



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE VINAZAS DE TORRES DE DESTILACIÓN Y
POSIBLE REMOCIÓN DE POLIFENOLES DE ELLAS EMPLEANDO SISTEMAS
BIOQUÍMICOS ANAEROBIOS

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

Ingeniero Químico JOSÉ ANTONIO CONTRERAS CONTRERAS

Tutora: Doctora María del Carmen Durán Domínguez
Facultad de Química

Ciudad Universitaria, Ciudad de México. Enero de 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS

TEMA DE TESIS

**CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DE VINAZAS DE TORRES DE DESTILACIÓN Y POSIBLE
REMOCIÓN DE POLIFENOLES DE ELLAS EMPLEANDO SISTEMAS BIOQUÍMICOS
ANAEROBIOS**

TESIS

**PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

I.Q. JOSÉ ANTONIO CONTRERAS CONTRERAS



Ciudad de México, 2019

Jurado

Presidente	Dr. Ricardo Vera Graziano
Vocal	Dr. Modesto Javier Cruz Gómez
Vocal	Dr. Thangarasu Pandiyan Sarasvathi
Vocal	Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Secretario	Dr. José Fausto Rivero Cruz

Tutor principal

Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa

Sustentante

Ingeniero Químico José Antonio Contreras

Declaratoria

Declaro conocer el Código de Ética de la Universidad Nacional Autónoma de México, plasmado en la Legislación Universitaria. Con base en las definiciones de integridad y honestidad ahí especificadas, aseguro mediante mi firma al calce que el presente trabajo es original y enteramente de mi autoría. Todas las citas de, o en referencia a, las obras de otros autores aparecen debida y adecuadamente señaladas, así como acreditadas mediante recursos editoriales convencionales.



I.Q. José Antonio Contreras Contreras

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada con el número de becario 620204, y al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas de la UNAM por la formación y enseñanza académica brindadas

Al Programa de Apoyo a la Investigación y Mejoramiento de la Enseñanza, PAPIIME (PE100514), al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica, PAPIIT (IN-118111-2), y al Programa de Apoyo a la Investigación para Estudiantes de Posgrado, PAIP (5000-9067) de la UNAM para la adquisición de materiales y reactivos

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado de la UNAM, PAEP, por el apoyo económico otorgado para la presentación de este trabajo en The Sixth International Symposium of Environmental Biotechnology and Engineering, 6ISEBE, llevado a cabo en Ciudad Obregón, Sonora

A la Dra. María del Carmen Durán Domínguez de Bazúa y a la Dra. Marisela Bernal González por su asesoría, apoyo y colaboración para la realización de esta investigación. De igual manera, agradezco su ayuda brindada, y sus valiosas aportaciones a este trabajo

A los miembros del jurado de examen de grado por su apoyo académico para la revisión de este documento y sus valiosas aportaciones

A mis amigos, compañeros, y al personal académico y administrativo de los Laboratorios de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental por su apoyo fraterno para la realización de esta investigación

A mis padres, hermanos, a mi gran amigo Javier y a toda mi maravillosa familia por su incondicional apoyo y motivación para la culminación de este trabajo. ¡Gracias por impulsarme a seguir adelante!

Presentación en eventos

Contreras-Contreras, José Antonio, Martínez-Cruz, Alfredo, Bernal-González, Marisela, Durán-Domínguez-de-Bazúa, María del Carmen. Quantification and removal of polyphenols in anaerobic biochemical systems. *The Sixth International Symposium of Environmental Biotechnology and Engineering (GISEBE)*. 5 al 9 de noviembre del 2018. Ciudad Obregón, Sonora

Contreras-Contreras, José Antonio, Bernal-González, Marisela, Pandiyan-Sarasvathy, Thangarasu, Durán-Domínguez-de-Bazúa, María del Carmen. Caracterización química de uno de los subproductos de las torres de destilación y remoción de polifenoles de este subproducto empleando sistemas bioquímicos anaerobios. *Encuentro Académico QuimiUNAM 2018*. 7 de agosto del 2018. Explanada del Edificio A, Facultad de Química, Ciudad Universitaria

