



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

INGENIERÍA AMBIENTAL- AGUA

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA TEMPERATURA EN UN PROCESO  
ANAEROBIO DE DOS ETAPAS PARA EL TRATAMIENTO DE EFLUENTES  
VITIVINÍCOLAS**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

MARTHA CAZARES GRANILLO

TUTOR PRINCIPAL:



Vo.Bo.

DR. GERMÁN BUITRÓN MÉNDEZ, INSTITUTO DE INGENIERÍA

COMITÉ TUTORAL

DR. ULISES DURÁN HINOJOSA, INSTITUTO DE INGENIERÍA

DR. JORGE ARREOLA VARGAS, UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE JALISCO

SANTIAGO DE QUERÉTARO, AGOSTO 2020



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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. Ulises Durán Hinojosa
Secretaria:	Dra. Georgina Fernández Villagómez
Vocal 1:	Dr. Jorge Arreola Vargas
Vocal 2:	Dra. Mercedes Esperanza Ramírez Camperos
Vocal 3:	Dr. Germán Buitrón Méndez

## **Lugar donde se realizó la tesis**

Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (Lipata). 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**

## Financiamiento

Se agradece el apoyo de la DGAPA-UNAM (proyecto PAPIIT IN105119) y del Fondo de Sustentabilidad Energética SENER – CONACYT a través del proyecto 247006 Clúster de Biocombustibles gaseosos, para la realización de este proyecto.

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca brindada para la realización de los estudios de maestría con número de becario 519003134.

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), al Instituto de Ingeniería (II) y al Laboratorio de Investigación en Procesos Avanzados de Tratamiento de Aguas (LIPATA) por permitirme realizar el trabajo de investigación y finalizar la maestría.

Al Dr. Germán Buitrón Méndez, por permitirme pertenecer a su grupo de trabajo, por su asesoramiento durante esta investigación y por impulsar mi crecimiento personal y académico.

A los integrantes de mi comité tutorial Dr. Jorge Arreola Vargas y Dr. Ulises Durán Hinojosa por sus observaciones y comentarios que enriquecieron este trabajo de investigación.

A la Dra. Mercedes Esperanza Ramírez Camperos y a la Dra. Georgina Fernández Villagómez por contribuir con sus observaciones a la mejora de este proyecto.

Al Dr. Miguel Ángel Vital Jácome por su apoyo, su asesoramiento, su entusiasmo, su paciencia y por enseñarme a resolver las dificultades.

Al Dr. Martín Barragán Trinidad por sus observaciones que complementaron este trabajo de investigación y por las charlas que hacían ameno el trabajo en laboratorio.

A mis amigas Luz Cristina Ibarra Bañuelos y Marcela del Carmen Zavala Méndez por estar conmigo en las buenas y en las malas. Por las desveladas juntas y por su cariño.

A cada uno de los profesores y profesoras, así como a los técnicos de laboratorio por sus enseñanzas y apoyo.

Al Dr. Francisco Javier Martínez Valdez y a la Lic. María Fernanda Carballo Ugarte por su disposición y apoyo en laboratorio.

A los licenciados Javier Villanueva Morales, Ángel Avizua Hernández Huerta y a la licenciada Verónica por su excelente actitud de servicio y por el apoyo brindado.

A Alberto Hernández, Julián Osvaldo Sánchez, Ana Laura Díaz, Víctor, Eduardo, Ana, Karol y Felipe por compartirme su conocimiento y por su apoyo.

A la comunidad del LIPATA por los conocimientos y momentos compartidos.

## Dedicatoria

*A Dios por darme todo para lograr mis metas.*

*A Rosy por su apoyo, sus abrazos y su amor.*

*A mi papá y a mi mamá por darme la vida.*

*A Francisco por el apoyo y cariño brindado.*

*A mi hermana por ser mi compañera de vida.*

*A Axel por su amor y por motivarme a seguir.*

*A mi nena por sus travesuras y acompañamiento.*

*A Paloma, Luis y Gerardo por ser mi familia peluche.*

*A Sindy, Odalis, Karen, Alison, por darle alegría a mis días.*

*A mis amistades Itzel, Nayeli, Selene y Francisco por su cariño.*

## Resumen

Los efluentes vitivinícolas son los residuos líquidos provenientes de la producción de vino y se caracterizan principalmente por generarse en grandes volúmenes, tener pH ácido, carbohidratos, polifenoles y alto contenido de materia orgánica, sólidos y etanol. Debido a estas características requieren tratamiento para ser desechados en el ambiente sin ocasionar efectos nocivos. El tratamiento puede ser mediante digestión anaerobia porque permite aprovechar estos residuos para generar biocombustible y contribuir a la producción de energía renovable.

La digestión anaerobia de estos efluentes ha resultado de interés mundial por lo que se han realizado diversos trabajos donde probaron diferentes parámetros entre ellos configuración del reactor, co-digestión, digestión en dos etapas y variaciones de temperatura. Sin embargo, aún es necesario determinar los parámetros que mejoren la eficiencia del proceso. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la temperatura en un sistema anaerobio de dos etapas para el tratamiento de estos efluentes.

Para lograr este objetivo se llevó a cabo la digestión anaerobia de tres formas distintas: en una etapa en mesofilia; en dos etapas en mesofilia; y en dos etapas operando al reactor acidogénico en mesofilia y al metanogénico en termofilia. Finalmente se realizó un balance energético para así determinar cuál es el proceso que más ventajoso para tratar y aprovechar estos efluentes.

Los resultados obtenidos indican que el tratamiento de efluentes vitivinícolas mediante un sistema de dos etapas (acidogénico en mesofilia, metanogénico en termofilia como SBR), con una carga de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ , fue el más conveniente porque permitió obtener un rendimiento de  $235 \pm 14 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una remoción de materia orgánica del 70%, y una productividad de  $8.2 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ . Y genera  $252 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$  de energía, que es 1.5 veces mayor a lo obtenido con la misma configuración pero en mesofilia.

## Abstract

Winery effluents are the liquid residues from wine production and mainly are known for being generated in large volumes, having an acid pH, carbohydrates, polyphenols and a high content of organic matter, solids and ethanol. Due to these characteristics, they require a treatment to be disposed to the environment without causing harmful effects. The treatment can be through anaerobic digestion because it allows to use these residues to generate biofuel and contribute to the production of renewable energy.

The anaerobic digestion of these effluents has been of worldwide interest, so various works have been carried out where different parameters have been tested, including reactor configuration, co-digestion, two-stage digestion and temperature variations. However, it is still necessary to determine the parameters that improve the process efficiency. Therefore, the objective of this work was to evaluate the temperature influence in a two-stage anaerobic system for the treatment of these effluents.

To achieve this goal, anaerobic digestion was carried out in three different ways: in one stage in mesophilia; in two stages in mesophilia; and in two stages operating the acidogenic reactor in mesophilia and the methanogenic reactor in thermophilia. Finally, an energy balance was carried out to determine which was the most advantageous process to treat and take advantage of these effluents.

The results obtained indicate that the treatment of these effluents by means of a two-stage system (acidogenic in mesophilia, methanogenic in thermophilia as SBR), with a load of  $30 \text{ kgCODm}^{-3}\text{d}^{-1}$ , was the most convenient because it allowed to obtain a yield of  $235 \pm 14 \text{ LCH}_4\text{kgCOD}^{-1}$ , a COD removal of 70%, and a productivity of  $8.2 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ . And it generates  $252 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$  of energy, which is 1.48 times greater than the obtained with the same configuration but in mesophilia.

## Contenido

Financiamiento .....	iii
Agradecimientos.....	iv
Dedicatoria .....	v
Resumen .....	vi
Abstract .....	vii
Contenido.....	viii
Índice de tablas .....	x
Índice de figuras.....	xi
1. Marco teórico .....	1
1.1 Producción de la industria vitivinícola.....	2
1.2 Características de los efluentes vitivinícolas .....	4
1.3 Tratamiento de efluentes vitivinícolas .....	5
1.3.1 Sistemas aerobios .....	5
1.3.2 Sistemas anaerobios .....	7
1.4 Fundamentos de la digestión anaerobia .....	9
1.5 Parámetros operacionales de un reactor anaerobio.....	12
1.5.1 pH.....	12
1.5.2 Alcalinidad .....	12
1.5.3 Nutrientes .....	13
1.6 Biogás .....	14
1.7 Digestión anaerobia en dos etapas.....	15
1.8 Digestión anaerobia en termofilia.....	17
1.9 Digestión anaerobia en dos etapas y en termofilia.....	21

2. Antecedentes.....	23
3. Justificación .....	25
4. Hipótesis.....	25
5. Objetivos.....	26
5.1 Objetivo general .....	26
5.2 Objetivos específicos .....	26
6. Metodología.....	27
6.1 Caracterización de los efluentes vitivinícolas .....	27
6.2 Digestión anaerobia en una etapa en mesofilia.....	28
6.3 Digestión anaerobia en dos etapas en mesofilia .....	29
6.4 Digestión anaerobia en dos etapas (acidogénico en mesofilia y metanogénico en termofilia).....	32
6.5 Balance energético y comparación de los sistemas probados .....	34
6.6 Métodos analíticos .....	37
7. Resultados y discusión .....	41
7.1 Caracterización de los efluentes vitivinícolas .....	41
7.2 Digestión anaerobia en una etapa en mesofilia.....	43
7.3 Digestión anaerobia en dos etapas en mesofilia .....	48
7.4 Digestión anaerobia en dos etapas (acidogénico en mesofilia y metanogénico en termofilia).....	54
7.5 Balance energético y comparación de los sistemas probados .....	65
8. Conclusiones .....	69
9. Productos del proyecto de investigación.....	72
9.1 Presentaciones en congresos .....	72
9.2 Artículos publicados .....	72
10. Referencias bibliográficas.....	73

## Índice de tablas

Tabla 1.1 Características de los efluentes vitivinícolas. ....	4
Tabla 1.2 Tratamientos aerobios para efluentes vitivinícolas. ....	6
Tabla 1.3 Tratamientos anaerobios para efluentes vitivinícolas. ....	8
Tabla 1.4 Composición del biogás. ....	15
Tabla 1.5 Microorganismos metanogénicos termofílicos. ....	18
Tabla 1.6 Tasas de crecimiento de microorganismos metanogénicos. ....	19
Tabla 1.7 Rendimiento de biogás obtenido por Kim y colaboradores (2002). ....	21
Tabla 2.1 Trabajos sobre digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas. ....	24
Tabla 6.1 Parámetros operacionales del sistema en dos etapas. ....	31
Tabla 6.2 Parámetros operacionales del reactor metanogénico en termofilia. ....	33
Tabla 7.1 Características de los efluentes utilizados. ....	43
Tabla 7.2 Resultados del reactor acidogénico. ....	55
Tabla 7.3 Resultados en termofilia con la carga de $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ . ....	62
Tabla 7.4 Comparación de procesos de digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas. ....	65
Tabla 7.5 Resultados del balance energético. ....	67

## Índice de figuras

Figura 1.1 Proceso de elaboración del vino. ....	3
Figura 1.2 Etapas de la digestión anaerobia (Gujer y Zehnder, 1983). ....	9
Figura 6.1 Diagrama del procedimiento experimental. ....	27
Figura 6.2 Montaje del reactor metanogénico. ....	29
Figura 6.3 Montaje del reactor acidogénico. ....	30
Figura 6.4 Montaje del sistema acoplado en dos etapas en mesofilia. ....	31
Figura 6.5 Cromatógrafo de gases. ....	38
Figura 7.1 Índice alfa en el proceso en una etapa en mesofilia. ....	44
Figura 7.2 Acumulación de AGV en el proceso de una etapa en mesofilia. ....	45
Figura 7.3 Productividad de CH <sub>4</sub> en el proceso de una etapa en mesofilia. ....	47
Figura 7.4 Remoción de materia orgánica en el proceso de una etapa en mesofilia .....	47
Figura 7.5 Producción de AGV durante la aclimatación de microorganismos acidogénicos. ....	48
Figura 7.6 Producción de AGV del reactor acidogénico. ....	50
Figura 7.7 Índice alfa en el sistema en dos etapas en mesofilia. ....	51
Figura 7.8 Productividad de CH <sub>4</sub> del sistema en dos etapas en mesofilia. ....	53
Figura 7.9 Remoción de materia orgánica del sistema en dos etapas en mesofilia. .....	53
Figura 7.10 Producción de AGV del sistema acidogénico- metanogénico. ....	54
Figura 7.11 Resultados de la aclimatación de los microorganismos termofílicos. .	57
Figura 7.12 Índice alfa durante la aclimatación los microorganismos termofílicos.	58
Figura 7.13 Productividad de CH <sub>4</sub> en termofilia con 4.9 y 9.7 kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> .....	59
Figura 7.14 Índice alfa en termofilia con 4.9 y 9.9 kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> .....	60
Figura 7.15 Remoción de materia orgánica en termofilia con 4.9 y 9.9 kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> .....	60
Figura 7.16 Productividad e índice $\alpha$ con la carga de 30 kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> y 4 ciclos d <sup>-1</sup> . .....	63

Figura 7.17 Productividad e índice $\alpha$ con la carga de $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ y 8 ciclos $\text{d}^{-1}$ . .....	63
Figura 7.18 Productividad e índice $\alpha$ con la carga de $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ y 16 ciclos $\text{d}^{-1}$ . .....	64
Figura 7.19 Remoción de materia orgánica con la carga de $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ en termofilia.....	64
Figura 7.20 Producción neta de energía en los sistemas probados.....	68

## 1. Marco teórico

El consumo energético mundial ha incrementado tanto que en el 2015 fue de  $606 \times 10^{24}$  kilojoules (kJ) y se pronostica que en el 2040 será de  $776 \times 10^{24}$  kilojoules (kJ). El precio de los combustibles fósiles seguirá aumentando, por ejemplo, el precio del barril de petróleo en el 2019 fue de 57 dólares y en el 2040 podría ser de 226 dólares (EIA, 2020). Además, el uso de combustibles fósiles genera gases de efecto invernadero que aceleran el calentamiento global, ocasionando varios estragos como sequías, tormentas, inundaciones, enfermedades en humanos y pérdidas de flora y fauna (IRENA, 2019). Por lo tanto, conviene buscar alternativas sustentables que cubran la demanda energética como son los biocombustibles.

Los biocombustibles son combustibles sólidos, líquidos y gaseosos que se obtienen a partir de materia orgánica (Demirbas, 2008). Los biocombustibles gaseosos se componen principalmente por  $H_2$  y/o  $CH_4$ ; y se pueden producir mediante digestión anaerobia, que es un proceso en el que un consorcio de microorganismos degrada la materia orgánica en ausencia de oxígeno y producen biogás (Kadam et al., 2017).

La digestión anaerobia se puede realizar a partir de residuos forestales, agrícolas, agropecuarios, urbanos y agroindustriales (Horan et al., 2018). Entre los agroindustriales, se encuentran los efluentes vitivinícolas que son residuos líquidos que resultan de la producción de vino. La digestión anaerobia de estos efluentes se ha convertido en un tema de interés debido a que además de producir metano, permite dar tratamiento a estos residuos (Da Ros et al., 2017), el cual es necesario porque se generan en gran volumen (27 000 millones de litros, en el 2016) (OIV, 2017), tienen pH ácido y contienen altas cargas orgánicas (Bolzonella et al., 2019; Moletta, 2005).

Con la finalidad de aumentar la producción de metano, se han probado diversas estrategias, por ejemplo: cambios en la carga orgánica, en el tipo del reactor y en la temperatura; procesos de digestión en una y dos etapas, entre otras (Buitrón et al., 2019; Daffonchio et al., 1998; Da Ros et al., 2017; Ioannou et al., 2015); sin

embargo, falta probar un sistema de dos etapas en condiciones termofílicas, que es la finalidad de este trabajo experimental.

## **1.1 Producción de la industria vitivinícola**

El vino es una bebida alcohólica que se obtiene mediante la fermentación de la uva. Su proceso de elaboración puede variar en cada industria; sin embargo, las principales etapas son preparación, estrujado, fermentación alcohólica, fermentación maloláctica, crianza y embotellado. Las etapas se describen en la Figura 1.1 (Salgado, 2014).

La producción mundial de vino en el 2016 fue de 27 000 millones de litros (OIV, 2017). En México, desde los tiempos prehispánicos, se utilizaban frutas y miel para elaborar bebidas similares al vino; posteriormente llegaron plantaciones de vides europeas, con las que comenzó la producción vitivinícola, que después fue restringida y se retomó hasta 1920, a partir de ahí la calidad de los vinos mejoró. La producción en México aumentó tanto que en el 2016 fue de 40.4 millones de litros, generada por importantes estados vitivinícolas, entre ellos: Baja California, Querétaro, Aguascalientes, Coahuila, Chihuahua y Zacatecas; además, se exporta cerca del 25% de la producción (Font et al., 2008; OIV, 2017).

El aumento de la producción de vino ha contribuido a la emisión de gases de efecto invernadero como los compuestos orgánicos volátiles y el CO<sub>2</sub>. También ha aumentado la generación de residuos tales como pieles, lías (subproducto de la fermentación de la uva), tierra de diatomeas y arcilla. Además, ha generado grandes cantidades de residuos líquidos pues por cada litro de vino producido se generan de 2 a 6 litros de efluentes vitivinícolas (Da Ros et al., 2017). Como ejemplo, considerando la producción de vino en México en el 2017, se generaron aproximadamente 161 millones de litros de efluentes vitivinícolas.



**Figura 1.1** Proceso de elaboración del vino.

## 1.2 Características de los efluentes vitivinícolas

Los efluentes vitivinícolas son residuos líquidos que se generan en la producción de vino, durante las operaciones de lavado, prensado, lavado de tanques de fermentación y embotellado. Sus características pueden variar de acuerdo con los residuos de cada industria (Daffonchio et al., 1998; Serrano et al., 2011). Se componen principalmente por compuestos biodegradables y recalcitrantes como azúcares, polifenoles (taninos y antocianos), etanol, ésteres y ácidos orgánicos (primordialmente acético, tartárico y propiónico). Tienen alto contenido de materia orgánica y nutrientes, pH bajo (3.9-5.2) y niveles variables de conductividad que de acuerdo a Ioannou y colaboradores (2015) van de 1.1 a 5.6 dSm<sup>-1</sup>. Sus propiedades se observan en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Características de los efluentes vitivinícolas.

Parámetro	Buitrón et al., 2019	Mosse et al., 2011*	Malandra et al., 2003*
DQO (gL <sup>-1</sup> )	220	0.3-296	0.3-5.8
pH	3.5	3-12	3.9-5.2
Etanol (gL <sup>-1</sup> )	142	1-5	nd
Sólidos totales (gL <sup>-1</sup> )	153.9	1.6-79.6	nd
Sólidos suspendidos totales (gL <sup>-1</sup> )	129.6	0.7-54.9	nd
Ácido acético (gL <sup>-1</sup> )	4.4	0-0.7	0-0.7
Carbohidratos totales (gL <sup>-1</sup> )	49.7	0-13	nd
Ácido propiónico (gL <sup>-1</sup> )	1	0-0.07	0-0.07
Fenoles (gL <sup>-1</sup> )	0.08	nd	nd
Polifenoles totales (gL <sup>-1</sup> )	nd	0-1.5	0-0.3
Conductividad eléctrica (dSm <sup>-1</sup> )	nd	0.8-3.1	nd

nd= no determinado. \*Rango de valores de varias bodegas de vino.

### 1.3 Tratamiento de efluentes vitivinícolas

Los efluentes vitivinícolas, en escasos lugares son tratados por la industria que los genera. Usualmente son descargados al alcantarillado sin tratamiento, son colocados en lagunas de evaporación, o son utilizados como fertilizantes de suelo debido a su contenido de materia orgánica y nutrientes. Al ser desechados sin tratamiento y por un largo periodo de tiempo, pueden ocasionar problemas ambientales tales como la salinización de los suelos, contaminación de agua subterránea, inhibición de las semillas sembradas, y emisión de gases de efecto invernadero (Bueno et al., 2009; Cruz et al., 1991; Malandra et al., 2003). Por lo tanto, es necesario aplicarles tratamiento, el cual puede ser fisicoquímico (como ozonificación y photo-Fenton) (Benitez et al., 2003; Lofrano y Meric, 2015) sin embargo este tipo de tratamiento suele ser costoso, por lo que se ha optado por tratamiento biológico.

Los tratamientos biológicos (aerobios y anaerobios) son los más utilizados para efluentes vitivinícolas debido a que cerca del 80% de la DQO que contienen estos residuos, es materia fácilmente biodegradable (Beck et al., 2005) debiéndose principalmente a la presencia de azúcares y ácidos grasos. Además, estos procesos tienen alta eficiencia en remoción de la DQO (del 80 al 90%) (Andreottola et al., 2005; Beck et al., 2005).

#### 1.3.1 Sistemas aerobios

Los tratamientos aerobios para efluentes vitivinícolas se aplican porque son fáciles de operar y remueven gran parte de la materia orgánica; sin embargo, aumentan la huella de carbono y sus costos pueden ser altos debido a los requerimientos de oxígeno y energía (en promedio consumen 33 kW por m<sup>3</sup> de efluente vitivinícola tratado) (Bolzonella et al., 2019; Galazzo et al., 2004). En la Tabla 1.2 se mencionan las ventajas y desventajas de algunos sistemas aerobios.

**Tabla 1.2 Tratamientos aerobios para efluentes vitivinícolas.**

Tratamiento	Ventajas	Desventajas	Referencias
Lodos activados (LA)	Tiene costos de inversión bajos, es de fácil operación y puede remover hasta el 98% de la DQO.	Requiere de pretratamiento, aireación, agitación y mayor adición de nutrientes (N y P) que un proceso anaerobio. No puede tratar altas cargas orgánicas. Genera grandes volúmenes de lodos. Puede presentar problemas de bulking.	Arvanitoyannis et al., 2006; Benitez et al., 2003
Reactor discontinuo secuencial (SBR, por sus siglas en inglés)	Tiene alta remoción de materia orgánica (99%) y de nutrientes. Sus costos de inversión son bajos.	Su eficiencia disminuye con altas cargas orgánicas.	Arvanitoyannis et al., 2006; Torrijos y Mottela, 1997
Reactor biológico con membrana (MBR, por sus siglas en inglés)	Permite tratar mayores cargas orgánicas y genera menos lodos de purga que un proceso de LA. Genera un efluente de buena calidad.	Sus costos de inversión son altos y su consumo de energía es mayor que en un sistema de LA. La colmatación de membranas.	Andreottola et al., 2009
Reactores con biopelículas	Su generación de lodos es menor que en un tratamiento de LA. Sus costos de inversión son bajos. Evitan el bulking.	Su inversión económica es mayor que en un sistema de LA. El influente requiere de pretratamiento para evitar atascos en la biomasa.	Andreottola et al., 2009

### 1.3.2 Sistemas anaerobios

Los sistemas anaerobios para el tratamiento de efluentes vitivinícolas son convenientes debido a que son menos costosos que los aerobios y no requieren de la adición de oxígeno. Además, sus requerimientos de nutrientes son bajos, no generan altos volúmenes de lodos y producen biogás que puede ser aprovechado. Adicionalmente, tienen alta eficiencia para remover DQO (de 67 a 97%) y toleran altas cargas orgánicas (Andreottola et al., 2005).

La digestión anaerobia consiste en la degradación biológica de materia orgánica, en condiciones anóxicas, para producir biogás. Puede reducir el uso de combustibles fósiles. Requiere de cortos tiempos de retención hidráulica y su efluente podría utilizarse como fertilizante (Bond y Templeton, 2011; Varnero, 2011).

Los microorganismos que llevan a cabo la digestión anaerobia pueden estar suspendidos o como biopelículas fijas o móviles. La biomasa suspendida generalmente se utiliza cuando el contenido de sólidos suspendidos en el efluente es alto. Algunos digestores anaerobios con biomasa suspendida son reactores de contacto anaerobio, tanques con agitación continua (CSTR) y lagunas anaerobias. Entre los digestores que utilizan biopelículas se encuentran los reactores anaerobios de lecho de flujo ascendente (UASB), filtros anaerobios de flujo descendente, digestores híbridos (filtros anaerobios y cama de lodos), reactores de lecho fluidizado y reactores discontinuos secuenciales anaerobios (AnSBR) (Doran, 1995). En la Tabla 1.3 se describen las ventajas y desventajas de algunos tratamientos anaerobios.

La digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas, comparada con un proceso biológico aerobio, es mejor porque reduce la carga orgánica y elimina patógenos, sin necesidad de aireación. Además, produce biogás y el proceso es eficiente, por ejemplo, utilizando un reactor de lecho anaerobio de flujo ascendente (UASB), la eficiencia de remoción de la DQO es del 65 al 95%, la producción de biogás oscila

entre 400 y 600 L por kilogramo de DQO consumido y el porcentaje de metano en el biogás es del 60 al 80% (Moletta, 2005).

