerobic treatment applications and fundamentals: Substrate specificity during phase separation. *Water Environment Research*, 66(5), 716–724.
- Fu, S. F., Xu, X. H., Dai, M., Yuan, X. Z., & Guo, R. B. (2017). Hydrogen and methane production from vinasse using two-stage anaerobic digestion. *Process Safety and Environmental Protection*, 107(189), 81–86.

- Guo, X. M., Trably, E., Latrille, E., Carrre, H., & Steyer, J. P. (2010). Hydrogen production from agricultural waste by dark fermentation: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10660–10673.
- HAProwINE. (2011). Generación y Gestión de Residuos del Sector Vinícola. Retrieved from <http://www.haprowine.eu/pdf/fase2/Generacion%20y%20Gestion%20de%20Residuos%20del%20Sector.pdf>
- Holliger, C., Alves, M., Andrade, D., Angelidaki, I., Astals, S., Baier, U., Bougrier, C., Buffière, P., Carballa, M., de Wilde, V., Ebertseder, F., Fernández, B., Ficara, E., Fotidis, I., Frigon, J.-C., de Lacroix, H.F., Ghasimi, D.S.M., Hack, G., Hartel, M., Heerenklage, J., Horvath, I.S., Jenicek, P., Koch, K., Krautwald, J., Lizasoain, J., Liu, J., Mosberger, L., Nistor, M., Oechsner, H., Oliveira, J.V., Paterson, M., Paus, A., Pommier, S., Porqueddu, I., Raposo, F., Ribeiro, T., Rüsche-Pfund, F., Strömberg, S., Torrijos, M., van Eekert, M., van Lier, J., Wedwitschka, H., Wierinck, I. 2016. Towards a standardization of biomethane potential tests. *Water Science and Technology*, 74(11), 2515-2522.
- Jiranuntipon, S., Chareonpornwattana, S., Damronglerd, S., Albasi, C., & Delia, M.-L. (2008). Decolorization of synthetic melanoidins-containing wastewater by a bacterial consortium. *Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(11), 1313–1321.
- Jo, Y., Kim, J., & Lee, C. (2016). Continuous treatment of dairy effluent in a downflow anaerobic filter packed with slag grains: Reactor performance and kinetics. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 68, 147–152.
- Kalinci, Y., Hepbasli, A., & Dincer, I. (2009). Biomass-based hydrogen production: A review and analysis. *International Journal of Hydrogen Energy*, 34(21), 8799–8817.
- Kandyli, P., Bekatorou, A., Pissaridi, K., Lappa, K., Dima, A., Kanellaki, M., & Koutinas, A. A. (2016). Acidogenesis of cellulosic hydrolysates for new generation biofuels. *Biomass and Bioenergy*, 91, 210–216.
- Kaspar, H. F., & Wuhrmann, K. (1978). Kinetic parameters and relative turnovers of some important catabolic reactions in digesting sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 36(1), 1–7.

- Kayembe, K., Basosila, L., Mpiana, P. T., Sikulisimwa, P. C., & Mbuyu, K. (2013). Inhibitory Effects of Phenolic Monomers on Methanogenesis in Anaerobic Digestion. *British Microbiology Research Journal*, 3(1), 32–41.
- Kennedy, K. J., Sanchez, W. A., & Hamoda, M. F. (1991). Performance of anaerobic batch sequencing sludge reactors. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 63(1), 75–83.
- Keyser, M., Witthuhn, R. C., Ronquest, L. C., & Britz, T. J. (2003). Treatment of winery effluent with upflow anaerobic sludge blanket (UASB) - granular sludges enriched with *Enterobacter sakazakii*. *Biotechnology Letters*, 25(22), 1893–1898.
- Khalid, A., Arshad, M., Anjum, M., Mahmood, T., & Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste Management*, 31(8), 1737–1744.
- Koch, K., Lippert, T., & Drewes, J. E. (2017). The role of inoculum's origin on the methane yield of different substrates in biochemical methane potential (BMP) tests. *Bioresource Technology*, 243, 457–463.
- Kyzas, G. Z., Symeonidou, M. P., & Matis, K. A. (2016). Technologies of winery wastewater treatment: a critical approach. *Desalination and Water Treatment*, 57(8), 3372–3386.
- Leite, W., Magnus, B. S., Guimarães, L. B., Gottardo, M., & Belli Filho, P. (2017). Feasibility of thermophilic anaerobic processes for treating waste activated sludge under low HRT and intermittent mixing. *Journal of Environmental Management*, 201, 335–344.
- Letelier, B. (2015). El arte de la vinificación, parte 1 - Concha y Toro. Retrieved from <http://www.conchaytoro.com/wine-blog/el-arte-de-la-vinificacion-parte-1/>
- Li, K., Zhu, H., Zhang, Y., & Zhang, H. (2017). Characterization of the Microbial Communities in Rumen Fluid Inoculated Reactors for the Biogas Digestion of Wheat Straw. *Sustainability*, 9(2), 243.
- Lidholm, O., & Ossiansson, E. (2008). Modeling Anaerobic Digestion -Validation and calibration of the Siegrist model with uncertainty and sensitivity analysis. Department of Chemical Engineering, Lund Universitet.