Contreras-Contreras, José Antonio, Bernal-González, Marisela, Pandiyan-Sarasvathy, Thangarasu, Durán-Domínguez-de-Bazúa, María del Carmen. Caracterización química de uno de los subproductos de las torres de destilación y remoción de polifenoles de este subproducto empleando sistemas bioquímicos anaerobios. *Seminarios Académicos Mensuales de Ingeniería Ambiental y Química Ambiental*. 27 de julio del 2018. Auditorio del Conjunto E, Facultad de Química, Ciudad Universitaria

Artículo

Contreras-Contreras, José Antonio, Martínez-Cruz, Alfredo, Bernal-González, Marisela, Durán-Domínguez-de-Bazúa, María del Carmen. Quantification and removal of polyphenols in anaerobic biochemical systems. *Memory in extensive. The Sixth International Symposium of Environmental Biotechnology and Engineering (GISEBE)*. 5 al 9 de noviembre del 2018. Ciudad Obregón, Sonora

Sitios donde se desarrolló la experimentación

Laboratorios 301, 302, y 303 de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (LIQAYQA) del Conjunto E de la Facultad de Química, UNAM

Índice

	Página
Jurado	ii
Declaratoria	iii
Agradecimientos	iv
Glosario	xiv
Resumen	xvii
<i>Abstract</i>	xviii
CAPÍTULO I. PROBLEMÁTICA Y OBJETIVOS	1
1.1. Introducción	1
1.2. Justificación	2
1.3. Hipótesis	3
1.4. Objetivos	3
1.4.1. Objetivo general	3
1.4.2. Objetivos específicos	3
CAPÍTULO II. FUNDAMENTO TEÓRICO	4
2.1. Vinazas	5
2.2. Reactores tipo RALLFA	7
2.3. Transformación anaerobia	8
2.3.1. Hidrólisis	8
2.3.2. Acidogénesis	8
2.3.3. Acetogénesis	9
2.3.4. Metanogénesis	9
2.3.5. Sulfato-reducción	10
2.4. Parámetros de seguimiento del proceso anaerobio	11
2.4.1. Temperatura	12
2.4.2. Valor de pH	12
2.4.3. Alcalinidad	12
2.4.3.1 Factor de alcalinidad	13
2.4.4. Conductividad eléctrica (CE)	13
2.4.5. Demanda química de oxígeno (DQO)	13
2.4.6. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)	14
2.4.7. Ácidos grasos volátiles (AGV)	14
2.4.8. Biogás	15
2.4.8.1. Metano	15
2.4.9. Sulfatos y sulfuros (SO_4^{2-} , S^{2-})	16
2.4.10. Sólidos	16
2.4.11. Fósforo	17
2.5. Polifenoles	17
2.5.1. Propiedades de los polifenoles	19
2.5.2. Determinación y cuantificación de polifenoles	20
2.5.2.1 Adaptación del método tradicional Folin-Ciocalteu	21