**Tabla 1.3 Tratamientos anaerobios para efluentes vitivinícolas.**

Configuración	Ventajas	Desventajas	Referencias
UASB	Puede tener TRH cortos, por lo que ocupa poco espacio. Tiene eficiencias para remover DQO del 80 al 98% y genera pocos lodos.	Requiere de un pretratamiento para remover sólidos y de un postratamiento para remover DQO.	Moletta, 2005
SBR	Puede trabajar con caudales variables y el proceso puede automatizarse.	Requiere de constante monitoreo para su adecuada operación.	Andreottola et al., 2009
MBR	Tiene alta eficiencia en la remoción de materia orgánica (hasta del 97%).	Las membranas pueden ser costosas. Colmatación de membranas.	Bolzonella et al., 2010
Biofiltro	Puede tratar altas cargas orgánicas, con una eficiencia de remoción de materia orgánica de 80 a 98%. Produce pocos lodos.	Puede presentar problemas de taponamiento.	Moletta, 2005
Reactor anaerobio de lecho fluidizado (AnFBR)	Tiene eficiencias de remoción de materia orgánica hasta de 91%.	Para mover al fluido, requiere de altas velocidades. La remoción de materia orgánica disminuye con altas cargas orgánicas.	Moletta, 2005
CSTR en dos etapas (acidogénica-metanogénica)	Tolera alto contenido de DQO ( $220\text{gL}^{-1}$ ). Favorece la producción de ácido acético y de $\text{CH}_4$ . Remueve 97% de DQO.	Mayor complejidad técnica y mayores costos de inversión y operación que en una etapa.	Buitrón et al., 2019

## 1.4 Fundamentos de la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico degradativo en ausencia de oxígeno donde un consorcio de microorganismos transforma la materia orgánica en biogás (principalmente CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>) (Nishimura et al., 1972). Se divide en cuatro principales etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis e implica diversos procesos bioquímicos que se llevan a cabo gracias a la presencia de diferentes microorganismos como se observa en la Figura 1.2.

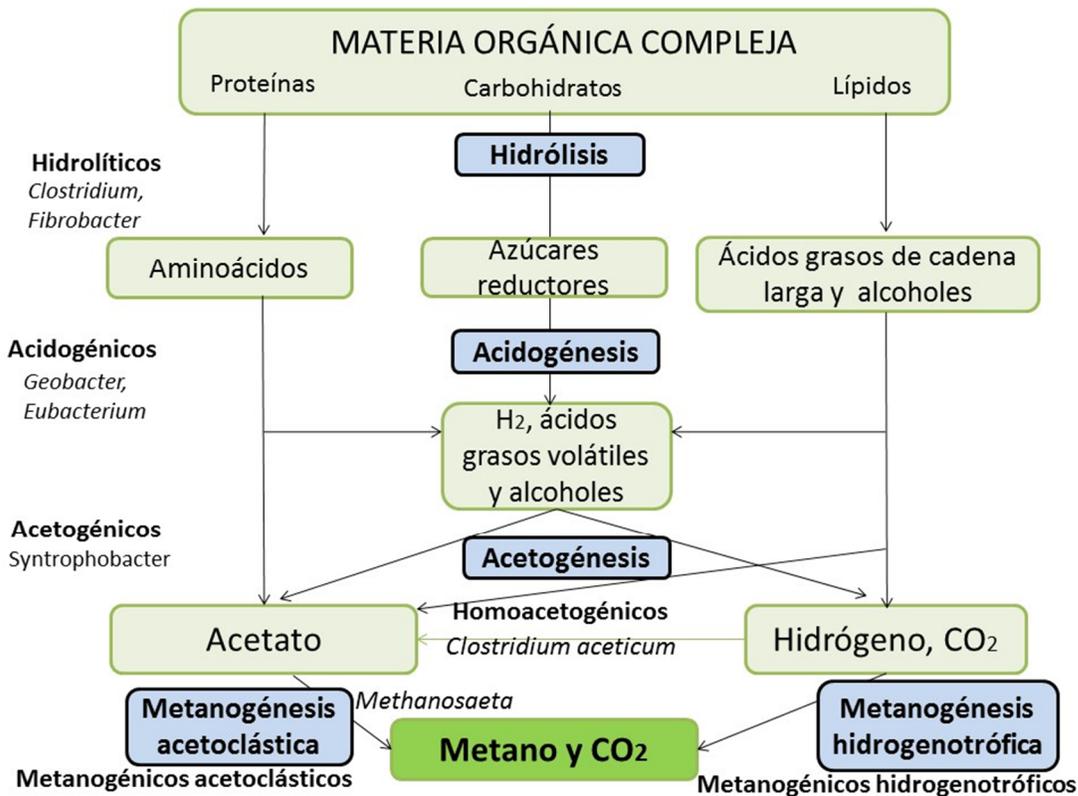


Figura 1.2 Etapas de la digestión anaerobia (Gujer y Zehnder, 1983).

**Hidrólisis:** Es la transformación de macromoléculas (proteínas, carbohidratos y lípidos) en sus respectivos monómeros: aminoácidos, azúcares reductores (monosacáridos), ácidos grasos de cadena larga y alcoholes, respectivamente. Se lleva a cabo por enzimas extracelulares provenientes de microorganismos hidrolíticos como son las bacterias pertenecientes a los géneros *Bacteroides*, *Clostridium*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Cellulomonas*, *Microbispor*, *Succinivibrio*, *Prevotella*, *Ruminococcus* y *Fibrobacter* (Guo et al., 2015; Zhen et al., 2017).

Las proteínas, gracias a la actividad de las enzimas proteasas son convertidas en aminoácidos y péptidos. Los carbohidratos implican polímeros de hexosas (celulosa, almidón), pentosas (hemicelulosa) o ácidos urónicos (pectinas), entre otros; que son transformados en azúcares reductores gracias a la acción de enzimas como celulasas, amilasas, xilanasas y pectinasas. Los triacilglicéridos (lípidos) por medio de enzimas conocidas como lipasas son convertidos en ácidos grasos de cadena larga y glicerol (Varnero, 2011).

Esta etapa puede ser considerada la fase limitante del proceso debido a que la materia orgánica particulada es difícil de degradar, lo que ocasiona tiempos de retención largos y bajas productividades de metano; por lo que varios trabajos se han enfocado en acelerar esta etapa, por ejemplo dando pretratamiento a los sustratos como es la hidrólisis térmica, donde se utilizan altas temperaturas para romper la composición celular de la materia orgánica y facilitar la hidrólisis (Zhen et al., 2017).

**Acidogénesis:** Se lleva a cabo por bacterias acidogénicas o fermentativas como *Geobacter*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*, *Phodopseudomonas*, *Desulfovibrio*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Desulfobacter*, *Clostridium* y *Sarcina*. Los microorganismos utilizan los compuestos solubles para producir H<sub>2</sub>, ácidos grasos volátiles (ácido acético, propiónico, butírico, valérico y láctico) y etanol, que posteriormente son aprovechados por otras bacterias (Varnero, 2011; Zhen et al., 2017). Las reacciones que se llevarían a cabo en esta etapa si el sustrato fuese glucosa, son las que se muestran en las Ecuaciones 1.3 y 1.4 (Mosey, 1983):



**Acetogénesis:** ocurre cuando los ácidos grasos volátiles, el etanol y algunos compuestos aromáticos por acción de bacterias como *Syntrophomonas*, *Syntrophobacter*, *Syntrophus*, *Pelotomaculum* y *Syntrophothermus* son transformados en acetato, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. En este proceso de igual forma intervienen bacterias homoacetogénicas que consumen equivalentes de hidrógeno para

producir acetato, por ejemplo, *Acetobacterium woodii* o *Clostridium aceticum* (Bryant et al., 1967; Guo et al., 2015; Varnero, 2011). Las bacterias participantes en esta etapa son de lento crecimiento, tienen tiempos de duplicación de 1.5 a 4 días en cultivos de enriquecimiento. Ejemplo de las reacciones involucradas en esta fase son las siguientes (Bryant et al., 1967; Mosey, 1983):



**Metanogénesis:** es la etapa en la que el ácido acético,  $\text{H}_2$  y  $\text{CO}_2$  producidos en la acetogénesis son transformados por arqueas metanogénicas en metano, que es el producto final de la digestión anaerobia. El 70% de la producción de metano se obtiene a partir de la transformación del acetato mediante microorganismos del género *Methanosaeta* (sólo utiliza acetato como fuente de energía), *Methanosarcina* (pueden utilizar acetato,  $\text{CO}_2$  o  $\text{H}_2$  como fuente de carbono y energía) y *Methanothrix* (sólo utiliza acetato como fuente de energía). Las ordenes taxonómicas de los microorganismos involucrados en esta etapa son: *Methanococcales*, *Methanobacterales*, *Methanopyrales* y *Methanomicrobiales*.

También en la metanogénesis participan microorganismos como *Methanobacillus omelianskii* que degradan etanol y pueden producir  $\text{H}_2$  y  $\text{CH}_4$ . Las arqueas que consumen  $\text{H}_2/\text{CO}_2$  para producir metano, como se observa en la Ecuación 1.9, se conocen como hidrogenotróficas, sus tiempos de duplicación mínimos son de 6 horas, mantienen el equilibrio del hidrógeno y regulan la formación de ácidos volátiles. Las arqueas que utilizan acetato, metanol y metilaminas, se llaman metanogénicas acetoclásticas, tienen tiempos de duplicación de 2 a 3 días, son las que contribuyen en el control de pH transformando al ácido acético y produciendo  $\text{CO}_2$ , como se aprecia en la ecuación 1.91 (Raskin et al., 1994; Varnero, 2011):



## 1.5 Parámetros operacionales de un reactor anaerobio

El funcionamiento adecuado de la digestión anaerobia depende de varios factores que controlan el desempeño de los microorganismos involucrados, entre los principales están pH, alcalinidad y nutrientes (Pérez et al., 2008).

### 1.5.1 pH

El pH de los reactores de digestión anaerobia puede estar entre 6.5 y 8. Si se requiere favorecer el crecimiento de microorganismos específicos de cada etapa, es importante considerar que los microorganismos acidogénicos requieren un pH entre 5.5 y 6.5 y los metanogénicos entre 7.5 y 8.2 (en el caso de las arqueas termofílicas el pH para su óptimo crecimiento va de 5 a 7) (Moletta, 2005; Singh, 2012; Varnero, 2011). En un reactor metanogénico con pH menor a 6.5 la producción de metano disminuye y con pH igual o menor a 5.5, la producción de metano es nula debido a que el pH bajo, inhibe a los microorganismos y ocasiona la acumulación de ácido acético y  $\text{H}_2$ . Además, con pH bajo, el ácido acético se presenta en su forma no ionizada e inhibe al consorcio anaerobio. En un reactor con pH alto, se puede elevar la concentración de amoníaco llegando a inhibir el crecimiento microbiano (Varnero, 2011).

### 1.5.2 Alcalinidad

La concentración de AGV permite identificar principios de acidificación en el reactor. Durante el arranque del proceso, las bacterias acidogénicas actúan, lo que ocasiona que la concentración de AGV sea mayor en el efluente que en el influente. Cuando las bacterias metanogénicas aumentan su tasa de producción de metano, la concentración de AGV en el efluente disminuye, pudiendo ser menor que la del influente (López et al., 2000).

La acumulación de AGV puede afectar el pH y la capacidad buffer del reactor. Por lo tanto, debe mantenerse el equilibrio entre la generación de ácidos y el consumo de los mismos, pues factores como altas cargas orgánicas, temperatura y/o

agentes inhibitorios podrían acidificar al sistema ocasionando la muerte de los microorganismos (Ahring et al., 1995).

Para evitar acidificación, se pueden agregar compuestos que generan alcalinidad bicarbonática de manera directa como son bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) y bicarbonato de amonio ( $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ ), o bien se pueden añadir compuestos que reaccionan con el  $\text{CO}_2$  y forman alcalinidad bicarbonática, por ejemplo hidróxido de sodio ( $\text{NaOH}$ ), óxido de calcio ( $\text{CaO}$ ) e hidróxido de calcio ( $\text{Ca(OH)}_2$ ) (Chernicharo, 1997).

La alcalinidad es la capacidad amortiguadora de un medio acuoso como puede ser un reactor anaerobio y se obtiene titulando la muestra con  $\text{HCl}$  0.1 M. La alcalinidad bicarbonática o alcalinidad parcial (AP) corresponde al volumen gastado para llegar a un pH de 5.75 y la alcalinidad debida a los AGV o alcalinidad intermedia (AI) equivale al volumen empleado para pasar de pH 5.75 a 4.3; la alcalinidad total (AT) es la suma de las anteriores (Jenkins et al., 1983). La relación entre estos valores, se utiliza para el cálculo de los índices de alcalinidad que son alfa ( $\alpha$ ) e índice AI/AP y permiten monitorear la acidificación en un digestor.

El índice alfa ( $\alpha = \text{AI}/\text{AT}$ ) relaciona la alcalinidad debida a los AGV con la alcalinidad total y su valor debe ser cercano a 0.2 y máximo de 0.4. Se calcula utilizando la siguiente fórmula (Rojas, 1987):

$$\alpha = \text{AI}/\text{AT} = (\text{alc } 4.3 - \text{alc } 5.75) / \text{alc } 4.3$$

El índice AI/AP que representa la relación entre la alcalinidad debida a los AGV y la alcalinidad bicarbonática debe mantenerse con valores menores a 0.3, porque valores más altos indicarían desequilibrio del proceso (Ripley et al., 1986).

### 1.5.3 Nutrientes

Los nutrientes (N, P, entre otros) que utilizan los microorganismos para transformar la materia orgánica en metano son esenciales pues si se carece de ellos, la actividad enzimática se puede inhibir. El carbono es la principal fuente de

carbono y energía de los metanogénicos y junto con el nitrógeno son utilizados para reproducción celular. La relación óptima entre C/N es 30:1, con relaciones de 35:1, el nitrógeno es bajo y la multiplicación de bacterias también y con relaciones de 8:1 se puede formar amonio en exceso inhibiendo la actividad de los microorganismos (Varnero, 2011). Concentraciones de nitrógeno amoniacal mayores a  $1500 \text{ mgL}^{-1}$  pueden inhibir la actividad metanogénica con pH altos y mayores a  $3000 \text{ mgL}^{-1}$  son tóxicas independientemente del pH (McCarty, 1964). El fósforo también es un elemento importante y la relación óptima entre N: P es de 5:1. La presencia de metales traza (níquel, hierro, tungsteno, boro, molibdeno, selenio, cobalto, zinc, cobre, manganeso, calcio y magnesio) puede mejorar la producción de biogás (Varnero, 2011).

## 1.6 Biogás

La digestión anaerobia además de reducir la concentración de materia orgánica genera biogás, que puede aprovecharse como biocombustible gaseoso. La composición del biogás producido depende del sustrato utilizado pero va del 50 al 80% de  $\text{CH}_4$  y del 15 al 50% de  $\text{CO}_2$ , también puede contener otros componentes como los que se aprecian en la Tabla 1.4 (Petersson, 2013).

El aprovechamiento de biogás ha adquirido importancia y actualmente a nivel internacional existen 400 plantas industriales enfocadas en su purificación (Hoyer et al., 2016) con el objetivo de disminuir la concentración de  $\text{CO}_2$  y/o  $\text{H}_2\text{S}$ , para poder utilizarlo como biocombustible, pues en caso contrario, puede ocasionar problemas mecánicos y/o de corrosión en los equipos donde es utilizado (Petersson, 2013; Persson y Wellinger, 2006). En algunos países europeos recomiendan que el biogás contenga al menos 96% de  $\text{CH}_4$  para ser aprovechado (Huguen y Le Saux, 2010).

**Tabla 1.4 Composición del biogás.**

<b>Componente</b>	<b>Valor</b>
Metano (%)	50-80
Dióxido de carbono (%)	15-50
Amoníaco (mg/m <sup>3</sup> )	0-100
Ácido sulfhídrico (mg/m <sup>3</sup> )	100-10000

El metano que se genera en la digestión anaerobia produce energía almacenable y se puede aprovechar como combustible para vehículos o calderas, o como gas de síntesis en la industria química o para producir electricidad, vapor y calefacción. El uso de este biocombustible reduce el consumo de petróleo, gas natural, madera y otros combustibles fósiles; por lo tanto, representa una alternativa sustentable para obtener energía con menor impacto ambiental (Enzmann et al., 2018).

La producción de metano mediante digestión anaerobia, no sólo se ha experimentado a nivel laboratorio, sino que se ha aplicado a nivel rural, urbano e industrial, inclusive en el mundo ya se encuentran en operación 480 plantas de biometanización, entre los países que cuentan con estas plantas están Alemania, Reino Unido y Suecia (IEA, 2017). En lugares como China, Kenia e India, se han probado plantas domésticas de biogás de hasta 10 m<sup>3</sup>, que utilizan residuos orgánicos o heces para producir biogás que es aprovechado para calentar, cocinar o producir electricidad (Bond y Templeton, 2011; Sovacool et al., 2015). En Brasil evaluaron la producción de energía eléctrica con biogás obtenido de la digestión anaerobia de vinazas de caña de azúcar y concluyeron que la producción energética por este medio es económicamente viable (Nogueira et al., 2015).

### **1.7 Digestión anaerobia en dos etapas**

La digestión anaerobia se puede llevar a cabo en un único reactor, donde ocurren todas las etapas del proceso (hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis); sin embargo, los AGV tienden a acumularse ocasionando problemas de estabilidad, situación que se puede controlar empleando un proceso

de dos etapas, que además de que evita la acumulación de AGV, permite tratar mayores cargas orgánicas (Lindner et al., 2016; Demiler y Yenigün, 2002).

El proceso anaerobio se puede separar en dos reactores quedando en dos etapas: acidogénica y metanogénica. Esta configuración, puede aumentar la eficiencia en la producción de biogás debido a que, al ser dos etapas, la producción de ácidos de la etapa acidogénica no inhibe la actividad de las bacterias metanogénicas. Además, al ser etapas separadas, se pueden tener las condiciones óptimas (temperatura, sustrato, tiempo de retención celular, pH y nutrientes) para cada los microorganismos acidogénicos y metanogénicos (Demiler y Yenigün, 2002; Ghosh et al., 1995; Zhong, et al., 2015). Por ejemplo los microorganismos acidogénicos crecen más rápido que los metanogénicos pues alimentados con glucosa su velocidad específica máxima de crecimiento ( $\mu_{max}$ ) es  $1.3 \text{ h}^{-1}$  (Ghosh y Pohland, 1974) mientras que para los metanogénicos resultó de  $0.4$  a  $0.7 \text{ d}^{-1}$  (Massey y Pohland, 1978).

La digestión anaerobia en dos etapas puede reducir el volumen de reactor y en consecuencia los costos operativos. Asimismo, las cargas orgánicas a tratar pueden ser más altas y con ello se puede aumentar la producción de energía llegando a ser mayor a la obtenida con la configuración en una etapa (Buitrón et al., 2019; Lindner et al., 2016).

Los microorganismos acidogénicos y metanogénicos, pueden estar en las dos etapas de la digestión; sin embargo, en reactores acidogénicos abundan más bacterias del filo Firmicutes y clostridiales; y en los metanogénicos abundan en mayor proporción arqueas como *Methanobacteriales* y *Methanosaeta*; por lo tanto, al estar en etapas separadas se puede favorecer la cinética microbiana para elevar la producción de acetato en el reactor acidogénico y de biogás en la etapa metanogénica (Zahedi et al., 2016; Zhao et al., 2017).

Shan-Fei y colaboradores (2017) realizaron la digestión en una y en dos etapas. Ocuparon vinazas de licor como sustrato, observaron que en el proceso de dos etapas, el rendimiento acumulado de metano es 10.8% más alto que el obtenido

en una etapa, la fase de adaptación fue 9.1 días menos que en el proceso de una etapa. Concluyeron que la digestión en dos etapas es más eficiente que en una.

## 1.8 Digestión anaerobia en termofilia

La temperatura influye en el crecimiento microbiano, cada microorganismo tiene sus rangos de temperatura (mínima, óptima y máxima) (Huang et al., 2011). En la mínima, el crecimiento es limitado debido a la lentitud del metabolismo. En la óptima, la tasa de crecimiento incrementa debido a que las reacciones enzimáticas aumentan su velocidad (se ha encontrado que la velocidad de éstas se duplica por cada incremento de 10°C) (Lagrange, 1979; Varnero, 2011). En la máxima, la temperatura puede afectar a las proteínas y alterar las membranas lípidas inhibiendo el crecimiento microbiano (Engqvist, 2018; Ludlow y Clark, 1991).

Las temperaturas óptimas que se pueden utilizar en el proceso de digestión anaerobia pueden ser psicofílica (5 a 25 °C), mesofílica (25 a 45 °C) o termofílica (50 a 70 °C) (Engqvist, 2018; Lagrange, 1979; Ludlow y Clark, 1991). La temperatura termofílica es útil para reactores en una o dos etapas. En la fase hidrolítica la alta temperatura acelera el proceso de degradación de la materia orgánica (Varnero, 2011); sin embargo, los microorganismos acidogénicos se desarrollan mejor con temperaturas de 20 a 35 °C y los metanogénicos con temperaturas de 30 a 55 °C (Itoh y Lino, 2013).

La resistencia de los microorganismos termofílicos a altas temperaturas se debe a la composición de su membrana celular que contiene más ácidos grasos saturados que otros microorganismos no termofílicos, y está constituida por lípidos de éter que forman una capa que impide el paso de iones y protones y le brinda termoestabilidad (Singh, 2012).

Las arqueas tienen mayor velocidad de crecimiento con temperaturas altas, incluso algunas pueden desarrollarse a 60°C como *Methanothermococcus sp.*, *Methanothermobacter sp.*, y *Methanobacterium sp.* El límite de temperatura para que se lleve a cabo la metanogénesis acetoclástica es de 70°C; sin embargo, con altas temperaturas se podría favorecer la metanogénesis hidrogenotrófica. Las

arqueas termofílicas metanogénicas pertenecen al filo del filum Euryarchaeota y se muestran en la Tabla 1.5 junto con los rangos de temperatura y pH que requieren para su óptimo crecimiento (Itoh y Lino, 2013). Se ha observado que las principales productoras de biogás en termofilia son del orden Methanomicrobiales (géneros *Methanoculleus* y *Methanothermobacter*) y Methanosarcinales (*Methanosaeta* es un género abundante en reactores termofílicos) (Madigou et al., 2019; Tian et al., 2015).

**Tabla 1.5 Microorganismos metanogénicos termofílicos.**

Orden	Género	Rango de temperatura (°C)	Temperatura óptima (°C)	pH óptimo
<i>Metanobacterales</i>	<i>Methanothermus</i>	80-97	83-88	6.5
	<i>Methanothermobacter</i>	37-75	55-70	7.0-8.0
<i>Methanococcales</i>	<i>Methanothermococcus</i>	17-75	60-65	5.1-7.0
	<i>Methanocaldococcus</i>	48-92	80-85	6.0-6.5
	<i>Methanotorris</i>	45-91	75-88	5.7-6.7
<i>Methanomicrobiales</i>	<i>Methanoculleus</i>	37-65	55	7.0
	<i>Methanolinea</i>	35-55	50	7.0
<i>Methanosarcinales</i>	<i>Methanosarcina</i>	55-65	55	6.0-7.0
	<i>Methanomethylovorans</i>	42-58	50	6.5
	<i>Methanosaeta</i>	30-70	55-65	6.7
	<i>Methermicoccus</i>	50-70	65	6.0-6.5
<i>Methanopyrales</i>	<i>Methanopyrus</i>	84-122	98-105	6.3-6.6

La digestión anaerobia en condiciones termofílicas es conveniente porque con el incremento de la temperatura, aumenta la velocidad de crecimiento de los microorganismos (que es de 27 a 60% más alta en termofilia que en mesofilia), tal y como se observa en la Tabla 1.6 (Lier, 1995).

**Tabla 1.6 Tasas de crecimiento de microorganismos metanogénicos.**

Sustrato	Género	Mesofilia	Termofilia
		$\mu_{\max}$ (d <sup>-1</sup> )	$\mu_{\max}$ (d <sup>-1</sup> )
H <sub>2</sub> /CO <sub>2</sub>	<i>Methanobacterium</i>	0.3	4.8-16.6
	<i>Methanococcus</i>	2.2-5.5	18.2-51.1
Formato	<i>Methanobacterium</i>	1.4-1.9	13.4
Acetato	<i>Methanothrix</i>	0.1-0.2	0.5-0.7
	<i>Methanosarcina</i>	0.2-0.7	1.3-2

\*Valores de varios trabajos recopilados por Lier, 1995.