- Liew, L. N., Shi, J., & Li, Y. (2012). Methane production from solid-state anaerobic digestion of lignocellulosic biomass. *Biomass and Bioenergy*, 46, 125–132.
- Lofrano, G., & Meric, S. (2016). A comprehensive approach to winery wastewater treatment: a review of the state-of-the-art. *Desalination and Water Treatment*, 57(7), 3011–3028.
- Lucas, M. S., Peres, J. A., & Li, G. (2010). Treatment of winery wastewater by ozone-based advanced oxidation processes (O₃, O₃ / UV and O₃ / UV / H₂ O₂) in a pilot-scale bubble column reactor and process economics. *Separation and Purification Technology*, 72, 235–241.
- Maksimov, P., Schares, G., Press, S., Fröhlich, A., Basso, W., Herzig, M., & Conraths, F. J. (2017). Comparison of different commercial DNA extraction kits and PCR protocols for the detection of *Echinococcus multilocularis* eggs in faecal samples from foxes. *Veterinary Parasitology*, 237, 83–93.
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 45, 540–555.
- Marin, F. (2016). Consideraciones sobre la tecnica del “délestage” - Ganimede. Retrieved from <http://www.ganimede.com/writable/downloads/attachments/DELESTAGE.pdf>.
- Mata-Alvarez, J., Macé, S., & Llabrés, P. (2000). Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource Technology*, 74(1), 3–16.
- Moletta, R. (2005). Winery and distillery wastewater treatment by anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 51(1), 137–144.
- Molina, F., Ruiz, G., García, C., Roca, E., & Lema, M. (2007). Winery effluent treatment at an anaerobic hybrid USBF pilot plant under normal and abnormal operation. *Water Science and Technology*, 56(2), 25–31.
- Montalvo, S. & Guerro, L. (2003). *Tratamiento anaerobio de residuos*. Valparaíso, Chile: Universidad Técnica Federico Santa María.

- Moreno, G., Buitrón, G., Noyola, A., Morgan, J. (2002). *Tratamiento anaerobio de aguas residuales*. Instituto mexicano de tecnología del agua. Segunda edición.
- Mosse, K. P. M., Patti, A. F., Christen, E. W., & Cavagnaro, T. R. (2011). Review: Winery wastewater quality and treatment options in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), 111–122.
- Nigam, P. S., & Singh, A. (2011). Production of liquid biofuels from renewable resources. *Progress in Energy and Combustion Science*, 37(1), 52–68.
- OVI. (2017). Organización Internacional de la Viña y el Vino. Retrieved from <http://www.oiv.int/public/medias/5682/es-communicu-depresse-octobre-2017.pdf>
- Pant, D., & Adholeya, A. (2007). Biological approaches for treatment of distillery wastewater: a review. *Bioresource Technology*, 98(12), 2321–34.
- Penteado, E. D., Lazaro, C. Z., Sakamoto, I. K., & Zaiat, M. (2013). Influence of seed sludge and pretreatment method on hydrogen production in packed-bed anaerobic reactors. *International Journal of Hydrogen Energy*, 38(14), 6137–6145.
- Pérez, A., & Torres, P. (2008). Indices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingeniería y Competitividad*, 10(2), 41–52.
- Prasad, R. K., Kumar, R. R., & Srivastava, S. N. (2008). Design of Optimum Response Surface Experiments for Electro-Coagulation of Distillery Spent Wash. *Water Air Soil Pollut*, 191(1), 5–13.
- Rebecchi, S., Bertin, L., Vallini, V., Bucchi, G., Bartocci, F., & Fava, F. (2013). Biomethane production from grape pomaces: a technical feasibility study *The. Environmental Engineering and Management Journal*, 12(11), 105–108.
- Refai, S., Wassmann, K., & Deppenmeier, U. (2014). Short-term effect of acetate and ethanol on methane formation in biogas sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(16), 7271–7280.

- Robles, A., Latrille, E., Ruano, M. V., & Steyer, J. P. (2017). A fuzzy-logic-based controller for methane production in anaerobic fixed-film reactors. *Environmental Technology*, 38(1), 42–52.
- Rodriguez, A., Letón, P., Rosal, R., Dorado, M., Villar, S., & Sanz, J. M. (2006). Tratamientos avanzados de aguas residuales industriales, Informe de vigilancia tecnológica. Retrieved from https://www.madrimasd.org/uploads/informacionidi/biblioteca/publicacion/doc/VT/VT2_Tratamientos_avanzados_de_aguas_residuales_industriales.pdf
- Ros, C. Da, Cavinato, C., Pavan, P., & Bolzonella, D. (2014). Winery waste recycling through anaerobic co-digestion with waste activated sludge. *Waste Management*, 34(11), 2028–2035.
- Ruiz, C., Torrijos, M., Sousble, P., Lebrato, J., Moletta, R., & Delgenes, J. P. (2002). Treatment of winery wastewater by an anaerobic sequencing batch reactor. *Water Science & Technology*, 45(10), 219–224.
- Solera, R., Romero, L. I., & Sales, D. (2002). The evolution of Biomass in a two-phase anaerobic treatment process during start-up. *Chemical and Biochemical Engineering Quarterly*, 16(1), 25–29.
- Strong, P. J., Burgess, J. E., Strong, P. J., & Burgess, J. E. (2008). Treatment Methods for Wine-Related and Distillery Wastewaters: A Review. *Bioremediation*, 12(2), 70–87.
- Tian, Z., Zhang, Y., Li, Y., Chi, Y., & Yang, M. (2015). Rapid establishment of thermophilic anaerobic microbial community during the one-step startup of thermophilic anaerobic digestion from a mesophilic digester. *Water Research*, 69, 9–19.
- Vadivel, R., Minhas, P. S., P, S. K., Singh, Y., Rao, D. V. K., & Nirmale, A. (2014). Significance of vinasses waste management in agriculture and environmental quality-Review. *African Journal of Agricultural*, 9(38), 2862–2873.
- Valderrama, A. (2008). Guía de prácticas ambientales para la vitivinicultura. Facultad De Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.