	Página
2.5.2.2 Reacción con 4-aminoantipirina	21
2.5.1.3. Cromatografía de líquidos de alta eficiencia o resolución	22
2.5.1.4. Identificación de polifenoles a partir de técnicas de microscopía	22
2.6. Adsorción con carbón activado	22
2.6.1. Modelos de isotermas de adsorción	23
2.6.1.1 Isoterma de Langmuir	23
2.6.1.2 Isoterma de Freundlich	23
2.6.1.3 Isoterma de Dubinin-Radushkevich	24
2.6.2. Energía libre de Gibbs en el proceso de adsorción	24
2.6.3. Balance de materia en el proceso de adsorción	24
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	25
3.1. Vinazas	25
3.2. Técnicas analíticas	25
3.2.1. Parámetros de seguimiento	26
3.2.2. Mediciones de alcalinidad, biogás total y conductividad eléctrica	26
3.2.3. Mediciones de demanda química y bioquímica de oxígeno, DQO y DBO ₅	27
3.2.4. Mediciones de fósforo total y ortofosfatos, sólidos en todas sus formas y, sulfatos y sulfuros	27
3.2.5. Mediciones de polifenoles. Método de Folin-Ciocalteu	28
3.3. Reactores	29
3.3.1. Caracterización del lote de vinazas en estudio	29
3.4. Adsorción	31
3.5. Análisis estadísticos de los datos	31
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
4.1. Seguimiento de los reactores	33
4.1.1. Temperatura	33
4.1.2. Valores de pH	33
4.1.3. Factor de alcalinidad	35
4.1.4. Ácido acético	36
4.2. Seguimiento de los parámetros	37
4.2.1. Alcalinidad	37
4.2.2. Conductividad eléctrica	37
4.2.3. Demanda química de oxígeno	38
4.2.4. Sulfatos	38
4.2.5. Ácidos grasos volátiles	40
4.3. Caracterización física y química	42
4.3.1. Vinaza cruda	42
4.3.2. Vinaza diluida	42
4.3.3. Vinaza diluida de alimentación del reactor de 65°C	44
4.4. Comportamiento de los tres reactores	45
4.4.1. Reactor tipo RALLFA de 45°C	45
4.4.2. Reactor tipo RALLFA de 55°C	46
4.4.3. Reactor tipo RALLFA de 65°C	47
4.5. Polifenoles	48

	Página
4.5.1. Adsorción de polifenoles en carbón activado	49
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	53
5.1. Conclusiones	53
5.2. Perspectivas	54
ANEXOS	55
Anexo 1. Metodologías específicas y curvas de calibración	55
A1.1. Temperatura	55
A1.2. Determinación de pH	55
A1.3. Alcalinidad y factor de alcalinidad	56
A1.4. Ácidos grasos volátiles	57
A1.4.1. Ácido acético	58
A1.4.2. Ácido propiónico	58
A1.4.3. Ácido isobutírico	59
A1.4.4. Ácido butírico	60
A1.4.5. Ácido isovalérico	60
A1.4.6. Ácido valérico	61
A1.5. Medición del biogás	62
A1.6. Conductividad eléctrica	63
A1.7. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO ₅)	63
A1.8. Demanda química de oxígeno (DQO)	65
A1.9. Sólidos en todas sus formas	67
A1.9.1. Sólidos totales, ST	67
A1.9.2. Sólidos totales volátiles, STV	68
A1.9.3. Sólidos suspendidos totales, SST	68
A1.9.4. Sólidos suspendidos volátiles, SSV	69
A1.10. Fósforo total y ortofosfatos	69
A1.10.1. Fósforo total	70
A1.10.2. Ortofosfatos	71
A1.11. Sulfatos	72
A1.12. Sulfuros	74
Anexo 2. Datos experimentales y evaluación estadística	76
A2.1. Temperatura	76
A2.2. pH	76
A2.3. Conductividad eléctrica	77
A2.4. Alcalinidad	78
A2.5. Factor de alcalinidad	78
A2.6. Demanda química de oxígeno	79
A2.7. Sulfatos	79
A2.8. Sulfuros	80
A2.9. Biogás	80
A2.10. Demanda bioquímica de oxígeno	81
A2.11. Ácidos grasos volátiles	81
A2.11.1. Cromatogramas de AGV	83
A2.12. Polifenoles	85