La temperatura termofílica puede elevar la solubilidad del sustrato, acelera las reacciones bioquímicas, la tasa de hidrólisis y la producción de biogás (Da Ros et al., 2017; Niu et al., 2014). También decrece la viscosidad de sólidos y líquidos por lo que requiere menos agitación, se elimina patógenos presentes en el sustrato, incrementa la degradación de materia orgánica y se trabaja con mayores cargas orgánicas, disminuyendo los tiempos de retención hidráulica (llegando a ser la mitad del tiempo requerido en mesofilia) y en consecuencia el volumen de los reactores y los costos de inversión (Burh y Andrews, 1976).

En condiciones termofílicas se requiere de menos nutrientes, se reduce la solubilidad de los gases lo cual beneficia porque la presencia de NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S en el líquido es menor y menos tóxica para los microorganismos, pero se disminuye la solubilidad del CO<sub>2</sub> lo que puede elevar el pH (Varnero, 2011).

Al aumentar la temperatura, se reduce la diversidad de microorganismos; se aumenta la desnaturalización de proteínas; se aumenta el requerimiento de metales traza; se elevan los costos por calefacción; se puede contribuir a la acumulación de alcohol. De igual forma, se incrementa la susceptibilidad del sistema a cambios de pH, debido a que se favorece la formación de compuestos inhibitorios como son las formas no ionizadas de AGV y amoníaco, disminuyendo

la capacidad buffer del sistema y contribuyendo a la acumulación de AGV, principalmente ácido propiónico (Niu et al., 2014; Varnero, 2011).

La temperatura termofílica también puede reducir el tamaño promedio de los lodos granulares debido a que con temperaturas mayores a 42 °C, los microorganismos reducen su producción de sustancias poliméricas extracelulares que son las que unen a los gránulos; sin embargo, este factor no influye en la producción de metano (Figuroa-González et al., 2018; Veiga et al., 1997).

El proceso de aclimatación para llevar a cabo la digestión anaerobia en termofilia, puede ser aumentando la temperatura de forma gradual o de un solo paso. Al incrementar la temperatura de forma gradual, se permite que mayor variedad de microorganismos se adapten al cambio. Al elevar la temperatura en un solo paso, se mejora el potencial metanogénico del sustrato y se reduce el tiempo de adaptación de los microorganismos, pero puede incrementar la producción de hidrógeno y de AGV (Bouskova et al., 2005; Figuroa-González et al., 2018; Griffin et., 1998; Madigou et al., 2019).

El aumento de la temperatura para elevar la productividad de metano, se ha convertido en un parámetro de interés para diversos trabajos. Cea-Barcia y colaboradores (2015) evaluaron la digestión anaerobia en mesofilia y termofilia utilizando microalgas como sustrato y observaron que la producción máxima de metano aumentó al elevar la temperatura, siendo de 207 LCH<sub>4</sub>kgSV<sup>-1</sup> en mesofilia y de 390 LCH<sub>4</sub>kgSV<sup>-1</sup> en termofilia.

Rincón y colaboradores (2010) probaron tanto en mesofilia (37 °C) como en termofilia (55 °C) el tratamiento de lodos provenientes de una industria cervecera en un tanque anaerobio de crecimiento suspendido agitado con flujo discontinuo; observaron que la concentración de metano fue aproximadamente de 60% en ambas condiciones y que la producción máxima de biogás en mesofilia fue de 0.6 L de biogás y en termofilia de 1 L de biogás; concluyeron que la remoción de materia orgánica en mesofilia llegó a 32% mientras que en termofilia llegó hasta

59% y el porcentaje de remoción máximo de ST en mesofilia fue de 11 % y en termofilia de 32%.

Streitwieser (2017) utilizó un reactor CSTR y una mezcla de frutos como sustrato para confirmar que la velocidad de degradación y la producción de metano aumentan al incrementar la temperatura, además el contenido de metano en mesofilia fue de 64% y en termofilia resultó de 72%.

### 1.9 Digestión anaerobia en dos etapas y en termofilia

La producción de biocombustibles a partir de la digestión anaerobia, puede mejorarse al utilizar la digestión en dos etapas en termofilia o si se utiliza un reactor acidogénico en mesofilia, seguido de uno metanogénico en termofilia. Kim y colaboradores (2002) utilizaron alimento para perro como sustrato en reactores CSTR para comparar la eficiencia de la digestión anaerobia en una sola etapa con la de dos etapas, tanto en mesofilia como en termofilia y concluyeron que la configuración en dos fases en condiciones termofílicas presentó mejor rendimiento, sus resultados se presentan en la Tabla 1.7.

**Tabla 1.7 Rendimiento de biogás obtenido por Kim y colaboradores (2002).**

Rendimiento (L biogás*kgSV <sup>-1</sup> )	Mesofilia	Termofilia
En una etapa	482	461
En dos etapas	531	607

Djalma y colaboradores (2016) utilizaron vinazas de caña de azúcar para comparar el rendimiento de un reactor metanogénico de una sola etapa con un sistema de dos etapas en termofilia y confirmaron que el rendimiento energético aumentó 26% con el proceso de dos etapas, pues obtuvieron 234.2 LCH<sub>4</sub>kgDQO<sup>-1</sup> en una etapa y 306 LCH<sub>4</sub>kgDQO<sup>-1</sup> en dos etapas.

Bassani y colaboradores (2015) aplicaron la inyección de hidrógeno y la digestión en dos etapas para producir metano a través de estiércol de ganado, ocuparon como digester acidogénico un CSTR y como metanogénico hidrogenotrófico un UASB, probaron condiciones mesofílicas y termofílicas para confirmar que en termofilia, la eficiencia de producción de metano es mayor, pues en mesofilia resultó de  $0.11 \text{ LbiogásL}^{-1}\text{d}^{-1}$  mientras que en termofilia obtuvieron  $0.39 \text{ LbiogásL}^{-1}\text{d}^{-1}$ .

Barros y colaboradores (2017) evaluaron la producción de metano utilizando reactores UASB termofílicos conectados en serie en dos etapas; utilizaron vinazas de caña de azúcar como sustrato y una torta de filtro como fuente de nutrientes; confirmaron que la producción máxima de metano fue de  $4 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  con una carga de  $45 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ; concluyeron que el proceso en 2 etapas, la implementación de la torta de filtro y la recirculación de efluente favorecieron la producción de metano.

## 2. Antecedentes

La necesidad energética y el manejo apropiado de residuos vitivinícolas han llevado a la elaboración de estudios para producir metano mediante digestión anaerobia usando efluentes vitivinícolas como sustrato. Este proceso ha sido de interés a nivel mundial porque contribuye a la generación de energía renovable y reduce los impactos de esos residuos en el ambiente. Por lo tanto, se ha trabajado en aumentar el rendimiento de metano utilizando varios métodos entre ellos variaciones de temperaturas (de mesofilia a termofilia) y digestión en dos etapas (acidogénica y metanogénica); algunos trabajos relacionados con la digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas y sus aportaciones se aprecian en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1 Trabajos sobre digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas**

Lugar	Estudio	Carga orgánica (kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	Resultados	Referencia
México	Trataron efluentes vitivinícolas en un sistema de dos etapas Con reactores CSTR. En mesofilia (35°C).	26.6	Obtuvieron 5.5 LCH <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> y 326 LCH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> .	Buitrón et al., 2019
Italia	Utilizaron lías vitivinícolas y lodos de aguas residuales. Emplearon dos reactores CSTR en mesofilia (37°C) y termofilia (55°C).	3.2	La producción estimada de CH <sub>4</sub> que obtuvieron en mesofilia fue de 264 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> y 0.8 LCH <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> . Y en termofilia de 279 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> y 0.9 LCH <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> .	Da Ros et al., 2017
Túnez	Trataron efluentes vitivinícolas en un reactor anaerobio de biopelícula con tallos de las uvas como soporte. En mesofilia (35°C).	25	La producción más alta de metano fue de 350 m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> y 7.2 LCH <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> .	Wahab et al., 2016
China	Trabajaron con efluentes vitivinícolas. A temperatura ambiente (cerca de 26°C).	9.02	Alcanzaron una producción máxima de 1.6 LCH <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> .	Yang et al., 2011
Italia	Trabajaron con efluentes vitivinícolas en un reactor UASB.	4	Con efluentes de vino blanco obtuvieron un rendimiento de hasta 350 LCH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> . Y con efluentes de vino tinto de 240 LCH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> .	Daffonchio et al., 1998

### **3. Justificación**

La producción de vino genera altos volúmenes de efluentes vitivinícolas, que se caracterizan por tener un alto contenido de materia orgánica, nutrientes y un pH ácido; estos efluentes requieren tratamiento pues de lo contrario pueden resultar nocivos para el ecosistema que los recibe, generando acidificación o eutrofización en aguas y/o problemas de salinidad en suelos. La digestión anaerobia es una alternativa atractiva para el tratamiento de estos efluentes porque reduce su toxicidad ambiental y genera biogás que puede ser aprovechado energéticamente.

Recientemente se demostró que la digestión de efluentes vitivinícolas en procesos de dos etapas es una tecnología adecuada para su tratamiento. Sin embargo, este proceso se podría mejorar con los procesos en termofilia, que hasta ahora no se han probado. Por lo tanto, el reto actual está en combinar estas estrategias y evaluar si esta combinación es realmente factible. Por un lado, el proceso en dos etapas será más robusto que un proceso en una etapa, porque genera las condiciones óptimas para microorganismos acidogénicos y metanogénicos de forma independiente, con lo cual se podrán superar los problemas de acidificación de sistemas de una etapa. Por otro lado, en termofilia se incrementará la velocidad de las reacciones enzimáticas y en consecuencia la velocidad y productividad del proceso. Finalmente, un balance energético servirá para evaluar la eficiencia del proceso y su viabilidad a mayor escala.

### **4. Hipótesis**

El aumento de temperatura acelera las reacciones enzimáticas, por lo tanto, un sistema de digestión anaerobia para tratar efluentes vitivinícolas en termofilia logrará mayor productividad que un proceso en mesofilia.

## 5. Objetivos

### 5.1 Objetivo general

Evaluar la influencia de la temperatura en un sistema anaerobio de dos etapas para el tratamiento de efluentes vitivinícolas.

### 5.2 Objetivos específicos

- Implementar un proceso de digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas en dos etapas (acidogénica-metanogénica).
- Determinar la influencia de la temperatura (termofilia) y la carga orgánica en el sistema de dos etapas (acidogénesis en mesofilia y metanogénesis en termofilia) sobre la remoción de materia orgánica y la producción de metano.
- Evaluar con datos de la literatura y con los obtenidos en esta tesis el consumo energético de los procesos de digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas trabajando en mesofilia en una y dos etapas y operando al reactor acidogénico en mesofilia y al metanogénico en termofilia.

## 6. Metodología

El proceso experimental que se llevó a cabo para cumplir los objetivos de este proyecto de investigación, se aprecia en la Figura 6.1.

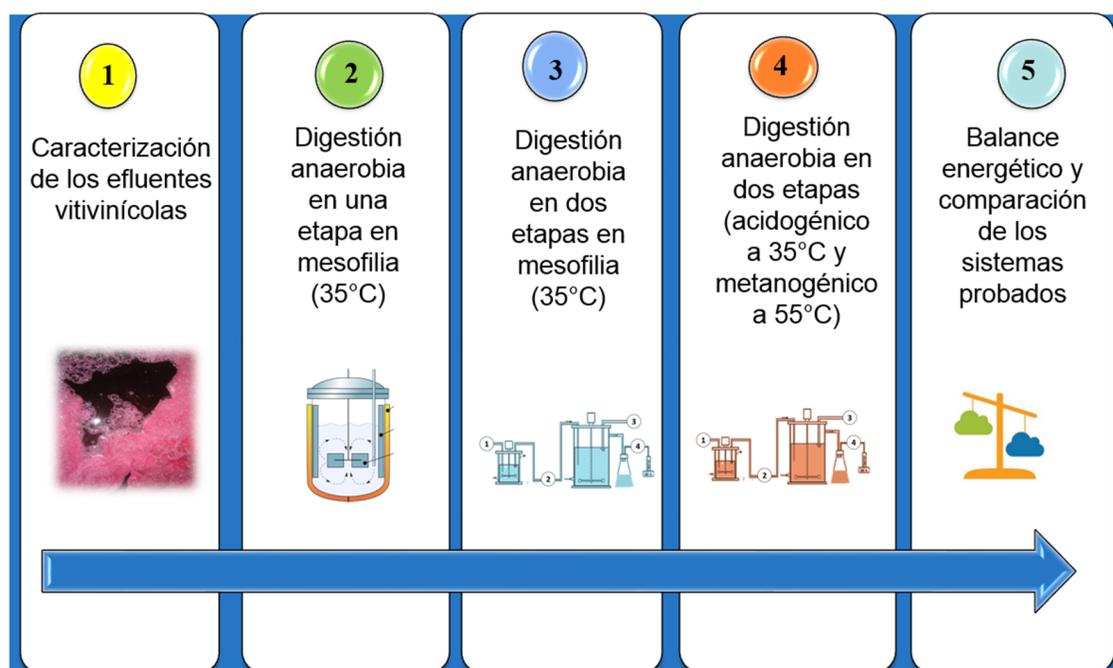


Figura 6.1 Diagrama del procedimiento experimental.

### 6.1 Caracterización de los efluentes vitivinícolas

Los efluentes vitivinícolas que se utilizaron provienen de una bodega ubicada en Querétaro, México. Los parámetros que se analizaron de acuerdo con métodos estándar fueron pH, nitrógeno, DQO (total y soluble), carbohidratos (por el método de fenol-ácido sulfúrico) sólidos totales (ST), sólidos totales volátiles (STV), sólidos suspendidos totales (SST) sólidos suspendidos volátiles (SSV) y ácidos grasos volátiles por cromatografía de gases (para detalle de los métodos ver la sección 6.6).

## 6.2 Digestión anaerobia en una etapa en mesofilia

La digestión anaerobia en una etapa se llevó a cabo con la finalidad de tener un reactor testigo en el cual evaluar la productividad y estabilidad del proceso con esta configuración.

El reactor utilizado se aprecia en la Figura 6.2, es de la marca Applikon Biotechnology modelo Glass Bioreactor. Tiene un volumen nominal de 7 L, de los cuales 4 L se ocuparon como volumen de trabajo. Se operó con pH de 7.5 (controlado con HCl 3N y NaOH 5N), agitación de 150 rpm y temperatura de 35 °C. El reactor fue inoculado con lodo anaerobio granular proveniente de una planta cervecera, el lodo ocupó 20% del volumen de trabajo con una concentración de 20.8 gSTVL<sup>-1</sup>. Y fue alimentado con efluentes vitivinícolas diluidos.

El arranque del proceso duró 16 días divididos en 2 ciclos operados en SBR con un volumen de intercambio de 2 L (50%). Ambos ciclos se operaron con una concentración de 20 gDQOL<sup>-1</sup> y una carga orgánica de 1.2 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>. Posteriormente el reactor se operó en continuo durante 171 días, con un tiempo de retención hidráulica (TRH) de 8 días, una concentración de 73.7 ± 7.6 gDQOL<sup>-1</sup> y una carga orgánica de 9.6 ± 1.3 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>.

El periodo de operación en continuo (171 días), se dividió en 2 fases: en la fase I (del día 0 al 72) se controló sólo el pH; en la fase II (del día 72 al 171), se controló el pH y la alcalinidad (mediante la adición de NaHCO<sub>3</sub>). Durante la operación del reactor, se monitoreó pH, alcalinidad, DQO, AGV, producción y composición de biogás.

El flujo de biogás obtenido en este experimento se midió a condiciones estándar de presión y temperatura (0 °C y 1 atm) utilizando un medidor de flujo volumétrico  $\mu$ flow Bioprocess Control (Bioprocess Control, Lund, Suecia) que fue conectado a un controlador lógico programable (PLC, INVT, Shenzhen China) a través de un sistema de control y adquisición de datos (SCADA) que registró lecturas del flujo de biogás cada minuto.



**Figura 6.2 Montaje del reactor metanogénico.**

### **6.3 Digestión anaerobia en dos etapas en mesofilia**

El proceso anaerobio en dos etapas en mesofilia requirió de dos reactores uno para la acidogénesis y otro para la metanogénesis. El acidogénico fue alimentado con efluentes vitivinícolas y su efluente fue utilizado para alimentar al metanogénico.

El reactor utilizado para la acidogénesis se muestra en la Figura 6.3, es de la marca Applikon Biotechnology, modelo ez-Control con un volumen nominal de 1.5 L y un volumen de trabajo de 0.6 L. Operó con pH de 5.5, temperatura de 35 °C y agitación de 150 rpm. Para aclimatar a los microorganismos endógenos, el reactor trabajó como SBR durante 30 días con efluentes diluidos a una concentración de 80 gDQOL<sup>-1</sup>. Al final de cada ciclo, los sólidos se sedimentaron, y se intercambié el 25% del sobrenadante. Durante la aclimatación, el TRH se redujo de 8 a 4 y luego a 2 días. Posterior a la aclimatación, el reactor se operó en continuo.



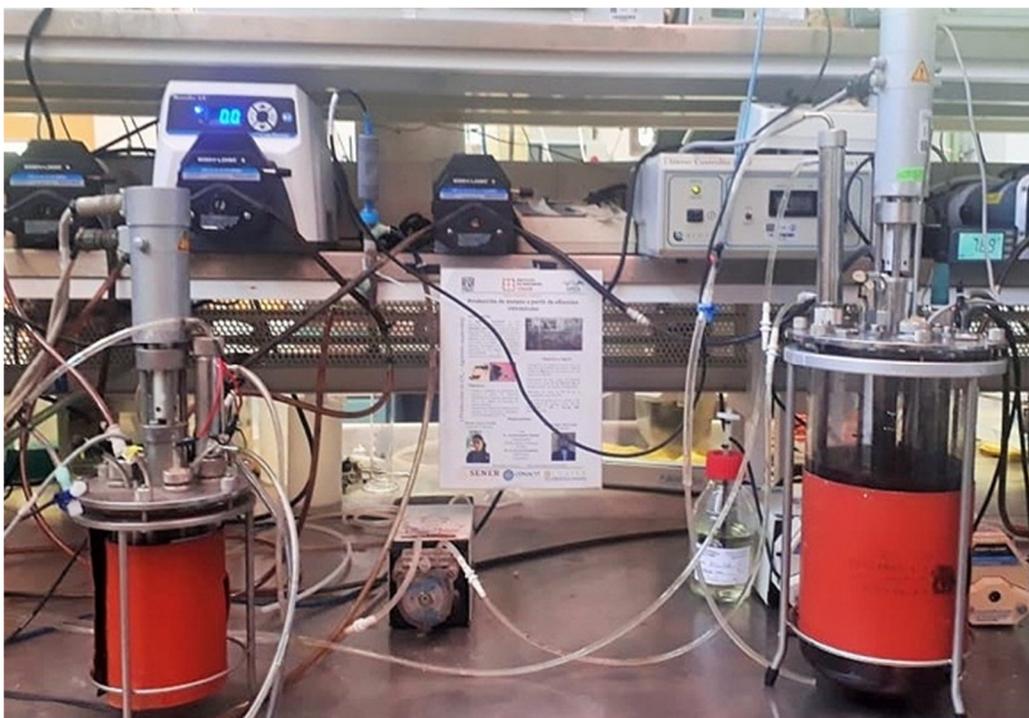
**Figura 6.3 Montaje del reactor acidogénico.**

El reactor empleado para la metanogénesis se aprecia en la Figura 6.2, trabajó con pH de 7.5, agitación de 150 rpm y temperatura de 35 °C. Utilizó un volumen de trabajo de 4 L, de los cuales el 20% fue ocupado por lodo anaerobio granular proveniente de una planta cervecera.

La aclimatación de los microorganismos metanogénicos al efluente acidogénico se llevó a cabo operando al reactor como SBR con 2 ciclos, con una duración de 9 y 10 días respectivamente. Las concentraciones de cada ciclo fueron 5 gDQOL<sup>-1</sup> y 10 gDQOL<sup>-1</sup>. Al final de cada ciclo el lodo se dejó sedimentar durante 20 minutos y se intercambié el 50% del volumen del sobrenadante, con un tiempo de vaciado de 2.4 min y un tiempo de llenado de 1.3 min.

Una vez aclimatados los microorganismos de ambos reactores (acidogénico y metanogénico), se adicionó un control de nivel en cada uno y fueron acoplados como se aprecia en la Figura 6.4. El sistema acoplado operó durante 28 días en continuo con un TRH de 2 días y con 2 cargas orgánicas distintas como se muestra en la Tabla 6.1.

El sistema junto con la adquisición de datos de flujo de biogás fue automatizado. El flujo de biogás obtenido en este experimento se midió a condiciones estándar de presión y temperatura (0 °C y 1 atm) utilizando un medidor de flujo volumétrico  $\mu$ flow Bioprocess Control (Bioprocess Control, Lund, Suecia) que fue conectado a un controlador lógico programable (PLC, INVT, Shenzhen China) a través de un sistema de control y adquisición de datos (SCADA) que registró lecturas del flujo de biogás cada minuto.



**Figura 6.4 Montaje del sistema acoplado en dos etapas en mesofilia.**

**Tabla 6.1 Parámetros operacionales del sistema en dos etapas.**

Parámetro	Acidogénico	Metanogénico	Unidades
Volumen	0.6	4	L
TRH	2.06	13.8	d
Carga 1	35.6	4.2	kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>
Carga 2	99.2	12.1	kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup>

## 6.4 Digestión anaerobia en dos etapas (acidogénico en mesofilia y metanogénico en termofilia).

En este proyecto, para el proceso de dos etapas resultó de interés evaluar termofilia sólo en el reactor metanogénico debido a que, en diversos estudios probaron que en condiciones termofílicas incrementa la producción de CH<sub>4</sub> (Cea-Barcia et al., 2015; Da Ros et al., 2017; Rincón et al., 2010). También se ha encontrado que los microorganismos acidogénicos se desarrollan mejor en mesofilia (Itoh y Lino, 2013). Además, si ambos reactores trabajaran en termofilia, los gastos por calentamiento serían mayores. En futuros trabajos se puede evaluar si el incremento de temperatura en el acidogénico favorece la producción de AGV.

El sistema acidogénico (mesofilia) - metanogénico (termofilia), requirió de dos reactores. El reactor para la acidogénesis fue el mismo que se utilizó en el experimento en mesofilia (Figura 6.3). Se volvió a arrancar en continuo con las mismas condiciones de trabajo, es decir, con 0.6 L como volumen de trabajo, pH de 5.5, temperatura de 35°C y agitación de 150 rpm. Operó durante 114 días con tres cargas orgánicas (53.5, 111.5 y 275.9 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>), las primeras dos cargas fueron con un TRH de 2 días y la última con TRH de 1 día.

El reactor para la metanogénesis es el que se observa en la Figura 6.2; fue alimentado con el efluente del reactor acidogénico. Trabajó con pH de 7.5, agitación de 150 rpm y temperatura de 55°C. Se mantuvo con un volumen de trabajo de 4 L, del cual el 20% correspondió al lodo anaerobio granular proveniente de una planta cervecera.

La aclimatación de los microorganismos metanogénicos a condiciones termofílicas, se llevó a cabo elevando la temperatura en un solo paso, es decir dentro del reactor, se pasó de temperatura ambiente (20 °C) a 55°C. El reactor fue operado como SBR durante 160 días, con 2 ciclos de 10 gDQOL<sup>-1</sup> y 8 ciclos de 20 gDQOL<sup>-1</sup>. Una vez que el rendimiento de CH<sub>4</sub> y la remoción de materia orgánica resultaron constantes, se procedió a la operación como SBR con concentraciones más altas.

Para operar al reactor como SBR, primero se sedimentaba, luego se retiraba un % del volumen de efluente y enseguida se alimentaba para llegar al volumen de trabajo. Inicialmente, el reactor operó durante 23 días con cargas orgánicas bajas (4.9 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> por 16 días y 9.7 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> por 7 días). Durante este periodo, se programaron 4 ciclos al día con una duración de 6 h por ciclo. En cada ciclo se tenían tiempos programados como se observa en la tabla 6.2, estos tiempos son considerando el caudal de las bombas para alimentación y vaciado.

Posteriormente, el reactor metanogénico trabajó durante 13 días con una carga alta (30 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>). Con esta carga orgánica se realizaron 3 experimentos variando el número de ciclos por día (4, 8 y 16 ciclosd<sup>-1</sup>) con la finalidad de evaluar el efecto en la eficiencia del proceso a medida que se pasa de una configuración como SBR a CSTR. En la tabla 6.2 se aprecian los tiempos programados por ciclo para cada experimento.