- van Aarle, I. M., Perimenis, A., Lima-Ramos, J., de Hults, E., George, I. F., & Gerin, P. A. (2015). Mixed inoculum origin and lignocellulosic substrate type both influence the production of volatile fatty acids during acidogenic fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 103, 242–249.
- van Haandel, A., de Vrieze, J., Verstraete, W., & dos Santos, V. S. (2014). Methanosaeta dominate acetoclastic methanogenesis during high-rate methane production in anaerobic reactors treating distillery wastewaters. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(11), 1751–1759.
- Vavilin, V. A., Fernandez, B., Palatsi, J., & Flotats, X. (2008). Hydrolysis kinetics in anaerobic degradation of particulate organic material: an overview. *Waste Management*, 28(6), 939–51.
- Vlyssides, A., Barampouti, E. M., Mai, S., Stamatoglou, A., & Tsimas, E. (2010). Alternative biological systems for the treatment of vinasse from wine, *Water Science & Technology*, 62(12) 2899–2904.
- Watanabe, K., Koyama, M., Ueda, J., Ban, S., Kurosawa, N., & Toda, T. (2017). Effect of operating temperature on anaerobic digestion of the Brazilian waterweed *Egeria densa* and its microbial community. *Anaerobe*, 47, 8–17.
- WatreLOT, A. A., Schulz, D. L., & Kennedy, J. A. (2017). Wine polysaccharides influence tannin-protein interactions. *Food Hydrocolloids*, 63, 571–579.
- Welz, P. J., Holtman, G., Haldenwang, R., & Roes-Hill, M. (2016). Characterisation of winery wastewater from continuous flow settling basins and waste stabilisation ponds over the course of 1 year: Implications for biological wastewater treatment and land application. *Water Science & Technology*, 74(10), 1–15.
- Wilkie, A. C., Riedesel, K. J., & Owens, J. M. (2000). Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. *Biomass and Bioenergy*, 19(2), 63–102.

Yang, R., Ma, Y., Zhang, W., Xu, R., Yin, F., Li, J., Xu, Y. (2011). The performance of new anaerobic filter process for high concentration winery wastewater treatment. In Power and Energy Engineering Conference (APPEEC). Wuhan, China.

Productos generados en la tesis

Congresos:

- Ojeda, F., Buitrón, G. (Mayo de 2017) Producción de metano a partir de vinazas vitivinícolas. *5th Young Water Professionals Conference – IWA*. Morelia, México.
- Ojeda, F., Buitrón, G. (Noviembre de 2017). Aclimatación de lodo anaerobio a temperatura termófila utilizando como sustrato un efluente acidogénico de vinazas vitivinícolas. *IV Reunión nacional de la red temática de bioenergía XIII Reunión nacional de la red mexicana de bioenergía*. Morelos, México.
- Ojeda, F., Buitrón, G. (Noviembre de 2017). Evaluation of the biochemical methane potential from winery vinasses. *8th Specialized Conference on Sustainable Viticulture, Winery Wastes & Agri-industrial Wastewater Management*. Viña del Mar, Chile.
- Ojeda, F., Buitrón, G. (Junio de 2018). Evaluation of a two-stage anaerobic reactor using winery vinasse as substrate *4th IWA Specialized International Conference – Ecotechnologies for Wastewater Treatment*. London, Ontario Canada.
- Ojeda, F., Martínez-Valdez, F., Buitrón, G. (Noviembre 2018) Propuesta de metodología para la evaluación de la velocidad de producción de metano. *1st. Latin American & Caribbean Young Water Professionals Conference*. Santiago de Querétaro, México.

Artículos en preparación:

- Martínez-Valdez, F., Ojeda, F., Buitrón, G. (2018) Methane production rate from an acidogenic effluent of a two-stage process for winery wastewater treatment. Sometido a *Biotechnology Letters*.
- Ojeda, F., Martínez-Valdez, F., Buitrón, G. (2018) Anaerobic digestion of winery effluent using a two-stage (acidogenic and methanogenic) process. En preparación para *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*.