**Tabla 6.2 Parámetros operacionales del reactor metanogénico en termofilia.**

Carga (kgDQOm <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )	TRH (d)	Número de ciclos (d <sup>-1</sup> )	Volumen de intercambio por ciclo (%)	Tiempo de sedimentación (min)	Tiempo de vaciado (min)	Tiempo de alimentación (min)
4.9	20	4	1.3	20	2.0	1.0
9.7	10	4	2.5	20	3.9	1.9
30	7	4	3.6	15	5.6	2.7
30	7	8	1.8	15	2.8	1.4
30	7	16	0.9	15	1.4	0.7

El flujo de biogás obtenido en este experimento se midió a condiciones estándar de presión y temperatura (0 °C y 1 atm) utilizando un medidor de flujo volumétrico  $\mu$ flow Bioprocess Control (Bioprocess Control, Lund, Suecia) que fue conectado a un controlador lógico programable (PLC, INVT, Shenzhen China) a

través de un sistema de control y adquisición de datos (SCADA) que registró lecturas del flujo de biogás cada minuto.

## 6.5 Balance energético y comparación de los sistemas probados

La comparación de los sistemas probados (una etapa en mesofilia, dos etapas en mesofilia y dos etapas en mesofilia-termofilia) se realizó con la finalidad de elegir el proceso más conveniente para la digestión anaerobia de éstos efluentes. Esta comparación se realizó considerando la carga orgánica, el rendimiento, la productividad, la remoción de materia orgánica y la adición de alcalinidad de cada sistema.

El balance energético de cada proceso se llevó a cabo adaptando a este trabajo la ecuación de Ruggeri y colaboradores (2010):

$$E_n = E_{H_2} + E_{CH_4} - (E_w + E_l + E_e) \quad \text{Ecuación 6.1}$$

Dónde:

$E_n$  = energía neta producida en un reactor ( $MJm^{-3}d^{-1}$ )

$E_{H_2}$  = energía contenida en el  $H_2$  generado ( $MJm^{-3}d^{-1}$ )

$E_{CH_4}$  = energía contenida en el  $CH_4$  generado ( $MJm^{-3}d^{-1}$ )

$E_w$  = energía utilizada para el calentamiento ( $MJm^{-3}d^{-1}$ )

$E_l$  = energía perdida como calor ( $MJm^{-3}d^{-1}$ )

$E_e$  = energía gastada para mezclar y bombear ( $MJm^{-3}d^{-1}$ )

La ecuación 6.1 se modificó de acuerdo a las características de este trabajo. Para la producción de energía, sólo se consideró la  $E_{CH_4}$ , debido a que en estos experimentos no se generó  $H_2$ . El gasto energético se calculó considerando únicamente la energía utilizada para calentar el efluente ( $E_w$ ) esto porque, la temperatura fue la variable a evaluar en cada experimento para determinar si es más conveniente trabajar en termofilia (55 °C) que en mesofilia (35 °C). Se sabe que en termofilia se podría obtener mayor producción de energía, sin embargo, el

consumo energético por calentamiento es superior, por lo que fue necesario verificar si la producción de energía en termofilia compensa el gasto energético que implica trabajar a 55 °C.

Las pérdidas de calor tampoco se consideraron porque serían útiles únicamente para el diseño, lo cual requeriría de un trabajo posterior. Y el consumo de energía por bombeo y mezclado también se descartó porque ha resultado insignificante en otros trabajos. Considerando lo anterior, se utilizó la ecuación 6.2 para realizar el balance energético de cada proceso y determinar cuál produce más energía.

$$E_n = E_{CH_4} - E_w \quad \text{Ecuación 6.2}$$

La energía contenida en el CH<sub>4</sub> generado se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$E_{CH_4} = F * P_{CH_4} (T_w) * - H_{CH_4} \quad \text{Ecuación 6.3}$$

Dónde:

$E_{CH_4}$  = Producción de energía a partir del CH<sub>4</sub> (MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)

F = fracción de llenado del volumen del reactor

$P_{CH_4}$  = producción específica de CH<sub>4</sub> a la temperatura de trabajo (m<sup>3</sup> m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)

$H_{CH_4}$  = valor calorífico de CH<sub>4</sub> (36.18 MJN<sup>-1</sup>m<sup>-3</sup>)

El consumo energético por calentamiento se obtuvo con la siguiente ecuación:

Ecuación 6.4

$$E_w = \frac{\rho * C_p * (T_w - T_a) * F}{\eta * TRH}$$

Dónde:

$E_w$  = energía utilizada para el calentamiento (MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)

$\rho$  = densidad del líquido en fermentación (994 kgm<sup>-3</sup> a 35 °C y 985.7 kgm<sup>-3</sup> a 55 °C)

$C_p$ = calor específico del líquido en fermentación ( $4.178 \text{ MJkg}^{-1}\text{K}^{-1}$  a  $35 \text{ °C}$  y  $4.183 \text{ MJkg}^{-1}\text{K}^{-1}$  a  $55 \text{ °C}$ )

$T_w$ = temperatura de trabajo del reactor (K)

$T_a$ = temperatura del ambiente (K)

$\eta$ = eficiencia térmica del sistema de calefacción (0.48) (Ruggeri et al., 2010)

TRH= tiempo de retención hidráulica (d)

## 6.6 Métodos analíticos

La DQO total y soluble se determinó con base en el método Hach 8000. Este método requiere de tubos que contienen una solución de dicromato de potasio en condiciones ácidas. Los tubos utilizados fueron HR plus que permiten un rango de DQO de 200 a 15,000 mg/L y cuentan con un factor de dilución 1:10. La muestra fue diluida para que su valor de DQO quedara dentro del rango de los tubos. La digestión se realizó a 150°C y las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro Hach DR/2800 con una longitud de onda de 620 nm.

El contenido de sólidos (ST, SV, SST y SSV) se determinó mediante métodos gravimétricos estándar (APHA 2005). La concentración de N-NH<sub>4</sub> se midió por el método de salicilato (APHA 2005) y el contenido de carbohidratos totales y solubles se determinaron con el método colorimétrico del fenol-ácido sulfúrico (Dubois et al. 1956).

La alcalinidad se midió titulando 20 mL de muestra con HCl 0.1 N, empezando desde el pH de trabajo (7.5), hasta 5.5 y posteriormente hasta 4.3 (Jenkins et al., 1983). Obteniendo así los valores para calcular el índice alfa ( $\alpha = Al/AT$ ) donde la alcalinidad intermedia corresponde al volumen gastado para titular de pH 5.5 a 4.3 y la alcalinidad total es el volumen gastado desde el inicio de la titulación hasta pH 4.3. (Rojas, 1987). Se calculó con la siguiente fórmula (Rojas, 1987):

$$\alpha = Al/AT = (\text{alc } 4.3 - \text{alc } 5.75) / \text{alc } 4.3$$

La determinación de alcoholes y AGV se llevó a cabo de acuerdo con Carrillo-Reyes y colaboradores (2019). Las muestras se centrifugaron a 3500 rpm durante 10 minutos, luego se filtraron utilizando membranas de nitrocelulosa de 0.45  $\mu\text{m}$ , posteriormente fueron colocadas en el cromatógrafo Agilent Technologies 7890B GC System (Santa Clara, CA, EE. UU.), el cual se observa en la Figura 6.5. El cromatógrafo utiliza nitrógeno como gas acarreador a un flujo de 25  $\text{mlmin}^{-1}$ ; tiene un detector de ionización de llama y una columna DB-FFAP con una longitud de 15 m (530  $\mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ ). La temperatura del inyector fue de a 190°C y la del detector de 210°C. La temperatura inicial de la columna fue de 60°C; y aumentó

primero a 90°C a una velocidad de 15°C min<sup>-1</sup>, después incrementó a 170°C a una velocidad de 25°C min<sup>-1</sup>; finalmente se mantuvo durante 3.5 min.



**Figura 6.5 Cromatógrafo de gases.**

El flujo de biogás de cada uno de los experimentos de este trabajo se midió a condiciones estándar de presión y temperatura (0 °C y 1 atm) de acuerdo con Carrillo-Reyes y colaboradores (2019). Se utilizó un medidor de flujo volumétrico  $\mu$ flow Bioprocess Control (Bioprocess Control, Lund, Suecia), que tiene una precisión de  $\pm 1\%$ . El  $\mu$ flow fue conectado a un controlador lógico programable (PLC, INVT, Shenzhen China) a través de un sistema de control y adquisición de datos (SCADA) que registró lecturas del flujo de biogás cada minuto.

La composición del biogás fue determinada utilizando un cromatógrafo de gases (SRI Modelo 8610C, Torrance, CA, EE. UU.), que utiliza nitrógeno como gas acarreador con una velocidad de flujo de 20 mlmin<sup>-1</sup> y se compone de un detector de conductividad térmica y dos columnas empacadas (una empacada con gel de sílice gel de 6" x 1/8" y otra de un tamiz molecular de 13 x 6" x 1/8"). La temperatura del inyector fue de 90°C y la del detector de 150°C. La temperatura inicial de la columna fue de 40°C, se mantuvo durante 4 minutos, después a una velocidad de 20°C min<sup>-1</sup> aumentó a 110°C. La temperatura final de la columna se mantuvo durante 3 minutos.

El contenido de H<sub>2</sub>S en el biogás producido en cada uno de los experimentos de este proyecto, se estimó de acuerdo a la metodología propuesta por Moreno-Andrade y colaboradores (2019), que se compone de los siguientes pasos:

1. Se calcula el contenido total de H<sub>2</sub>S en el sistema utilizando la siguiente ecuación:

$$H_2S\% = \left( \frac{\frac{S_{cons}}{MW} \times 22.4}{BBP} \right) \times 100\%$$

Dónde:

H<sub>2</sub>S%= Concentración total de H<sub>2</sub>S en el sistema (% v/v).

S<sub>cons</sub>= relación de consumo azufre y DQO (gSconsumido gDQOremovida<sup>-1</sup>)

MW= Peso molar de azufre (32.07 g mol<sup>-1</sup>).

BBP= Potencial de biogás (LBiogás gDQOremovida<sup>-1</sup>).

Se consideró que la concentración de sulfato corresponde a la concentración de azufre total y que todo el azufre consumido se convierte completamente en H<sub>2</sub>S.

2. Con la siguiente ecuación se calcula la constante de Henry de acuerdo a la temperatura de trabajo:

$$H = H^{\circ} e^{\left[ -\frac{d \ln H}{d \left( \frac{1}{T} \right)} \times \left( \frac{1}{T} - \frac{1}{T^{\circ}} \right) \right]}$$

Dónde:

H= Constante de Henry constante (-).

H<sup>o</sup>= constante de Henry a pH 7 y 298.15 K (-)= 0.386

T= temperatura de trabajo (K)

T°= temperatura de referencia (298.15 K)

$d\ln H/d(1/T) = 2300 \text{ K}$

3. Se obtiene la concentración de H<sub>2</sub>S en la fase gaseosa, con la siguiente ecuación:

$$H_2S_{\%}^{\text{Gas}} = H_2S_{\%} \left( \frac{V_{\text{Tot}}}{V_{\text{Gas}} + \frac{V_{\text{Liq}}}{H}} \right)$$

Dónde:

$H_2S_{\%}^{\text{Gas}}$  = Concentración de H<sub>2</sub>S en el biogás (%).

$H_2S_{\%}$  = Concentración total de H<sub>2</sub>S en el sistema (%).

$V_{\text{Tot}}$  = Volumen total del reactor (L).

$V_{\text{Gas}}$  = Volumen de la fase gaseosa en el reactor (L).

$V_{\text{Liq}}$  = Volumen de la fase líquida en el reactor (L).

H = Constante de Henry (-).

4. Se convierte el % de H<sub>2</sub>S a ppm multiplicando el valor de  $H_2S_{\%}^{\text{Gas}}$  por 10,000.

## 7. Resultados y discusión

### 7.1 Caracterización de los efluentes vitivinícolas

Las características de los efluentes vitivinícolas utilizados para este proyecto se aprecian en la Tabla 7.1, donde se observa que el contenido de DQO es de  $260.3 \pm 0.7 \text{ gDQOL}^{-1}$  y es mayor a  $220.6 \pm 0.2 \text{ gDQOL}^{-1}$  que es el valor reportado por Buitrón y colaboradores (2019) para efluentes provenientes de la misma bodega, esta diferencia puede deberse a algún cambio en el proceso de producción, lavado de los tanques, volumen de vino producido o bien a las características de la uva utilizada. Sin embargo, se encuentra dentro del rango encontrado por Mosse y colaboradores (2011), donde reportan hasta  $290 \text{ gDQOL}^{-1}$ .

El alto contenido de DQO se debe principalmente a la alta concentración de etanol ( $154 \pm 3.5 \text{ gDQOL}^{-1}$ ) y a la cantidad de sólidos ( $73.6 \pm 0.1 \text{ gSTL}^{-1}$ ). Estos valores son altos debido a que el agua residual del proceso de elaboración de vino es mezclada con las lías, que son el residuo de la fermentación de la uva. El pH (3.4) de estos residuos es tan bajo como el reportado en otros trabajos (Buitrón et al., 2019; Malandra et al., 2003; Mosse et al., 2011).

El contenido de sulfatos en estos efluentes ( $0.2 \text{ gL}^{-1}$ ) es importante porque las bacterias sulfato reductoras pueden transformar al sulfato en sulfuro (Bundhoo y Mohee, 2016). Y una concentración de sulfuros mayor a  $0.05 \text{ gL}^{-1}$  puede inhibir la actividad de los metanogénicos (Varnero, 2011). Además el sulfuro puede pasar como  $\text{H}_2\text{S}$  al biogás y si alcanza una concentración mayor a 500 ppm de  $\text{H}_2\text{S}$  y no es purificado, puede ocasionar problemas de corrosión en equipos de producción de energía (Aita et al., 2016).

La temperatura de los efluentes utilizados era de  $19 \pm 4 \text{ }^\circ\text{C}$ . El color y la conductividad eléctrica no se midieron. En relación a la conductividad, en otros trabajos han encontrado que su valor va de 0.8 a  $5.6 \text{ dSm}^{-1}$  (Ioannou et al., 2015; Mosse et al., 2011). Por lo tanto, si los efluentes se utilizaran directamente para

riego, se debe considerar que valores de conductividad mayores a  $0.7 \text{ dSm}^{-1}$  pueden resultar tóxicos para los cultivos (Monge, 2017).

Las características de estos efluentes no permiten que sean desechados en el ambiente sin previo tratamiento, debido a que podrían ocasionar problemas de salinidad en suelos; fitotoxicidad en cultivos; eutrofización; alteraciones en pH, color y turbidez de fuentes de agua (Bueno et al., 2009; Cruz et al., 1991).

En la Tabla 7.1 se observa que alrededor del 75% de la DQO total es materia soluble y fácilmente biodegradable, lo que hace que estos efluentes sean apropiados para un tratamiento biológico. Un proceso aerobio puede ser poco conveniente debido a que, para tratar el alto contenido de materia orgánica, se necesitaría la adición de nutrientes y el uso reactores con grandes volúmenes, lo cual representaría altos costos de operación. En cambio, un proceso anaerobio puede ser más eficiente para este tipo de residuos porque permite tratar altas cargas orgánicas con reactores de menor tamaño, y produce biogás que puede ser aprovechado.

Estos efluentes podrían ser tratados con un sistema anaerobio utilizando un UASB o un filtro anaerobio que toleran altas cargas orgánicas ( $5 \text{ a } 20 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) (Andreottola et al. 2009); sin embargo, su alto contenido de sólidos puede ocasionar problemas de sedimentación y taponamiento. Por lo tanto, es conveniente utilizar un CSTR que, aunque tolera menor carga orgánica, es apropiado para efluentes con alto contenido de sólidos (Akunna, 2018; Enzmann et al., 2018). Lo anterior justifica la configuración de los reactores usados en este trabajo.

**Tabla 7.1 Características de los efluentes utilizados.**

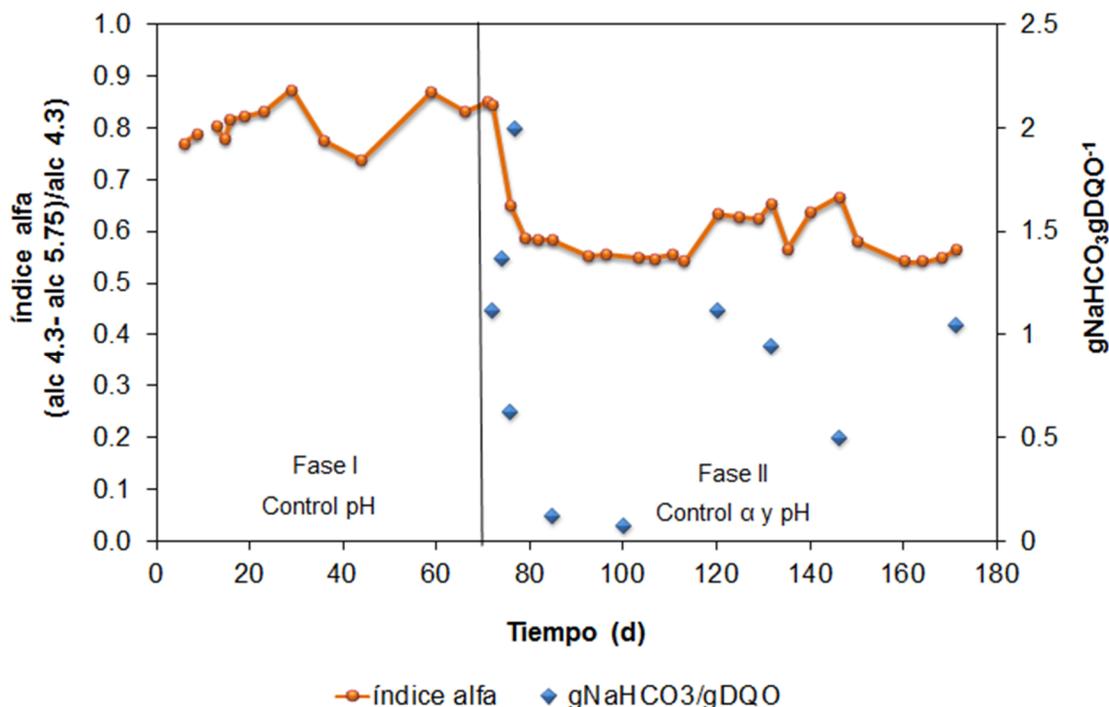
<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
DQO total (gL <sup>-1</sup> )	260.3 ± 0.7
DQO soluble (gL <sup>-1</sup> )	195.7 ± 0.4
Etanol (gDQO eqL <sup>-1</sup> )	154 ± 3.5
Acetato (gDQO eqL <sup>-1</sup> )	1.5 ± 0.3
Propionato (gDQO eqL <sup>-1</sup> )	0.2 ± 0.8
CH. Totales (gDQO eqL <sup>-1</sup> )	26.9 ± 0.6
CH. Solubles (gDQO eqL <sup>-1</sup> )	2.2 ± 0.7
ST (gL <sup>-1</sup> )	73.6 ± 0.1
SV (gL <sup>-1</sup> )	49.1 ± 0.5
SF (gL <sup>-1</sup> )	24.5 ± 0.3
SST (gL <sup>-1</sup> )	52 ± 0.6
SSF (gL <sup>-1</sup> )	9.7 ± 1.3
SSV (gL <sup>-1</sup> )	42.4 ± 2.7
Sulfatos (gL <sup>-1</sup> )	0.2 ± 0.002
Nitratos (gL <sup>-1</sup> )	0.3 ± 0.02
Nitritos (gL <sup>-1</sup> )	0.7 ± 0.1
N-amoniaco (gL <sup>-1</sup> )	0.2 ± 0.02
pH	3.4 ± 0.1

## 7.2 Digestión anaerobia en una etapa en mesofilia

Los resultados obtenidos del reactor en una etapa en mesofilia con una carga orgánica de  $9.6 \pm 1.3 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ , se dividen en dos fases: fase I (del día 0 al 72), con control de pH; la fase II (día 72 al 171), con control de pH y alcalinidad. La alcalinidad del proceso se monitoreó calculando el índice  $\alpha$ , que es un indicador de la capacidad buffer del sistema pues relaciona la alcalinidad debida a los AGV con la alcalinidad total. Su rango recomendado para el buen funcionamiento de un sistema anaerobio es de 0.2 a 0.4. (Rojas, 1987).

En la fase I, se evaluó la capacidad de amortiguamiento del sistema, por lo que no se adicionó alcalinidad. En la Figura 7.1 se observa que, durante esta fase, el índice  $\alpha$  oscilaba entre 0.7 y 0.9, es decir estaba fuera del rango recomendado por Rojas (1987). Esto confirmó que la digestión anaerobia de estos efluentes sin

adición de alcalinidad, tiende a acumular AGV como se observa en la Figura 7.2. En esta fase se obtuvo un rendimiento promedio de  $127 \pm 15 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una productividad volumétrica promedio de  $0.25 \pm 0.03 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , una productividad específica de  $3.4 \pm 0.4 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$  (Figura 7.3) y una remoción de materia orgánica medida como DQO del 20.4% (con una velocidad de remoción de  $1.8 \pm 0.9 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) (Figura 7.4).



**Figura 7.1 Índice alfa en el proceso en una etapa en mesofilia.**

En la fase II, se adicionó alcalinidad bicarbonática y como se muestra en la Figura 7.1, hasta el día 111, el índice alfa descendió a valores menores a 0.6, que se acercan al valor recomendado por Boncz y colaboradores (2012) (0.6) para la digestión anaerobia de vinazas. Con la adición de alcalinidad, el reactor incrementó su capacidad amortiguadora favoreciendo el consumo de AGV (principalmente acetato) como se observa en la Figura 7.2.

El rendimiento promedio en el periodo de estabilidad de la fase II (del día 88.8 al día 111) resultó de  $318 \pm 18 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , la productividad volumétrica promedio de  $2.7 \pm 0.4 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y la productividad específica de  $35.8 \pm 5.6 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$

<sup>1</sup> (Figura 7.3). Estos valores fueron mayores a los obtenidos en la fase I, lo cual confirma que el proceso en una etapa requiere de la adición de alcalinidad para su buen funcionamiento.

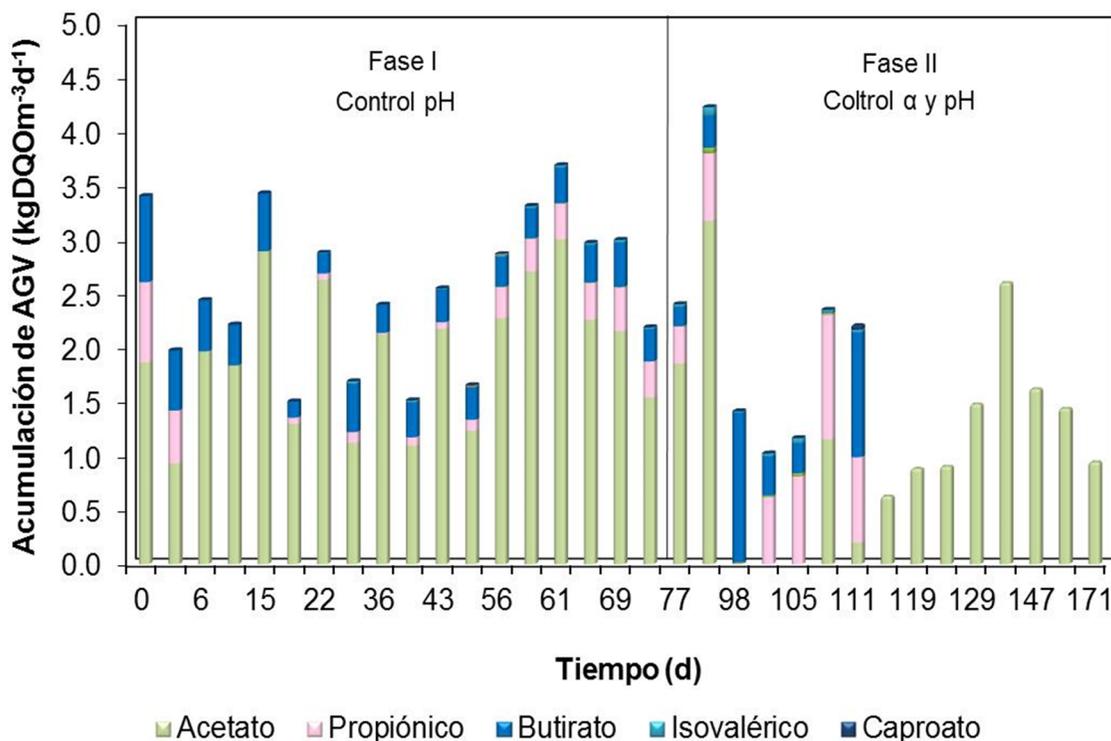


Figura 7.2 Acumulación de AGV en el proceso de una etapa en mesofilia.

La productividad volumétrica obtenida ( $2.7 \pm 0.4 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) en la fase II, es alta comparada con otros trabajos que también realizaron la digestión en un solo reactor por ejemplo, el de Da Ros y colaboradores (2017), donde obtuvieron hasta  $0.9 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  con una carga orgánica de  $3.2 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ; y el de Yang y colaboradores (2011) que trabajaron con una carga orgánica de  $9 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  (similar a la de este experimento) y obtuvieron  $1.6 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ .

La remoción de materia orgánica en la fase II, se presenta en la Figura 7.4 y resultó en promedio en su periodo estable de 85% (con una velocidad de remoción

de  $8.4 \pm 0.5 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ ). La remoción máxima de DQO fue de 95%, que es mayor a la obtenida en otros procesos anaerobios como el de Daffonchio y colaboradores (1998) y el de Wahab y colaboradores (2016) que obtuvieron hasta 92% y 93% respectivamente.

Los resultados de ambas fases indican que cuando se controla tanto el pH y como la alcalinidad, el proceso en una etapa además de generar altas productividades de metano, es conveniente para remover alto contenido de materia orgánica.

En el día 112, el controlador falló y añadió un exceso de NaOH dejando el pH del digester en 14, por lo que se procedió a cambiar el líquido del reactor, se añadió nuevo lodo y se continuó con la operación del reactor. Pese a las medidas empleadas, el proceso perdió estabilidad, impidiendo un apropiado control de alcalinidad como se observa en la Figura 7.1. Lo anterior redujo el rendimiento, la productividad volumétrica y la productividad específica, alcanzando hasta  $297 \pm 47 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ ,  $1.6 \pm 0.4 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y  $22 \pm 4.9 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$  respectivamente. Después de 2 meses de intentar mejorar la eficiencia del reactor, el experimento se dio por finalizado.

El biogás obtenido con este sistema de una etapa, en promedio contiene 68% de  $\text{CH}_4$ . El contenido de  $\text{CH}_4$  está dentro del rango encontrado por Da Ros y colaboradores (2017) que fue de 64 al 73% al realizar digestión anaerobia con efluentes vitivinícolas. El contenido de  $\text{H}_2\text{S}$  que se estimó fue de 3786 ppm y es superior a 500 ppm, por lo que el biogás tendría que ser purificado para evitar problemas de corrosión en equipos (Aita et al., 2016).

Con los resultados obtenidos con la operación el sistema en una etapa para tratar efluentes vitivinícolas se confirma que el proceso es inestable y requiere de la constante adición de alcalinidad bicarbonática (en promedio  $0.9 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ ) para evitar inhibición por AGV e incrementar el rendimiento y la producción de metano.

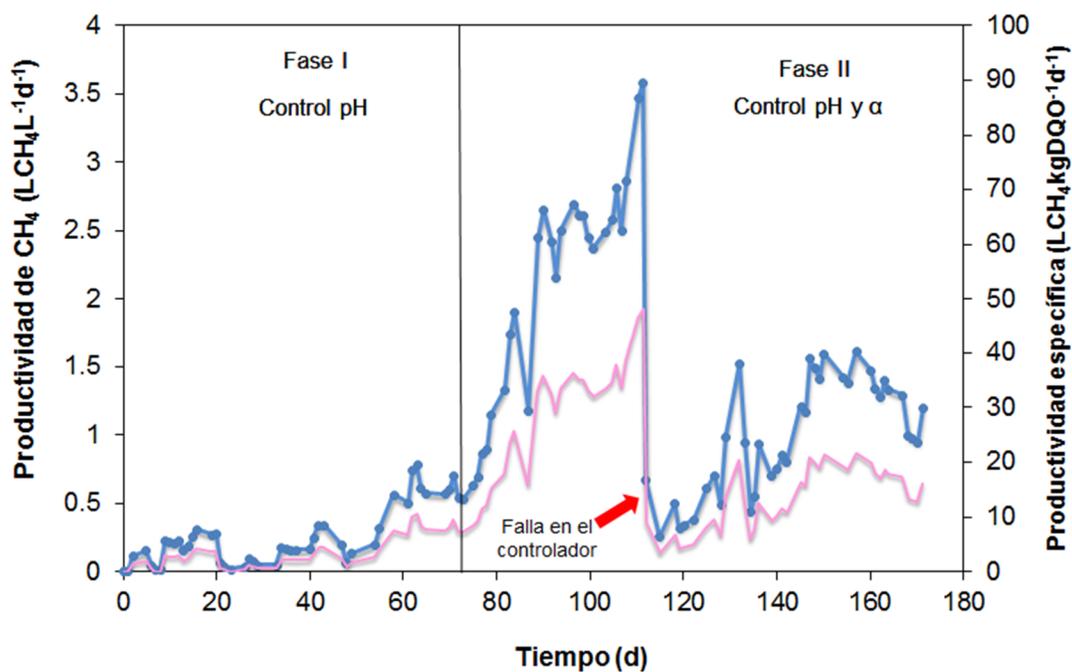


Figura 7.3 Productividad de CH<sub>4</sub> en el proceso de una etapa en mesofilia.

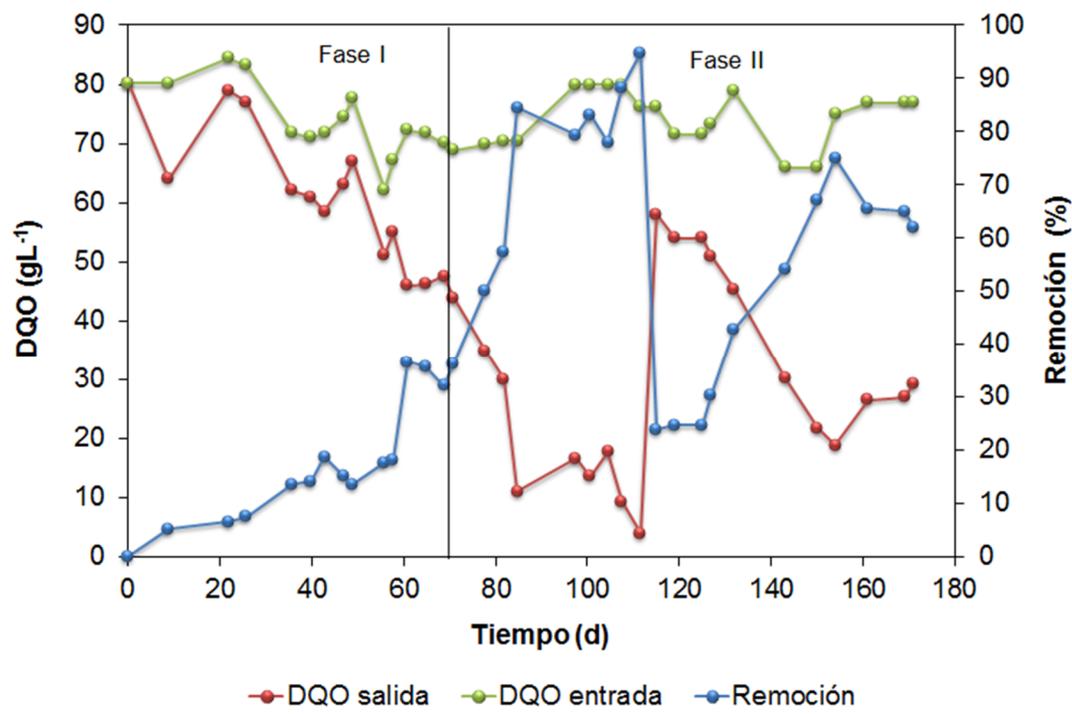


Figura 7.4 Remoción de materia orgánica en el proceso de una etapa en mesofilia

### 7.3 Digestión anaerobia en dos etapas en mesofilia

Los resultados del sistema en dos etapas en mesofilia se presentan en dos partes, en la primera se aprecian los resultados de la etapa acidogénica y en la segunda de la metanogénica.

#### Etapa acidogénica

La aclimatación de los microorganismos acidogénicos se llevó a cabo operando al reactor como SBR, con 4 ciclos de  $80 \text{ gDQOL}^{-1}$  (con duración de 8 días el ciclo 1 y 2; 4 días el ciclo 3; y 2 días el ciclo 4). La producción de AGV durante esta aclimatación se presenta en la Figura 7.5, donde se puede observar que en el ciclo 1 se generaron distintos AGV excepto acetato; sin embargo, con el transcurso de los ciclos, la producción de acetato incrementó llegando a  $2.3 \text{ gDQOL}^{-1}$ , por lo que se optó por comenzar a operar al reactor en continuo.

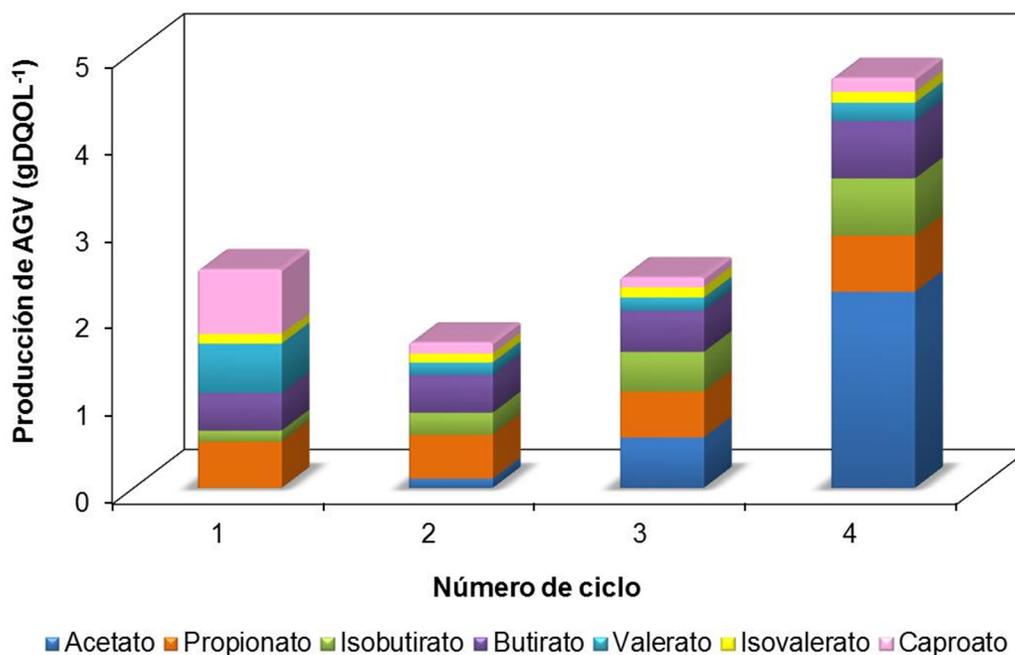


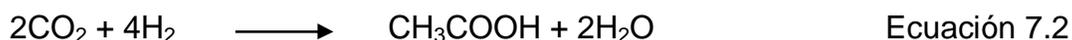
Figura 7.5 Producción de AGV durante la aclimatación de microorganismos acidogénicos.

El reactor acidogénico trabajó durante 39 días en continuo con un TRH de 2 días y con 2 cargas orgánicas distintas. Su producción de AGV se presenta en la Figura 7.6. La carga orgánica de  $35.6 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  ocupó efluentes vitivinícolas diluidos y permitió obtener un porcentaje de acidificación del 6%, es decir del 100% de la DQO en la entrada, el 6% se convirtió en AGV, excepto en acetato.

Posteriormente, para incrementar la carga orgánica a  $99.2 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  se utilizaron efluentes vitivinícolas concentrados. El aumento en la carga orgánica mejoró el proceso, alcanzando un porcentaje de acidificación de 7.6%. De los AGV generados, el 99% fue acetato, que es el sustrato utilizado por los microorganismos metanogénicos acetoclásticos (principales productores de metano) (Raskin et al., 1994).

El objetivo de la etapa acidogénica fue la producción AGV; sin embargo, también se obtuvo una remoción de materia orgánica promedio de 16%. El biogás obtenido en este reactor se compone únicamente de  $\text{CO}_2$ . No se detectó  $\text{H}_2$  en el biogás, lo cual podría indicar que el  $\text{H}_2$  producido fue empleado para generar acetato.

La formación de acetato en este reactor se podría explicar por la presencia de dos rutas metabólicas. La primera homoacetogénica, correspondiente a la ecuación 7.1 (Refai et al., 2014) en la que el etanol es transformado en acetato e hidrógeno. Y la segunda homoacetogénica autotrófica, correspondiente a la ecuación 7.2 (Bundhoo y Mohee, 2016) donde el dióxido de carbono junto con el hidrógeno son aprovechados para formar acetato, lo cual explicaría la ausencia de  $\text{H}_2$  en el biogás de este reactor.



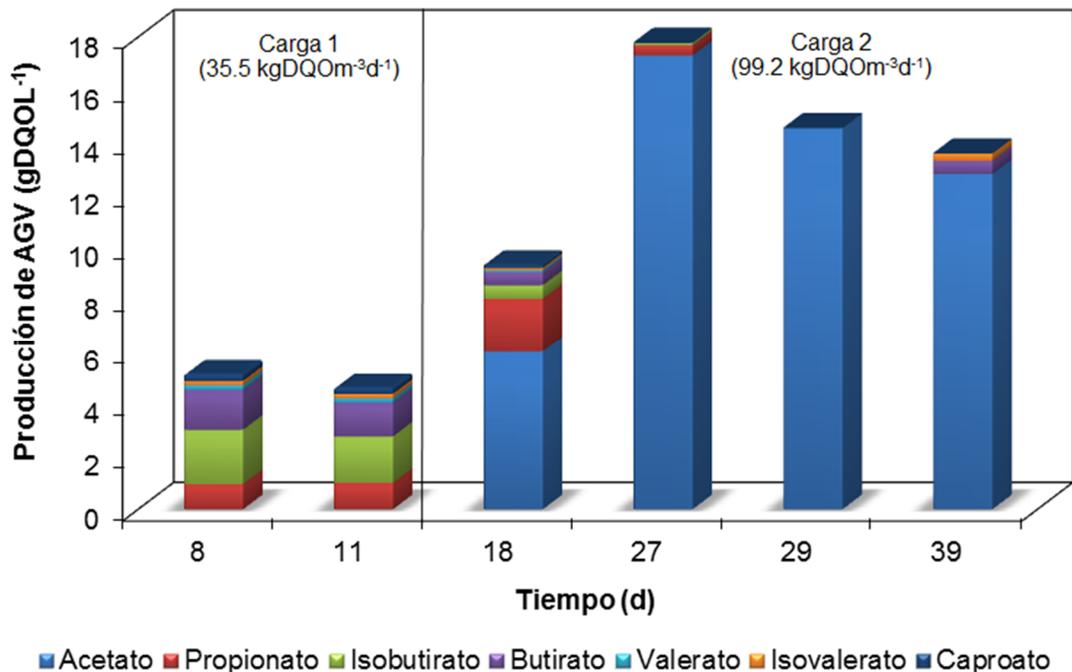


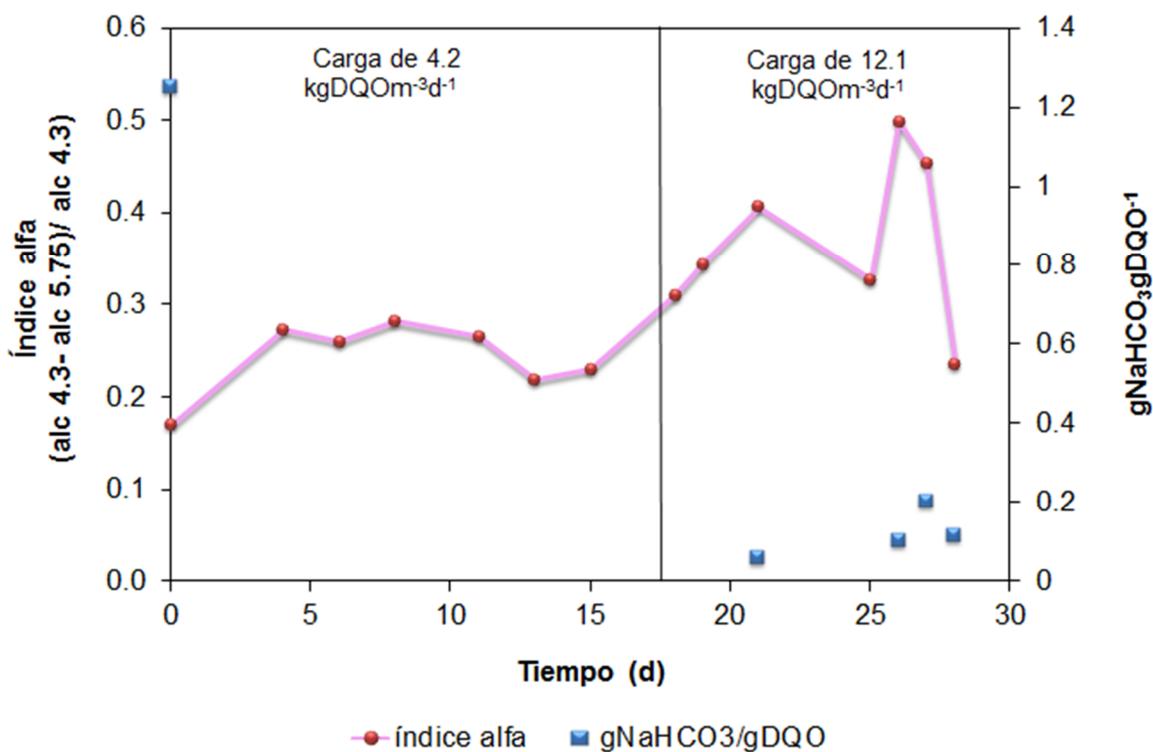
Figura 7.6 Producción de AGV del reactor acidogénico.

### Etapa metanogénica

El reactor metanogénico se arrancó con 2 ciclos como SBR, con  $5 \text{ gDQOL}^{-1}$  y  $10 \text{ gDQOL}^{-1}$  con la finalidad de aclimatar a los microorganismos al efluente acidogénico, en estos ciclos se obtuvieron rendimientos de  $332 \pm 40$  y  $301 \pm 36 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , que son valores cercanos al valor teórico ( $350 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ ), por lo que se procedió a la operación en continuo.

El reactor en continuo trabajó con un TRH de 13.8 días y con dos cargas orgánicas ( $4.2 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  durante 16 días y  $12.1 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  durante 12 días). Con la carga orgánica de  $4.2 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  en promedio se obtuvo un rendimiento de  $191.9 \pm 84 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una productividad volumétrica de  $0.8 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , una productividad específica de  $17 \pm 6.9 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$  y una remoción de materia orgánica del 96% (con una velocidad de remoción de  $4.5 \pm 0.3 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ ).

Con la carga orgánica de  $4.2 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  el sistema presentó suficiente capacidad buffer por lo que requirió de la adición de alcalinidad únicamente en el arranque y se mantuvo con un índice alfa cercano a 0.2 como se observa en la Figura 7.7. Posteriormente la carga orgánica se incrementó a  $12.1 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  y se necesitó de la adición de alcalinidad. La adición de alcalinidad para el proceso en dos etapas, fue en promedio de  $0.3 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ .



**Figura 7.7 Índice alfa en el sistema en dos etapas en mesofilia.**

Posteriormente la carga orgánica se incrementó a  $12.1 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  conservando un TRH de 13.8 días. Se observó que el proceso mejoró, alcanzando un periodo de estabilidad a partir del día 28, periodo en el que se obtuvo un rendimiento promedio de  $333 \pm 26 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una productividad volumétrica de  $3.6 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , una productividad específica de  $84 \pm 6.9 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$  (Figura 7.8). En este periodo se obtuvo una remoción de materia orgánica del 92% (con una velocidad de remoción de  $11.5 \pm 0.4 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) (Figura 7.9). Sin embargo, considerando que ambos reactores (acidogénico- metanogénico) fueron

acoplados, se obtuvo un rendimiento promedio de  $289 \pm 23 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una productividad específica de  $73 \pm 6 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$  y una productividad volumétrica de  $3.1 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ .

La productividad volumétrica obtenida ( $3.1 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) es cercana a la alcanzada por Buitrón y colaboradores (2019) con una carga orgánica de  $10.1 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  en un proceso de dos etapas sin adición de alcalinidad ( $3.3 \pm 0.5 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ ). Lo anterior confirma que el proceso en dos etapas es estable, tiene alta capacidad de amortiguamiento y permite obtener altas productividades.

El biogás obtenido con este sistema de dos etapas, en promedio contiene 67.4% de  $\text{CH}_4$ , que es un valor cercano a 67.8% que es el promedio reportado por Buitrón y colaboradores (2019) al tratar efluentes vitivinícolas en dos etapas. Se estimó que el contenido de  $\text{H}_2\text{S}$  en este sistema fue de 1797 ppm por lo que tendría que purificarse y enriquecerse para alcanzar por lo menos 96% de  $\text{CH}_4$  y evitar problemas de corrosión en equipos (Huguen y Le Saux, 2010).

Los resultados de productividad volumétrica y remoción de materia orgánica obtenidos con carga orgánica cercana a  $10 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  en el proceso de dos etapas en mesofilia ( $3.1 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y 92% respectivamente), fueron 15% y 8% mayores a los obtenidos con el proceso en una etapa ( $2.7 \pm 0.4 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y 85% respectivamente). El requerimiento de alcalinidad bicarbonática para mantener al índice alfa con valores cercanos a 0.4 en el proceso de dos etapas ( $0.3 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ ), fue 3 veces menor al de una etapa ( $0.9 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ ). Estas ventajas se deben a que el de dos etapas permite obtener materia soluble para el reactor metanogénico, tolera mayor carga orgánica y evita la acumulación de AGV (Demiler y Yenigün, 2002; Ghosh et al., 1995).

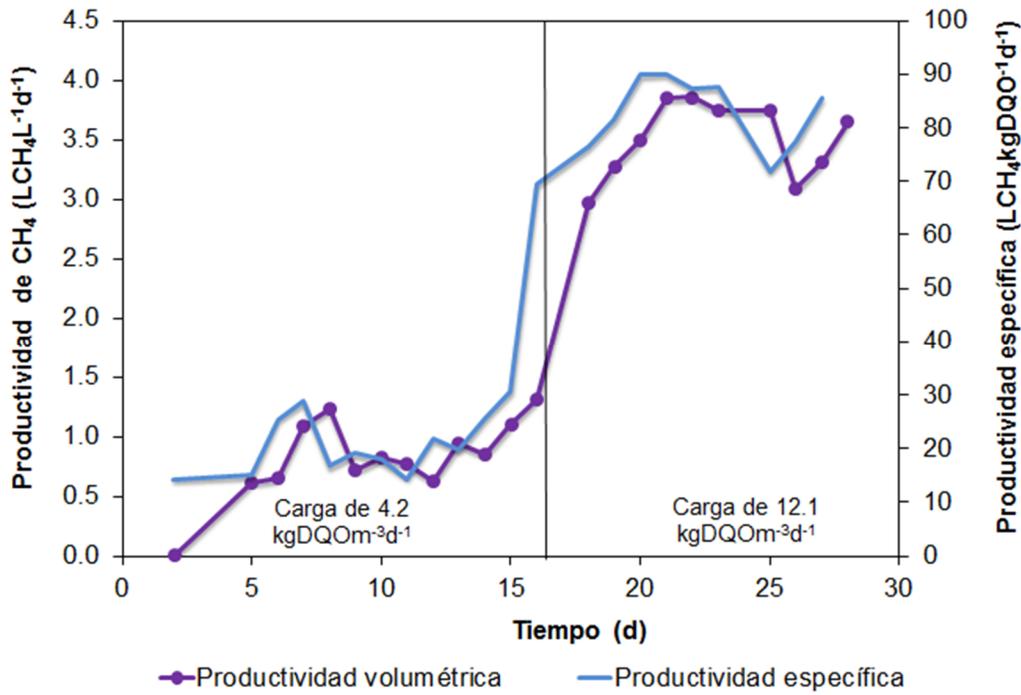


Figura 7.8 Productividad de CH<sub>4</sub> del sistema en dos etapas en mesofilia.

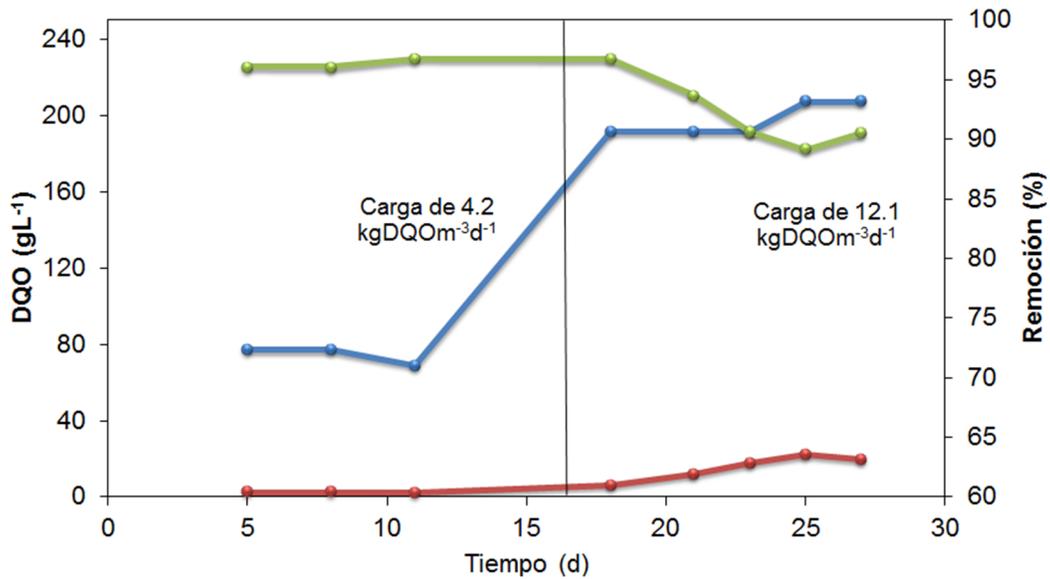


Figura 7.9 Remoción de materia orgánica del sistema en dos etapas en mesofilia.

## 7.4 Digestión anaerobia en dos etapas (acidogénico en mesofilia y metanogénico en termofilia)

Los resultados del sistema en mesofilia-termofilia en dos etapas se componen por los obtenidos del reactor acidogénico en mesofilia y del metanogénico en termofilia, ambos reactores fueron operados por separado. El efluente del reactor acidogénico, se utilizó para alimentar al metanogénico.

### Etapa acidogénica

El reactor acidogénico trabajó durante 114 días con tres cargas orgánicas de 53.5, 111.5 y 275.9 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>. Las primeras dos cargas fueron con un TRH de 2 días y la última con un TRH de 1 día. Su funcionamiento se presenta en la Figura 7.10 donde se observa la producción de AGV con cada una de las cargas utilizadas. Además, en la Tabla 7.2 se muestran los resultados en cuanto a % de acidificación y contenido de acetato en los AGV producidos.

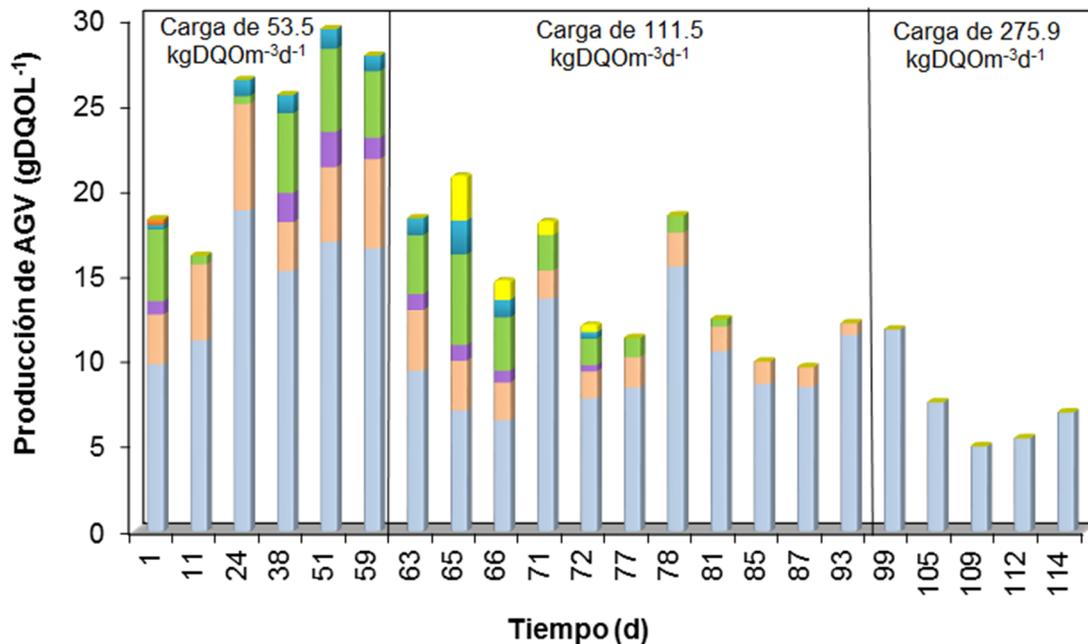


Figura 7.10 Producción de AGV del sistema acidogénico- metanogénico.

**Tabla 7.2 Resultados del reactor acidogénico.**

<b>Carga (kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)</b>	<b>TRH (d)</b>	<b>% de acidificación</b>	<b>% de acetato</b>
53.5	2	22	62
111.5	2	6	71
275.9	1	3	100

Considerando la Figura 7.10 y la Tabla 7.2, se puede observar que la carga orgánica de 53.5 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> presentó mayor producción de AGV, puesto que del 100% de la DQO alimentada, 22% se convirtió en AGV de los cuales el 62% resultó ser acetato; sin embargo, los efluentes tuvieron que ser diluidos. En cambio, con la carga orgánica de 111.5 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> se utilizaron efluentes concentrados y se obtuvo menor porcentaje de acidificación, pero mayor contenido de acetato (71%) lo cual puede favorecer la metanogénesis y en consecuencia aumentar la producción de CH<sub>4</sub>.

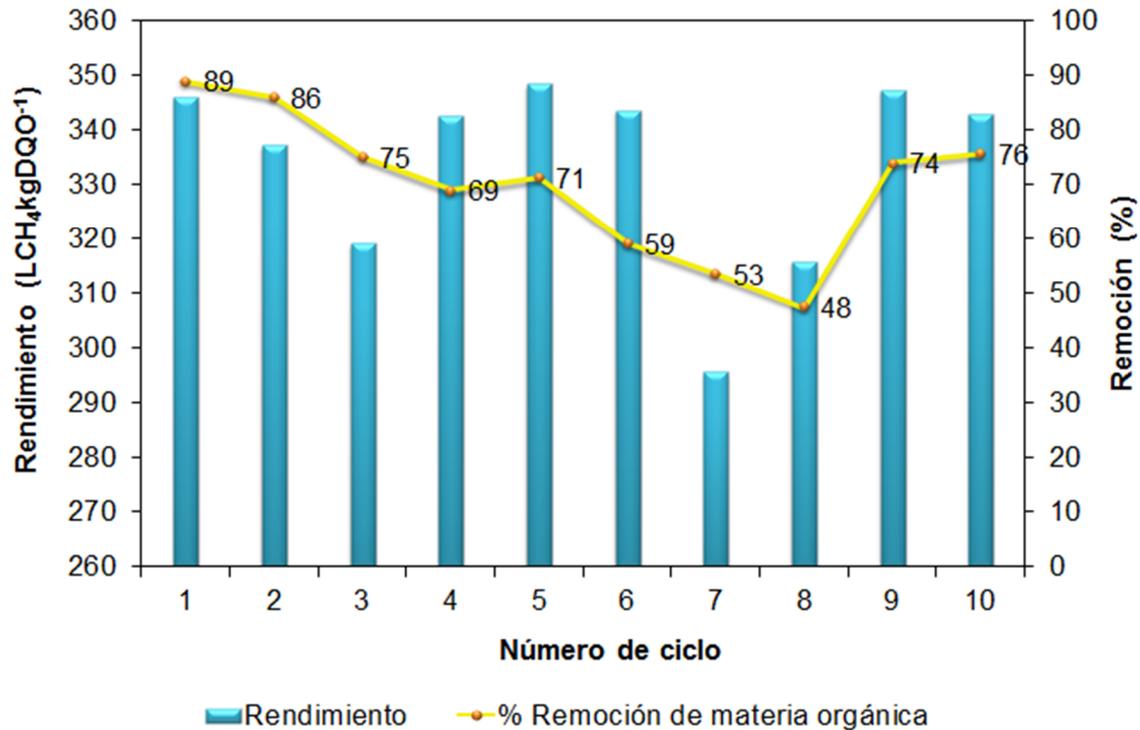
Para alcanzar la carga orgánica de 275.9 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> se utilizaron efluentes concentrados y se utilizó un TRH de 1 día. Con estas condiciones se logró obtener 100% de acetato, sin embargo trabajar con este TRH no es conveniente porque el porcentaje de acidificación es únicamente del 3% y lo que se pretende con este reactor es obtener un efluente con alto contenido de AGV que facilite la metanogénesis.

Los resultados anteriores, indican que la hidrólisis y la acetogénesis que se llevan a cabo en este reactor dependen del TRH y la carga orgánica. Y que a TRH bajos y altas cargas orgánicas gran parte del material particulado de los efluentes vitivinícolas no se convierte eficientemente a acetato. La mejor condición de operación fue la intermedia (Tabla 7.3), porque permitió tratar un efluente vitivinícola sin dilución y produjo alto grado de acidificación.

### **Etapa metanogénica**

La adaptación de los microorganismos metanogénicos en termofilia al efluente acidogénico, se realizó operando al reactor como SBR durante 160 días con 2 ciclos de 10 gDQOL<sup>-1</sup> y 8 ciclos de 20 gDQOL<sup>-1</sup>. Este periodo de aclimatación fue mayor al requerido para los microorganismos mesofílicos que se lograron adaptar en 19 días con 2 ciclos como SBR; por lo tanto, para trabajar en termofilia, se debe considerar que la fase de estabilidad no será inmediata.

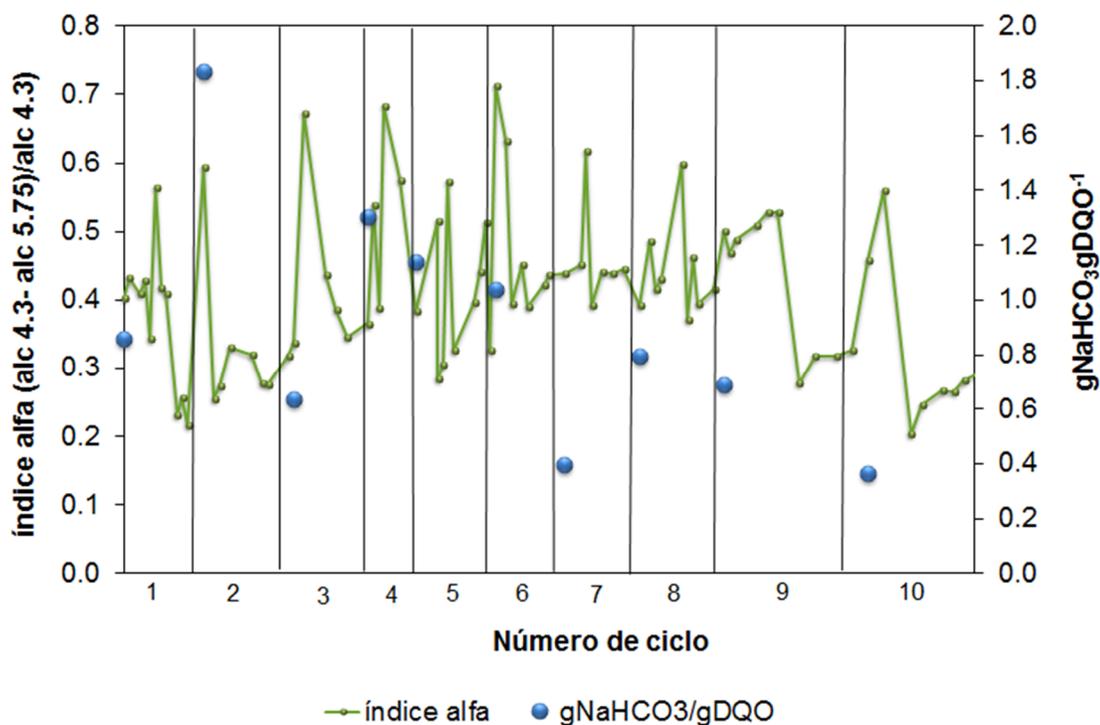
Los resultados de esta aclimatación se aprecian en la Figura 7.11, donde se muestran el rendimiento de CH<sub>4</sub> y la remoción de materia orgánica en cada ciclo. Se observa que al aumentar la concentración de DQO, disminuyó el rendimiento y el porcentaje de remoción de materia orgánica. En esto también influyó la concentración de lodos que era de 11 gSTVL<sup>-1</sup>, por lo que se optó por adicionar más lodo hasta llegar a una concentración de 19 gSTVL<sup>-1</sup>. El lodo agregado fue lodo granular anaerobio proveniente de una planta cervecera que ya tenía 3 meses reservado a 55°C. Con esta estrategia se logró mejorar los resultados llegando en el último ciclo a un rendimiento de 343 LCH<sub>4</sub>kgDQO<sup>-1</sup> y una remoción de materia orgánica del 76%.



**Figura 7.11 Resultados de la aclimatación de los microorganismos termofílicos.**

La Figura 7.12 presenta el comportamiento del índice  $\alpha$  durante la aclimatación de los microorganismos metanogénicos en condiciones termofílicas. Y se observa que la adición de  $\text{NaHCO}_3$ , permitió mantener al índice  $\alpha$  con valores cercanos a 0.4. También se observa que el requerimiento de  $\text{NaHCO}_3$  en los últimos 2 ciclos fue menor, debido a que incrementó la capacidad buffer del sistema. Considerando el rendimiento obtenido en los últimos 2 ciclos, se procedió a incrementar la carga orgánica.

El reactor siguió operando como SBR porque ha resultado mas eficiente que un proceso continuo para producir biogás (Risberg et al., 2013), remover materia orgánica y eliminar compuestos complejos como diesel (Cassidy et al., 2000), fenol y cianuros (Papadimitriou et al., 2009). Estas ventajas pueden deberse a que el SBR tiene periodos de ayuno que ocasionan que los microorganismos incrementen su capacidad para asimilar y acumular alimento, favoreciendo así el consumo de sustrato y la producción de metano (Martins et al., 2003).



**Figura 7.12 Índice alfa durante la aclimatación los microorganismos termófilicos.**

El reactor metanogénico en termofilia estuvo trabajando como SBR durante 37 días (16 días con una carga orgánica de  $4.9 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  y un TRH de 20 días; 7 días con una carga orgánica de  $9.7 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  y un TRH de 10 días; y 13 días con una carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  y un TRH de 7 días).

La operación del reactor con las cargas de  $4.9$  y  $9.7 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  se realizó alimentando al reactor 4 veces por día (Figura 7.13). Se observó una mejora en la eficiencia del proceso al aumentar la carga orgánica (pasando de un TRH de 20 a 10 días). Con la carga orgánica de  $4.9 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ , las productividades volumétrica y específica resultaron de  $1.6 \pm 0.2 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y  $14 \pm 1.6 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$  respectivamente, mientras que con la carga orgánica de  $9.7 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  fueron de  $2.9 \pm 0.2 \text{ m}^3\text{CH}_4\text{m}^{-3} \text{d}^{-1}$  y  $29 \pm 2 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$ . Esta mejora en el proceso se confirma con el incremento en el rendimiento que pasó de  $175 \pm 16$  a  $208 \pm 19 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ .

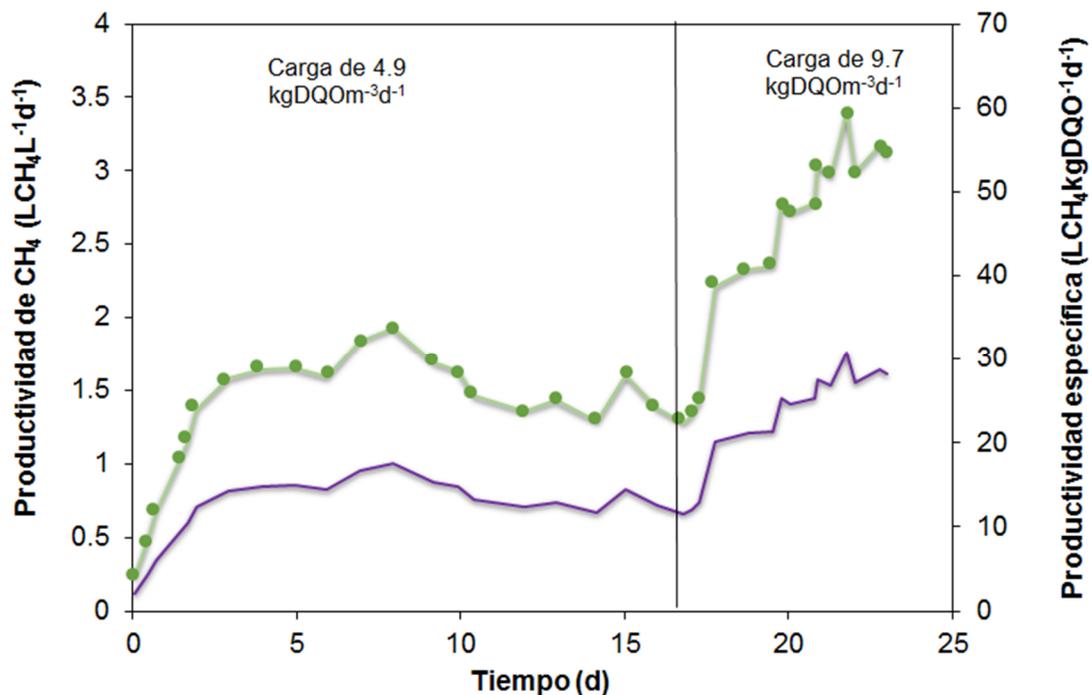


Figura 7.13 Productividad de CH<sub>4</sub> en termofilia con 4.9 y 9.7 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>

La Figura 7.14 presenta el comportamiento del índice  $\alpha$  con las cargas de 4.9 y 9.7 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> y se puede apreciar que al aumentar la carga orgánica, el índice  $\alpha$  incrementó debido al aumento en la concentración de AGV en la alimentación. Sin embargo, agregando 0.3 gNaHCO<sub>3</sub>gDQO<sup>-1</sup>, se logró mantener al índice  $\alpha$  cercano a 0.6 que es el valor recomendado por Boncz y colaboradores (2012) para la digestión anaerobia de vinazas.

La Figura 7.15 presenta la remoción de materia orgánica y se observa que la remoción promedio para la carga orgánica de 4.9 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> fue de 93% (con una velocidad de remoción de  $5.1 \pm 0.8$  gDQOL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>), mientras que para la de 9.7 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> resultó de 87% (con una velocidad de remoción de  $9 \pm 0.3$  gDQOL<sup>-1</sup>d<sup>-1</sup>). Esto indica que al disminuir el TRH a 10 días para tener la carga orgánica de 9.7 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>, se reduce el tiempo para que los microorganismos puedan degradar más materia orgánica.

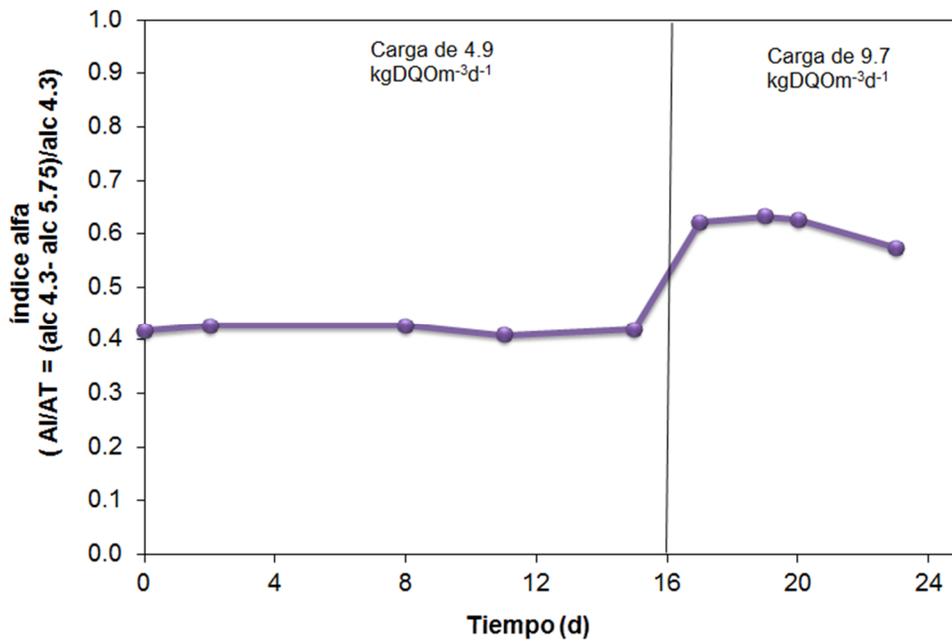


Figura 7.14 Índice alfa en termofilia con 4.9 y 9.9 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>.

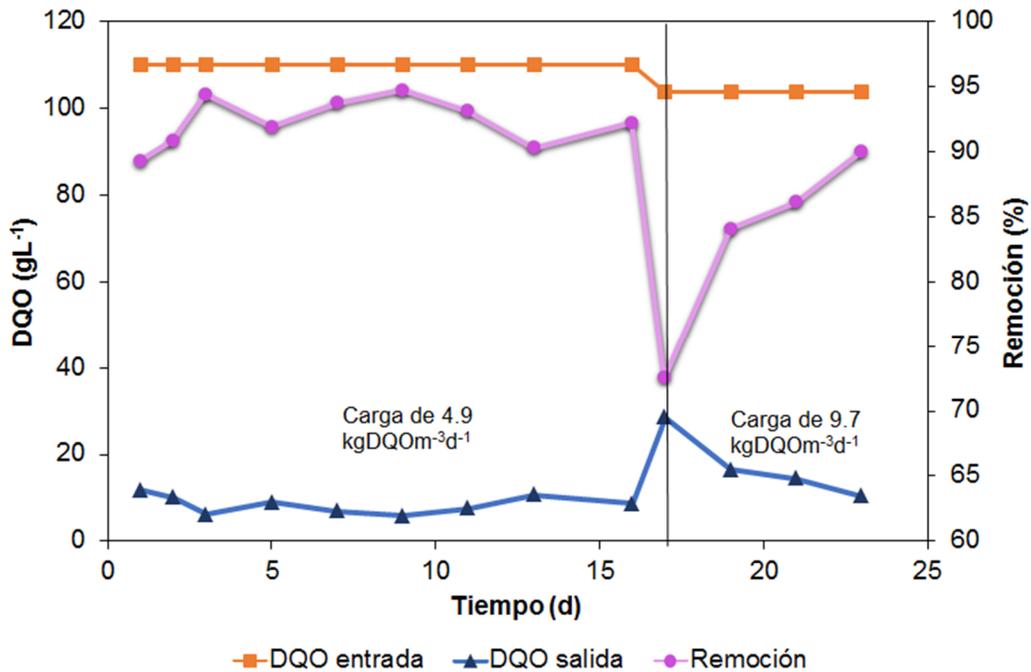


Figura 7.15 Remoción de materia orgánica en termofilia con 4.9 y 9.9 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>.

La operación del reactor metanogénico en termofilia con la carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  y TRH de 7 días, tuvo una duración de 13 días, dividida en 3 experimentos donde se varió el número de ciclos por día (4, 8 y 16 ciclos $\text{d}^{-1}$ ).

Las Figuras 7.16, 7.17 y 7.18 muestran la productividad de  $\text{CH}_4$  y el índice  $\alpha$  de cada experimento. En estas figuras se observa que cuando el índice  $\alpha$  incrementaba debido a la alta concentración de AGV, la productividad disminuía, por lo que fue necesario adicionar  $0.5 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$  para reducir el índice  $\alpha$ .

La Tabla 7.3 presenta los resultados obtenidos con cada experimento en cuanto a productividad, rendimiento de  $\text{CH}_4$  y remoción de materia orgánica. La Figura 7.19 presenta la remoción de materia orgánica. Esta información permite observar que cuando el reactor trabajó con 4 ciclos al día, se obtuvo una productividad volumétrica de  $8.2 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ , una productividad específica de  $39.8 \pm 1.5 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$ , un rendimiento de  $235 \pm 14 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$  y una remoción de materia orgánica de 70% (con una velocidad de remoción de  $20 \pm 0.7 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ ). En cambio, al incrementar la frecuencia de los ciclos, esos valores disminuyeron llegando en el experimento 3 a  $1.9 \pm 0.1 \text{ L}^3\text{CH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ ,  $9.8 \pm 0.6 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}\text{d}^{-1}$ ,  $95 \pm 21 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$  y 62% (con una velocidad de remoción de  $18 \pm 0.2 \text{ gDQOL}^{-1}\text{d}^{-1}$ ). Este resultado es interesante, pues al aumentar la frecuencia de alimentación, la operación del reactor va cambiando de un SBR hasta parecerse cada vez más a un CSTR.

Los resultados de este trabajo indican que la configuración SBR con menor frecuencia en la alimentación (4 veces al día) es más conveniente para el tratamiento de altas cargas orgánicas en termofilia que un sistema continuo. Esto puede deberse a que con un CSTR, hay pérdidas de biomasa en el efluente; mientras que en un SBR la biomasa sedimenta, permitiendo que los microorganismos tengan mayor tiempo de retención y en consecuencia se tengan comunidades microbianas más abundantes (Jung et al., 2017). También, al someter a los microorganismos a ayunos constantes, sus células tienen que acumular más sustrato ocasionando mayor remoción de materia orgánica y mayor producción de  $\text{CH}_4$  (Jung et al., 2017; Martins et al., 2003). Adicionalmente con el

tiempo de reacción que tiene el SBR se favorece la asimilación del acetato y la transformación de DQO particulada remanente en CH<sub>4</sub> (Papadimitriou et al., 2009).

Además al trabajar con menor número de ciclos se reduce la frecuencia en la alimentación, e incrementa la remoción de materia orgánica y la producción de biogás. Esto debido a que al alimentar a los microorganismos con menos frecuencia, se genera una comunidad microbiana más diversa y resistente a cambios bruscos (Guan et al., 2018; Li et al., 2018). Y se permite que los microorganismos tengan más tiempo para su crecimiento, favoreciendo a los metanogénicos que tienen tiempos de duplicación más lentos que los acidogénicos (Guan et al., 2018).

También al disminuir la frecuencia en la alimentación, el sustrato tiene más tiempo para ser degradado (Mulat et al., 2016). Adicionalmente, las interrupciones en el mezclado son menores favoreciendo que los microorganismos estén en contacto con el sustrato, lo consuman y produzcan más biogás (Bombardiere et al., 2007). Cabe mencionar que estas condiciones operacionales resultaron convenientes para el tratamiento de efluentes vitivinícolas, sin embargo los resultado podrían diferir si se utiliza un sustrato distinto o diferentes frecuencias de alimentación.

El biogás producido con este sistema acidogénico-mesofilia y metanogénico-termofilia resultó de buena calidad porque tenía 72% de CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>. Sin embargo se estimó un contenido de H<sub>2</sub>S de 2959 ppm en este biogás por lo que sería conveniente purificarlo antes de utilizarlo como biocombustible.

**Tabla 7.3 Resultados en termofilia con la carga de 30 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>.**

Experimento	Número de ciclos (d <sup>-1</sup> )	Productividad volumétrica (LCH <sub>4</sub> L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Productividad específica (LCH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> )	Rendimiento (LCH <sub>4</sub> kgDQO <sup>-1</sup> )	Remoción (%)
1	4	8.2 ± 0.3	39.8 ± 1.5	235 ± 14	70
2	8	2.05 ± 0.1	10 ± 0.5	94 ± 3.9	64
3	16	1.9 ± 0.1	9.8 ± 0.6	95 ± 21	62

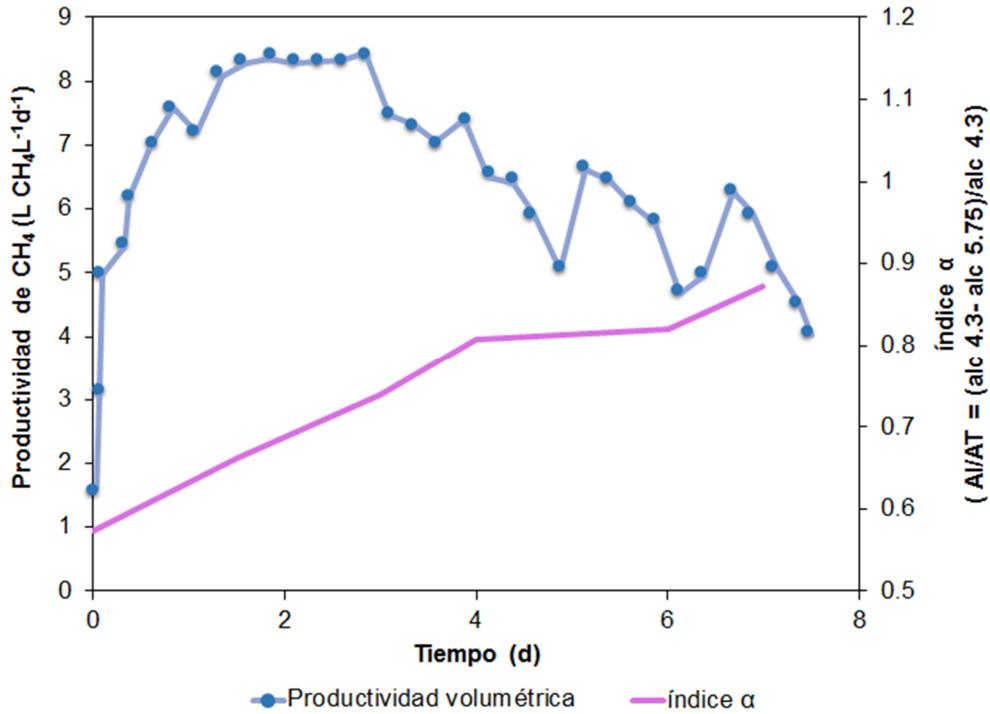


Figura 7.16 Productividad e índice  $\alpha$  con la carga de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  y  $4 \text{ ciclos d}^{-1}$ .

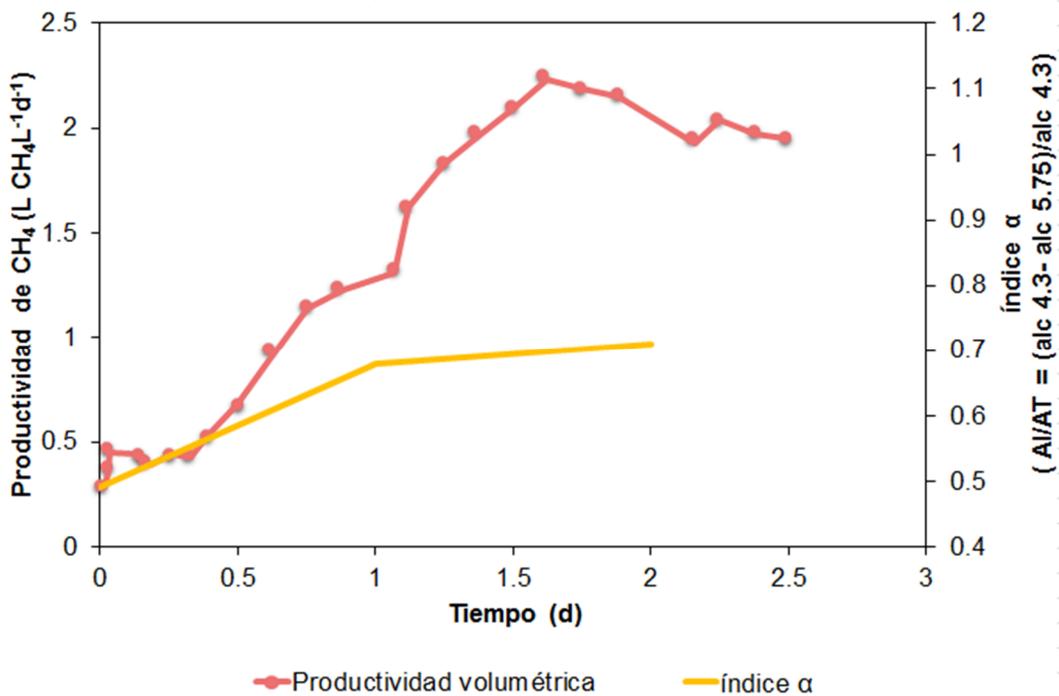


Figura 7.17 Productividad e índice  $\alpha$  con la carga de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  y  $8 \text{ ciclos d}^{-1}$ .

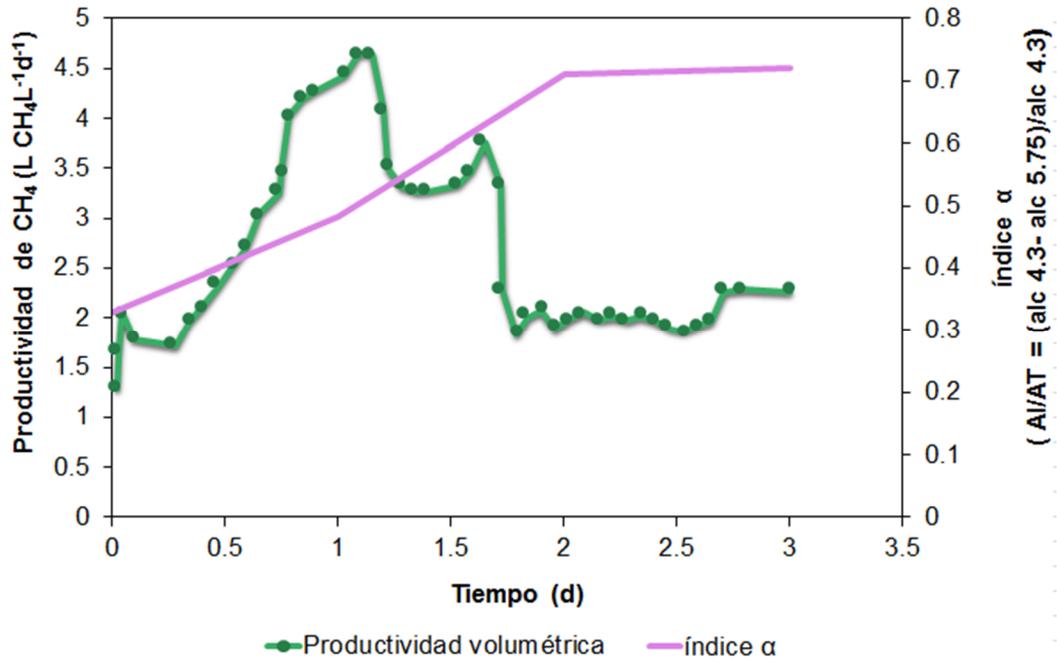


Figura 7.18 Productividad e índice  $\alpha$  con la carga de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3} \text{d}^{-1}$  y  $16 \text{ ciclos d}^{-1}$ .

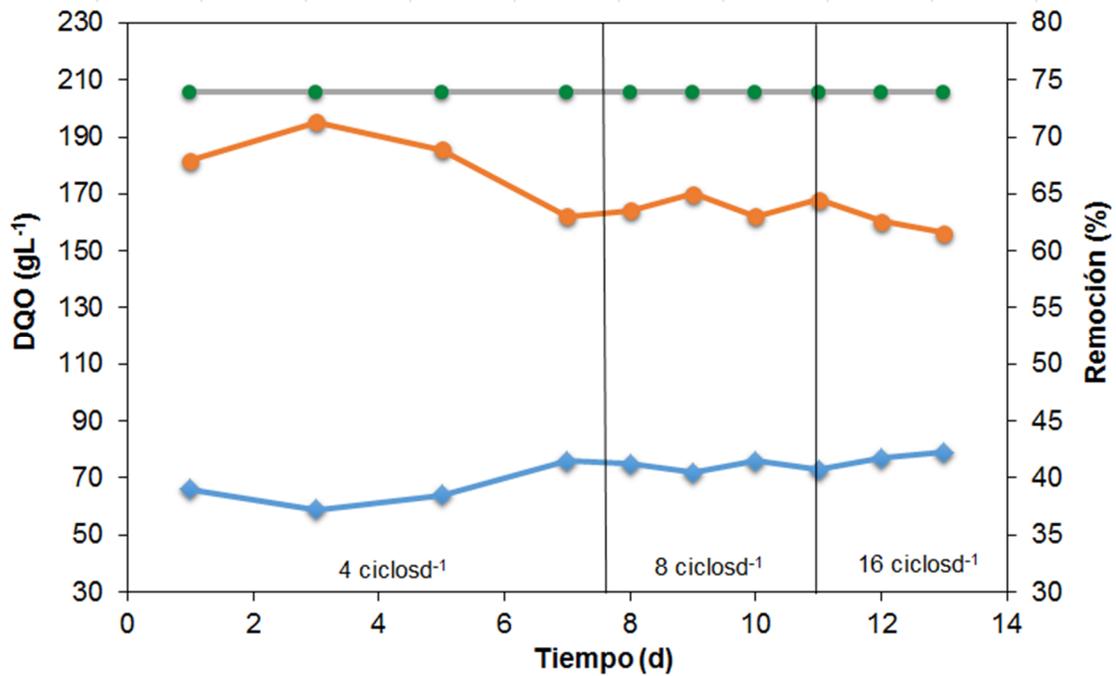


Figura 7.19 Remoción de materia orgánica con la carga de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3} \text{d}^{-1}$  en termofilia.

## 7.5 Balance energético y comparación de los sistemas probados

La Tabla 7.4 presenta la comparación en cuanto a rendimiento, productividad, remoción de materia orgánica y adición de alcalinidad de los tres sistemas probados en este trabajo y de otros trabajos que han llevado a cabo digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas.

El tratamiento de efluentes vitivinícolas con un proceso de una etapa en mesofilia es posible puesto que se obtienen valores de rendimiento y productividad ( $318 \pm 18 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$  y  $2.7 \pm 0.4 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  respectivamente) mayores a los obtenidos en otros trabajos en los que operan un solo reactor, como es el caso de Yang y colaboradores (2011) que obtuvieron  $182 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$  y  $1.6 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  respectivamente.

Tabla 7.4 Comparación de procesos de digestión anaerobia de efluentes vitivinícolas.

Referencia	Experimento	Carga ( $\text{kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ )	Rendimiento ( $\text{LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ )	Productividad ( $\text{LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ )	Remoción (%)	Adición de alcalinidad ( $\text{gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ )
Este trabajo	Una etapa (mesofilia)	9.6	$318 \pm 18$	$2.7 \pm 0.4$	85	0.9
	Dos etapas (mesofilia)	12.1	$289 \pm 23$	$3.1 \pm 0.3$	92	0.3
	Dos etapas (mesofilia- termofilia)	9.7	$208 \pm 19$	$2.9 \pm 0.2$	87	0.3
		30	$235 \pm 14$	$8.2 \pm 0.3$	70	0.5
Buitrón et al., 2019	Dos etapas (mesofilia)	10.1	330	$3.3 \pm 0.5$	96	-
		30	174	$5.2 \pm 2$	97	-
Yang et al.,2011	Filtro anaerobio (mesofilia)	9	182	1.6	61	-
Da Ros et al., 2017	CSTR (termofilia)	3.2	279	0.9	88	-

Al comparar los resultados del sistema en una etapa con el proceso de dos etapas en mesofilia de este trabajo, se observa que el proceso en una etapa resulta menos conveniente debido a que tiende a acidificarse ocasionando que la adición de alcalinidad sea 3 veces mayor, no tolere altas cargas orgánicas, se obtenga una productividad 1.14 veces menor y la energía neta obtenida sea 1.19 veces menor.

El sistema de dos etapas en mesofilia comparado con el de dos etapas (mesofilia-termofilia), al trabajar con carga orgánica cercana a  $10 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  arroja resultados similares en cuanto a productividad, remoción de materia orgánica, adición de alcalinidad y producción neta de energía.

Al trabajar con una carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  los resultados de rendimiento, productividad y producción neta de energía resultaron comparables con el trabajo de Buitrón y colaboradores (2019) que trabajaron con las mismas condiciones pero en mesofilia. Contrastando los resultados de ambos trabajos, en termofilia el rendimiento, la productividad y la producción neta de energía resultan 1.4, 1.6 y 1.5 veces superiores que en mesofilia.

Los resultados del balance energético se presentan en la Tabla 7.5 donde se muestran la producción de energía, el consumo y la producción neta de energía de cada uno de los sistemas probados en este trabajo junto con los resultados que se obtienen con el trabajo de Buitrón y colaboradores (2019) con el sistema de dos etapas en mesofilia con la carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ .

**Tabla 7.5 Resultados del balance energético.**

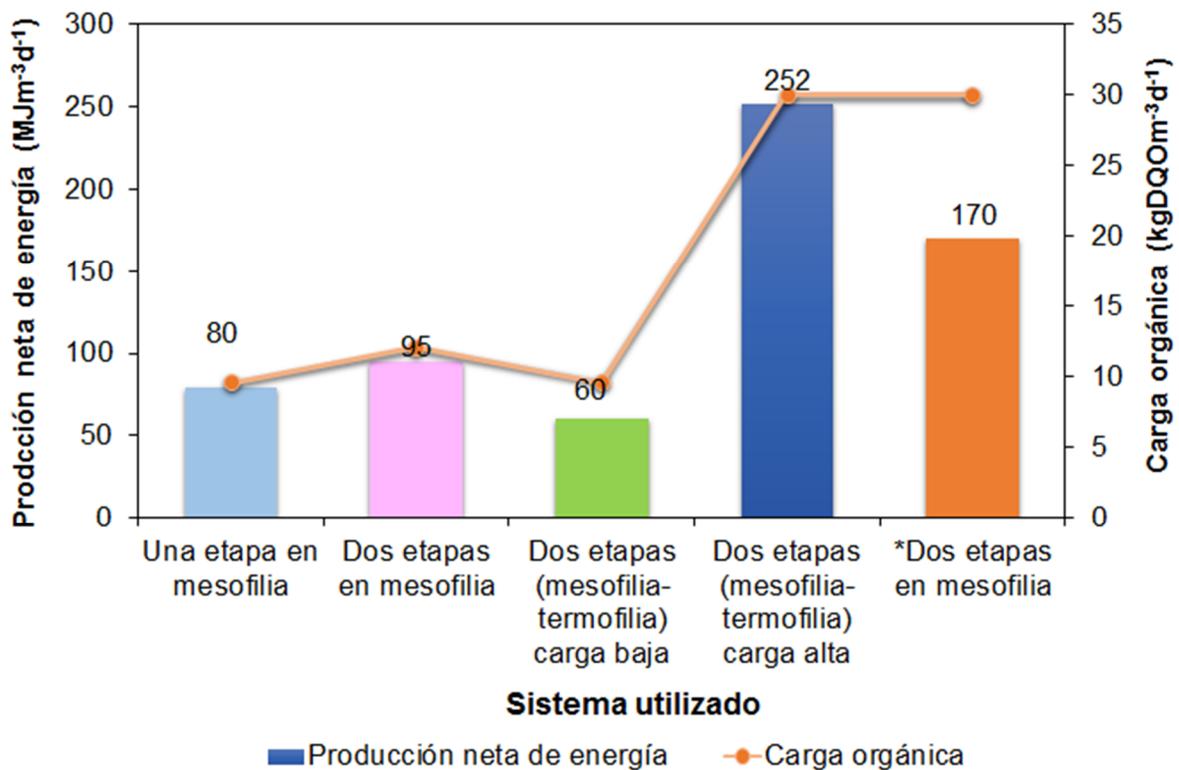
<b>Proceso</b>	<b>Carga (kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)</b>	<b>Producción de energía (MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)</b>	<b>Consumo de energía (MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)</b>	<b>Producción neta de energía (MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>)</b>
Una etapa en mesofilia	9.6	98	18	80
Dos etapas en mesofilia	12.1	113	18	95
Dos etapas (mesofilia-termofilia)	9.7	105	54	60
Dos etapas (mesofilia-termofilia)	30	296	54	252
*Dos etapas en mesofilia	30	188	18	170

\*Utilizando la productividad alcanzada por Buitrón y colaboradores (2019).

En la Figura 7.20 se visualiza la producción neta de energía de cada uno de estos sistemas. En la cual, se puede observar que la energía que se obtuvo con el sistema en una etapa en mesofilia (80 MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>), es 1.2 veces menor a la del sistema mesofílico de 2 etapas (95 MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>). Esto indica que el proceso en dos etapas, a pesar de utilizar más energía para calentar dos reactores, genera más biogás que permite obtener energía adicional.

También en la Figura 7.20 se puede observar que la producción neta de energía que se obtiene al trabajar con un sistema de dos etapas (mesofilia-termofilia), con carga orgánica cercanas a 10 kgDQOm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup> (60 MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>) 1.6 veces menor que la que se obtiene en el mismo sistema en mesofilia (95 MJm<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>), esto debido a la energía que se requiere para mantener al reactor metanogénico operando a 55 °C.

Al comparar la energía neta producida en el sistema de dos etapas (mesofilia-termofilia) con carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  ( $252 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ), con la que se obtiene al utilizar la productividad alcanzada por Buitrón y colaboradores (2019) en un proceso de dos etapas en mesofilia con carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  ( $170 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ), se observa que la obtenida en el proceso mesofilia-termofilia es 1.5 veces mayor que en mesofilia. Por lo tanto, el proceso que más energía neta permite obtener con estos efluentes (que tienen alto contenido de materia orgánica) es el de dos etapas, operando al reactor acidogénico en mesofilia y al metanogénico en termofilia.



\*Utilizando la productividad alcanzada por Buitrón y colaboradores (2019).

**Figura 7.20 Producción neta de energía en los sistemas probados.**

## 8. Conclusiones

- El tratamiento de efluentes vitivinícolas mediante un sistema de dos etapas operando al reactor acidogénico en mesofilia y al metanogénico en termofilia, resultó ser el proceso más conveniente porque logró tratar una carga orgánica de hasta  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ . El incremento de la temperatura en el reactor metanogénico permitió obtener una remoción de materia orgánica de hasta 70%. Alcanzó una productividad de  $8.2 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  que es 1.6 veces mayor a lo obtenido con el mismo proceso en mesofilia. Logró un rendimiento de  $235 \pm 14 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$  que fue 1.4 veces mayor que en mesofilia ( $174 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ ). Y generó energía ( $252 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) que es 1.5 veces mayor que en mesofilia con la misma carga ( $170 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ).
- El tratamiento de efluentes vitivinícolas mediante un sistema acoplado en dos etapas en mesofilia resultó adecuado y robusto pues permite tratar mayores cargas orgánicas con menor adición de alcalinidad ( $0.3 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ ) que el proceso de una etapa ( $0.9 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ ). Se obtuvo un rendimiento de  $208 \pm 19 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una productividad volumétrica de  $3.1 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y una remoción de materia orgánica del 92%.
- Con cargas orgánicas bajas (cercanas a  $10 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) no se observó mejora significativa en el proceso metanogénico-termofílico con respecto al mesofílico. Bajo estas condiciones la productividad y rendimiento fueron de  $2.9 \pm 0.2 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y  $208 \pm 19 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , respectivamente. Sin embargo, con el incremento de la carga orgánica hasta  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  en el reactor metanogénico, se observó una mejora para el proceso termofílico. Se obtuvo un rendimiento de  $235 \pm 14 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una productividad volumétrica de  $8.2 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y una remoción de materia orgánica del 70%.
- El sistema de dos etapas (mesofilia-termofilia) produce más energía neta que el resto de los sistemas operando al reactor como SBR, puesto que la

producción neta de energía con el proceso de dos etapas en termofilia con la carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  ( $252 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) es 2.6 veces superior a la obtenida en mesofilia con la carga orgánica de  $12.1 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  ( $95 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) y 1.5 veces mayor a la que se obtendría con el trabajo de Buitrón y colaboradores (2019) en mesofilia con la carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$  ( $170 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ).

- El tratamiento de efluentes vitivinícolas mediante digestión anaerobia en una etapa en mesofilia es un proceso inestable, pues requiere de la alta adición de alcalinidad ( $0.9 \text{ gNaHCO}_3\text{gDQO}^{-1}$ ) para mantener su eficiencia. Bajo estas condiciones se alcanzó un rendimiento de  $318 \pm 18 \text{ LCH}_4\text{kgDQO}^{-1}$ , una productividad volumétrica de  $2.7 \pm 0.4 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  y una remoción de materia orgánica de 85%.
- La configuración en SBR con menor frecuencia en la alimentación (4 veces al día) resultó más conveniente para el tratamiento de efluentes vitivinícolas en termofilia con la carga orgánica de  $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ , puesto que permitió obtener 4.3 veces más productividad que cuando se operó con la mayor frecuencia (16 veces al día). Se obtuvo  $8.2 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  con la frecuencia baja y  $1.9 \pm 0.1 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$  con la frecuencia alta. Esto puede deberse a que con menor frecuencia de alimentación, se provocaron más ayunos, lo cual pudo generar una comunidad microbiana más diversa, tolerante a los cambios y con mayor capacidad para asimilar y almacenar al sustrato.
- El proceso de dos etapas en mesofilia permitió obtener energía para cubrir el calentamiento de dos reactores y energía adicional ( $95 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ) que es 1.2 veces superior a la obtenida en una etapa en mesofilia ( $80 \text{ MJm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ).
- La digestión anaerobia mediante un proceso de dos etapas (acidogénesis en mesofilia y metanogénesis en termofilia) además de tratar altas cargas orgánicas ( $30 \text{ kgDQOm}^{-3}\text{d}^{-1}$ ), permite obtener energía renovable en forma de  $\text{CH}_4$  ( $8.2 \pm 0.3 \text{ LCH}_4\text{L}^{-1}\text{d}^{-1}$ ). El proceso permitió reducir la concentración

de materia orgánica de 260 a 78 gDQOL<sup>-1</sup>. Este efluente se podría utilizar en riego agrícola, sin embargo; para utilizarlo en otros procesos se debe reducir la concentración de materia orgánica. Por ello se sugiere un pos tratamiento como lagunas o humedales para abatir la concentración residual.

- Los objetivos de este proyecto se cumplieron en su totalidad. Con los resultados obtenidos se aceptó la hipótesis planteada porque se comprobó que el incremento en la temperatura aceleró las reacciones enzimáticas ocasionando un incremento del 60% en la productividad de CH<sub>4</sub>.

## 9. Productos del proyecto de investigación

### 9.1 Presentaciones en congresos

- Vital-Jacomé, M., Cazares-Granillo, M., & Buitrón, G. Methane production from highly concentrated red wine wastewater. 9th IWA Specialized Conference on Sustainable Viticulture, Winery Wastes and Agri-industrial Wastewater Management. Mons, Belgium. Del 03 al 05 de Julio de 2019.
- Cazares-Granillo, M., Moreno, G. & Buitrón, G. Influencia de la alcalinidad en la producción de metano empleando efluentes vitivinícolas. XVIII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. León, Guanajuato. Del 23 al 28 de Junio de 2019. Póster.

### 9.2 Artículos publicados

- Vital-Jacomé, M., Cazares-Granillo, M., Carrillo-Reyes, J. & Buitrón, G. (2020). Characterization and anaerobic digestion of Mexican highly concentrated wine by-products and effluents. Water Science & Technology. 81.1. pg. 190-198.

## 10. Referencias bibliográficas

- Ahring, B. K., Sandberg, M., & Angelidaki, I. (1995). Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Appl Microbiol Biotechnol*, 43(13), 559–565. <https://doi.org/10.1007/bf00218466>
- Aita, B. C., Mayer, F. D., Muratt, D.T., Brondani, M., Pujol, S. B., Denardi, L. B., Hoffmann, R., & da Silveira, D. (2016). Biofiltration of H<sub>2</sub>S-rich biogas using *Acidithiobacillus thiooxidans*. *Clean Techn Environ Policy* 18:689–703.
- Akunna J. C. (2018). Anaerobic waste-wastewater treatment and biogas plants: a practical handbook. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Andreottola, G., Foladori, P., Nardelli, P., & Denicolo, A. (2005). Treatment of winery wastewater in a full-scale fixed bed biofilm reactor. *Water Sci. Technol.*, 51(1), 71–79.
- Andreottola, G., P., F., & Ziglio, G. (2009). Biological treatment of winery wastewater: an overview. *Water Science & Technology*, 60(5), 1117–1125.
- Andriani, D., Wresta, A., Atmaja, T., & Saepudin, A. (2014). review on optimization production and upgrading biogas through CO<sub>2</sub> removal using various techniques. *Appl Biochem Biotechnol*, 172, 1909–1928.
- APHA (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public 25 Health Association (APHA): Washington, DC, USA.
- Arvanitoyannis, I. S., Ladas, D., & Mavromatis, A. (2006). Wine waste treatment methodology. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(10), 1117–1151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.01112.x>

- Barros, V. G., Duda, R. M., Vantini, J.S., Omori, W.P., Ferro, M.I.T., Oliveira, R.A. (2017). Improved methane production from sugarcane vinasse with filter cake in thermophilic UASB reactors, with predominance of *Methanothermobacter* and *Methanosarcina* archaea and Thermotogae bacteria. *Bioresource Technology* 244 (July), 371–381.
- Bassani, I., Kougias, P. G., Treu, L., & Angelidaki, I. (2015). Biogas upgrading via hydrogenotrophic methanogenesis in two-stage Continuous Stirred Tank Reactors at mesophilic and thermophilic conditions. *Environ. Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b03451>
- Beck, C., Prades, G., & Sadowski, A. G. (2005). Activated sludge wastewater treatment plants optimisation to face pollution overloads during grape harvest periods. *Water Sci. Technol.*, 51(1), 81–88.
- Benitez, F., Real, F., Acero, J., Garcia, J. & Sanchez, M. (2003). Kinetics of the ozonation and aerobic biodegradation of wine vinasses in discontinuous and continuous processes. *Journal of Hazardous Materials*, 101, 203–218.
- Bolzonella, D., Fatone, F., Pavan, P. & Cecchi, F. (2010). In press. Application of a membrane bioreactor for winery wastewater treatment. *Water Sci Technol*, 62(12):2754-9. doi: 10.2166/wst.2010.645.
- Bolzonella, D., Papa, M., Ros, C. Da, Muthukumar, L. A., & Rosso, D. (2019). Critical Reviews in Biotechnology Winery wastewater treatment: a critical overview of advanced biological processes. *Critical Reviews in Biotechnology*, 39(4), 489–507. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1573799>
- Bombardiere, J., Espinosa-Solares, T., Domaschko, M., & Chatfield, M. (2007). Thermophilic anaerobic digester performance under different feed-loading frequency. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 137(1), 765-775.
- Bond, T., & Templeton, M. (2011). History and future of domestic biogas plants in the developing world. *Energy Sustain Dev*, 15, 347–354.

- Boncz M. A., Formagini E. L., Santos L. d. S., Marques R. D. and Paulo P. L. (2012). Application of urea dosing for alkalinity supply during anaerobic digestion of vinasse. *Water science and technology*, 66 (11), 2453-60.
- Bouskova, A., Dohanyos, 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, 1481–1488.
- Bryant, M. P., Wolin, E. A., Wolin, M. J., & Wolfe, R. S. (1967). Methanobacillus omelianskii, a symbiotic association of two species of bacteria. *Archives of Microbiology*, 59, 20–31.
- Bueno, P.C., Martín, J.A., García, R., & Jiménez, R. (2009). Impacts caused by the addition of wine vinasse on some chemical and mineralogical properties of a Luvisol and a Vertisol in La Mancha (Central Spain). *Journal of Soils and Sediments*, 9, 121-125.
- Buhr, H., & JF Adrews, J. F. (1977). El proceso de digestión anaeróbica termofílica: review paper. *Water Research*, 11, 129-143.
- Buitrón, G., Ojeda, F., & Martínez-Valdez, F. J. (2019). Biogas Production from a Highly Organic Loaded Winery Effluent 6 Through a Two-Stage Process. *BioEnergy Research*.
- Bundhoo, M. & Mohee, R. Inhibition of dark fermentative bio-hydrogen production: A review. *International Journal of Hydrogen Energy*, 41, 6713-6733.
- Carpenter, A., Laughton, S., & Wiesner, M. (2015). Enhanced biogas production from nanoscale zero valent iron-amended anaerobic bioreactors. *Environ Eng Sci*, 32, 647–655.
- Carrillo-Reyes, J., Albarrán-Contreras, B. A. & Buitrón, G. (2019). Influence of added nutrients and substrate concentration in biohydrogen production from winery wastewaters coupled to methane production. *Applied biochemistry and biotechnology* 187(1), 140-51.

- Cassidy, D. P., Efendiev, S., & White, D. M. (2000). A comparison of CSTR and SBR bioslurry reactor performance. *Water Research*, 34 (18), 4333-4342.
- Cea-Barcia, G., Moreno, G., & Buitrón, G. (2015). Anaerobic digestion of mixed microalgae cultivated in secondary effluent under mesophilic and thermophilic conditions. *Water Science & Technology*. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.344>
- Chernicharo, C. (1997). Princípios do tratamento biológico de águas residuárias. Universidade Federal de Minas Gerais. *Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental*. Vol V. Brasil.
- Cruz, R. L., Righetto, A. M., & Nogueira, M. A. (1991). Experimental investigation of soil and groundwater impacts caused by vinasse disposal. *Water Science and Technology*, 24 (11), 77-85.
- Da Ros, C., Cavinato, C., Pavan, P., & Bolzonella, D. (2017). Mesophilic and thermophilic anaerobic co-digestion of winery wastewater sludge and wine lees: An integrated approach for sustainable wine production. *Journal of Environmental Management*, 203, 745–752.
- Daffonchio, D., Colombo, M., Origgi, G., Sorlini, C., & Andreoni, V. (1998). Anaerobic digestion of winery wastewaters derived from different wine making processes. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 33 (8), 1753–1770.
- Demirbas, A. (2008). Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections. *Energy Conversion and Management*, 49(8), 2106-2116.
- Demirel, B., & Yenigün, O. (2002). Two-phase anaerobic digestion processes: a review. *Chem Technol Biotechnol*, 77, pp. 743-755.
- Djalma, A., Koyama, M., M. M., & Zaiat, M. (2016). Thermophilic anaerobic digestion of raw sugarcane vinasse. *Renewable Energy*, 89, 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.11.064>

- Doran, P. M. (1995). Bioprocess engineering principles. *Elsevier Science & Technology Books*. 333-345.
- 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. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- EIA. (2020). U.S. Energy Information Administration. International Energy Outlook. (p. 10). Recuperado de <https://www.eia.gov/outlooks/ieo/>
- Engqvist, M. K. M. (2018). Correlating enzyme annotations with a large set of microbial growth temperatures reveals metabolic adaptations to growth at diverse temperatures. *BMC Microbiology*, 18(1), 1–14.
- Enzmann, F., Mayer, F., Rother, M., & Holtmann, D. (2018). Methanogens: biochemical background and biotechnological applications. *AMB Express*, 8(1), 1–23. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0531-x>
- Figuroa-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.
- Font, I., Gudiño, P., & Sánchez, A. (2008). La Industria Vinícola Mexicana y las Políticas Agroindustriales: Panorama General. *Redpol*, (2), 30.
- Galazzo, Y., & Rochard, J. (2004). Energy consumption for wine producing wastewater treatment plants. In *Wastes Management*, 333–334. Barcelona, España.
- Ghosh, S., & Pohland, F.G. (1974). Kinetics of substrate assimilation and product formation in anaerobic digestion. *Water Pollution Control Federation*, (46), 748–759.

- Ghosh, S., Bouy, K., Dressel, L., Miller, T., Wilcox, G., & Loos, D. (1995). Pilot- and a fullscale two-phase anaerobic digestion of municipal sludge. *Water Environment Research*, 2, 206–214.
- Griffin, M. E., McMahon, K. D., Mackie, R. I., & Raskin, L. (1998). Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids. *Biotechnol. Bioeng*, 3, 342–355.
- Guan, R., Yuan, H., Wachemo, A. C., Li, X., Zuo, X., Zou, D., Gu, J. (2018). Effect of narrow feeding regimes on anaerobic digestion performance and microbial community structure of rice straw in continuously stirred tank reactors. *Energy & Fuels*, 32(11), 11587-11594.
- Gujer, W., & Zehnder, A. J. B. (1983). Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Sci Technol*, 15, 8–9.
- Guneratnam, A. J., Ahern, E., FitzGerald, J. A., Jackson, S. A., Xia, A., Dobson, A. D. W., & Murphy, J. D. (2017). Study of the performance of a thermophilic biological methanation system. *Bioresource Technology*, 225, 308–315. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.066>
- Guo, J. H., Peng, Y. Z., Ni, B. J., Han, X. Y., Fan, L., & Yuan, Z. G. (2015). Dissecting microbial community structure and methane-producing pathways of a full-scale anaerobic reactor digesting activated sludge from wastewater treatment by metagenomic sequencing. *Microb Cell Fact*, 14–33.
- Horan, N., Yaser, A. Z., & Wid, N. (2018). Anaerobic digestion processes: Applications and effluent treatment. SG: Springer.
- Hoyer, K., Hulteberg, C., Svensson, M., Jernberg, J., & Nörregård, O. (2016). Biogas upgrading - Technical Review. Energiforsk.
- Huang, L., Hwang, A., & Phillips, J. (2011). Effect of Temperature on Microbial Growth Rate-Mathematical Analysis: The Arrhenius and Eyring-Polanyi Connections. *Journal of Food Science*, 76(8), 553–560.

- Huguen, P., y Le Saux, G. (2010). Perspectives for a european standard on biomethane: a Biogasmax proposal.
- IEA (Energy information administration). (2017). Bioenergy. Plant Lists. Energy Outlook. Retrieved from <http://task37.ieabioenergy.com/plant-list.html>
- Ioannou, L. A., Puma, G. L., & Fatta-Kassinos, D. (2015). Treatment of winery wastewater by physicochemical, biological and advanced processes: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 286, 343-368. doi:10.1016/j.jhazmat.2014.12.043
- IRENA (International renewable energy agency). (2019). *Global Energy Transformation: A Roadmap to 2050*.
- Itoh, T., & Lino, T. (2013). Phylogeny and Biological Features of Thermophiles. En Satyanarayana, T., Kawarabayasi, Y., & Littlechild, J. (Eds.). *Thermophilic microbes in environmental and industrial biotechnology*. Springer, Segunda edición, 252-255.
- Jenkins, S.R., Morgan, J. M., & Sawyer, C. L. (1983). Monitoring anaerobic sludge digestion and growth by simple alkalimetric titration. *Water Pollution Control* 55 (5), 448-453.
- Jung, H., Kim, J., & Lee, C. (2017). Effect of enhanced biomass retention by sequencing batch operation on biomethanation of sulfur-rich macroalgal biomass: Process performance and microbial ecology. *Algal Research*, 28, 128-138.
- Kadam, R., & Panwar, N. L. (2017). Recent advancement in biogas enrichment and its applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 73, 892–903. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.01.167>
- Kim, M., Ahn, Y., & Speece, R. E. (2002). Comparative process stability and efficiency of anaerobic digestion; mesophilic vs . thermophilic, *Water Research* 36, 4369–4385.

- Lagrange, B. (1979). Biomethane. Principes, Techniques, Utilisation. Vol. 2. Edisual. Energies Alternatives.
- Li, Q., Yuwen, C., Cheng, X., Yang, X., Chen, R., & Wang, X. C. (2018). Responses of microbial capacity and community on the performance of mesophilic co-digestion of food waste and waste activated sludge in a high-frequency feeding CSTR. *Bioresource Technology*, 260, 85-94.
- Lindner, J., Zielonka, S., Oechsner, H., & Lemmer, A. (2016). Is the continuous two-stage anaerobic digestion process well suited for all substrates? *Bioresource Technology*, 200, 470–476.
- López, J., Morgan, J. M., & Noyola, A. (2000). Arranque De Reactores Anaerobios Industriales: Dos casos de estudio. *Ciencia, Conciencia y Compromiso Nacional Con El Medio Ambiente: Memorias Técnicas*, (5), 1–10.
- Lofrano, G., & Meric, S. (2015). A comprehensive approach to winery wastewater treatment: a review of the state-of the-art. *Desalination and Water Treatment*.
- Ludlow, J. M., & Clark, D. S. (1991). Engineering considerations for the application of extremophiles in biotechnology. *Critical Reviews in Biotechnology*, 10(4), 321–345. <https://doi.org/10.3109/07388559109038214>
- Madigou, C., Lê Cao, K.-A., Bureau, C., Mazéas, L., Déjean, S., & Chapleur, O. (2019). Ecological consequences of abrupt temperature changes in anaerobic digesters. *Chemical Engineering Journal*, 361, 266–277.
- Malandra, L., Wolfaardt, G., Zietsman, A., & Viljoen-Bloom, M. (2003). Microbiology of a biological contactor for winery wastewater treatment. *Water Research*, 37(17), 4125–4134.
- Martins, A.M.P., Heijnen, J.J., van Loosdrecht, M.C.M., (2003). Effect of feeding pattern and storage on the sludge settleability under aerobic conditions. *Water Res.* 37, 2555–2570.
- Massey, M.L., & Pohland, F.G., (1978). Phase separation of anaerobic

stabilization by kinetic controls. *Water Pollution Control Federation*, 50, (9), 2204–2222.

McCarty, P. L. (1964). Anaerobic waste treatment fundamentals. Part III: Toxic materials and their control. *Public Works* 91–94.

Metcalf, & Eddy. (1991). *Wastewater Engineering, Treatment, Disposal and Reuse*. McGraw-Hill. USA.

Moletta, R. (2005). Winery and distillery wastewater treatment by anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 51(1), 137–144.

Monge, M. A. (2017). Interpretación de un análisis de agua para riego. Restricciones en el uso del agua para riego. Recuperado de <https://www.iagua.es>

Moreno-Andrade, I., Moreno, G. & Quijano, G. (2019). Theoretical framework for the estimation of H<sub>2</sub>S concentration in biogas produced from complex sulfur-rich substrates. *Environmental Science and Pollution Research*.

Mosey, F. E. (1983). Mathematical modelling of the anaerobic digestion process: regulatory mechanisms for the formation of short chain volatile acids from glucose. *Wat. Sei. Tech.*, 15, 209–23.

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.

Mulat, D. G., Jacobi, H. F., Feilberg, A., Adamsen, A. P. S., Richnow, H. H., Nikolausz, M. (2016). Changing feeding regimes to demonstrate flexible biogas production: effects on process performance, microbial community structure, and methanogenesis pathways. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82 (2), 438–449.

Nishimura, N., Kitaura, S., Mimura, A., & Takahara, Y. (1972). Cultivation of thermophilic methanogen KN-15 on H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> under pressurized conditions. *J.*

*Ferment. Bioeng.*, 73, 477–480.

- Niu, Q., Hojo, T., Qiao, W., Qiang, H., & Li, Y. Y. (2014). Characterization of methanogenesis, acidogenesis and hydrolysis in thermophilic methane fermentation of chicken manure. *Chemical Engineering Journal*, 244, 587–596. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.11.074>
- Nogueira, C. E. C., de Souza, S. N. M., Micuanski, V. C., & Azevedo, R. L. (2015). Exploring possibilities of energy insertion from vinasse biogas in the energy matrix of Paraná State, Brazil. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 48, 300–305. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2015.04.023>
- OIV. (2017). The International Organisation of Vine and Wine. World production of wine. Recuperado de <http://www.oiv.int/es/statistiques/?year=2016&countryCode=MEX>.
- Papadimitriou, C. A., Samaras, P., & Sakellaropoulos, G. P. (2009). Comparative study of phenol and cyanide containing wastewater in CSTR and SBR activated sludge reactors. *Bioresource Technology*, 100(1), 31-37.
- 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. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i0.2445>
- Persson M, Jönsson O, Wellinger A (2006). Biogas upgrading to vehicle fuel standards and grid injection. IEA Bioenergy.
- Petersson A. (2013). Biogas cleaning. En Wellinger, A., Baxter, D., & Murphy, J., (Eds.). *The Biogas Handbook: Science, Production and Applications*. Oxford. *Woodhead Publishing Series in Energy*, 329–341. <https://doi.org/10.1533/9780857097415.3.329>
- Pikuta, E. V., Hoover, R. B., & Tang, J. (2007). Microbial extremophiles at the limits of life. *Critical Reviews in Microbiology*, 33(3), 183–209. <https://doi.org/10.1080/10408410701451948>

- Poggio, D., Walker, M., Nimmo, W., Ma, L., & Pourkashanian, M. (2016). Modelling the anaerobic digestion of solid organic waste - Substrate characterisation method for ADM1 using a combined biochemical and kinetic parameter estimation approach. *Waste Management*, 53, 40–54.
- Quanguo, Z., Jianjun, H., & Duu-Jong, L. (2016). Biogas from anaerobic digestion processes: Research updates. *Renewable Energy*, 98, 108–119. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2016.02.029>
- Raskin, L., Stromley, J. M., Rittmann, B. E., & Stahl, D. A. (1994). Group-specific 16S rRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 1232–1240.
- Refai, S., Wassmann, K. Y Deppenmeier, U. (2014). Short -term effect of acetate and ethanol on methane formation in biogas sludge. *Applied microbiology and biotechnology*, 98, 7271-7280.
- Rincón, M., Rincón, N., Araujo, I., Díaz, A., & Mata, J. (2010). Mesophilic and termophilic anaerobic stabilization of activated sludges from brewing industry. *Ciencia e Ingeniería Neogranadina*.
- Ripley, L., Boyle, W. Converse, J. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high strength wastes. *Water Pollution Control Federation*. 58, p. 406-411.
- Risberg, K., Sun, L., Leven, L., Horn, S. J., Schnurer, A. (2013). Biogas production from wheat straw and manure—impact of pretreatment and process operating parameters. *Bioresour. Technol.*, 149 (3), 232.
- Rojas, O. (1987). Relación alcalinidad-ácidos grasos volátiles. En Manual de Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos – UASB. Universidad del Valle, CVC, Universidad Agrícola de Wageningen, Cali, Colombia., 138–140.

- Salgado, J. M. (2014). Revalorización de residuos vitivinícolas mediante la producción biotecnológica de aditivos alimentarios y enzimas. Byosystems Centro de Ingeniería Biológica y Laboratorio de Biotecnología Agroalimentaria.
- Serrano, L., de la Varga, D., Ruiz, I., & Soto, M. (2011). Winery wastewater treatment in a hybrid constructed wetland. *Ecol. Eng.*, 37, 744–753.
- Shan-Fei, F., X, X.-H., Meng, D., Xian-Zheng, Y., & Rong-Bo, G. (2017). Hydrogen and methane production from vinasse using two-stage anaerobic digestion. *Process Safety and Environmental Protection*, 107(189), 81–86. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2017.01.024>
- Singh, O. V. (2012). *Extremophiles: Sustainable Resources and Biotechnological Implications*. Primera edición. Wiley. Pg. 181.
- Sovacool, B. K., Kryman, M., & Smith, T. (2015). Scaling and commercializing mobile biogas systems in Kenya: A qualitative pilot study. *Renewable Energy*, 76, 115–125.
- Streitwieser, D. A. (2017). Comparison of the anaerobic digestion at the mesophilic and thermophilic temperature regime of organic wastes from the agribusiness. *Bioresource Technology* 241, 985–992.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.11.001>
- Torrijos, M. & Moletta, R. (1997). Winery wastewater depollution by sequencing batch reactor. *Water Science and Technology*, 35, 2497.

- Varnero, M. T. (2011). Manual de biogás. Ministerio de Energía. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Global Environment Facility. Santiago de Chile.
- Veiga, M., Jain, M., & Wu, W. (1997). Composition and role of extracellular polymers in methanogenic granules. *Appl Environ Microbiol*, 63, 403–407.
- Wahab, M. A., Habouzit, F., Bernet, N., Jedidi, N., & Escudié, R. (2016). Evaluation of a hybrid anaerobic biofilm reactor treating winery effluents and using grape stalks as biofilm carrier. *Environmental Technology*, 37(13), 1676–1682.
- Zahedi, S., Solera, R., Micolucci, F., Cavinato, C., & Bolzonella, D. (2016). Changes in microbial community during hydrogen and methane production in two-stage thermophilic anaerobic co-digestion process from biowaste. *Waste Management*, 49, 40–46.
- Zhao, Y., Wu, J., Yuan, X., Zhu, W., Wang, X., Cheng, X., & Cui, Z. (2017). The effect of mixing intensity on the performance and microbial dynamics of a single vertical reactor integrating acidogenic and methanogenic phases in lignocellulosic biomass digestion. *Bioresource Technology*, 238, 542–551.
- Zhen, G., Lu, X., Kato, H., Zhao, Y., & Li, Y. Y. (2017). Overview of pretreatment strategies for enhancing sewage sludge disintegration and subsequent anaerobic digestion: Current advances, full-scale application and future perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 69, 559–577.
- Zhong, J., Stevens, D.K., Hansen, C. L. (2015). Optimization of anaerobic hydrogen and methane production from dairy processing waste using a two-stage digestion in induced bed reactors (IBR). *Int. J. Hydrogen Energy* 40, 15470–15476.
- Zhong, W., Zhang, Z., Luo, Y., Sun, S., Qiao, W., & Xiao, M. (2011). Effect of biological pretreatments in enhancing corn straw biogas production. *Bioresour Technol*, 102, 11177–11182.