	Página
A2.12.1. Linealidad del sistema de medición	86
A2.13. Análisis estadístico para los datos de temperatura	89
A2.14. Análisis estadístico para los datos de pH	89
A2.15. Análisis estadístico para los datos de conductividad eléctrica	89
A2.16. Análisis estadístico para los datos de alcalinidad	90
A2.17. Análisis estadístico para los datos del factor de alcalinidad	91
A2.18. Análisis estadístico para los datos de DQO	91
A2.19. Análisis estadístico para los datos de sulfatos	92
A2.20. Análisis estadístico para los datos de sulfuros	93
A2.21. Análisis estadístico para los datos de la producción de biogás	93
A2.22. Análisis estadístico para los datos de fósforo total	94
A2.23. Análisis estadístico para los datos de ortofosfatos	94
Anexo 3. Acervo fotográfico	95
Anexo 4. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación	99
A4.1. Demanda química de oxígeno	99
A4.2. Sulfatos	99
A4.3. Sulfuros	100
A4.4. Fósforo total y ortofosfatos	100
A4.5. Biogás	100
A4.6. Polifenoles	100
Bibliografía	101

Índice de tablas

	Página
Tabla 2-1. Producción mundial de azúcar (USDA, 2016)	4
Tabla 2-2. Compendio de caracterizaciones de vinazas de caña de azúcar	6
Tabla 2-3. Metabolitos derivados a partir de polifenoles y de la acción microbiana (Marín y col., 2015)	20
Tabla 3-1. Técnicas analíticas para la evaluación de parámetros	25
Tabla 4-1. Caracterización física y química de la vinaza cruda (VC)	43
Tabla 4-2. Caracterización física y química de la vinaza diluida (VD)	43
Tabla 4-3. Caracterización física y química de la vinaza de alimentación del reactor de 65°C (VD65)	44
Tabla 4-4. Caracterización física y química del efluente del reactor de 45°C	46
Tabla 4-5. Caracterización física y química del efluente del reactor de 55°C	47
Tabla 4-6. Caracterización física y química del efluente del reactor de 65°C	48
Tabla 4-7. Concentración de polifenoles en los influentes y efluentes de los reactores	49
Tabla 4-8. Ajuste de los modelos de isotermas para los datos experimentales obtenidos	50
Tabla A1-1. Tiempos de retención de los AGV	57
Tabla A1-2. Datos de la curva de calibración del ácido acético	58
Tabla A1-3. Datos de la curva de calibración del ácido propiónico	58
Tabla A1-4. Datos de la curva de calibración del ácido isobutírico	59
Tabla A1-5. Datos de la curva de calibración del ácido butírico	60
Tabla A1-6. Datos de la curva de calibración del ácido isovalérico	60
Tabla A1-7. Datos de la curva de calibración del ácido valérico	61
Tabla A1-8. Datos de la curva de calibración de la DQO	66
Tabla A1-9. Datos de la curva de calibración de fósforo total	70
Tabla A1-10. Datos de la curva de calibración de ortofosfatos	71
Tabla A1-11. Datos de la curva de calibración de sulfatos	74
Tabla A2-1. Datos experimentales de temperatura (°C)	76
Tabla A2-2. Datos experimentales de pH	76
Tabla A2-3. Datos experimentales de conductividad eléctrica (mS/cm)	77
Tabla A2-4. Datos experimentales de alcalinidad (mg CaCO ₃)	78
Tabla A2-5. Datos experimentales de factor de alcalinidad	78
Tabla A2-6. Datos experimentales de demanda química de oxígeno (mg/L)	79
Tabla A2-7. Datos experimentales de sulfatos (mg/L)	79
Tabla A2-8. Datos experimentales de sulfuros (mg/L)	80
Tabla A2-9. Datos experimentales de la producción de biogás (mL/h)	80
Tabla A2-10. Datos de la demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días	81
Tabla A2-11. Datos de ácidos grasos volátiles (mg/L)	81
Tabla A2-12. Datos de absorbancia de polifenoles a 765 nm	85
Tabla A2-13. Datos de concentración de polifenoles (mg. eq. AG/L)	85
Tabla A2-14. Datos de las isotermas de adsorción	85
Tabla A2-15. Datos de la correlación número de etapas y masa de carbón activado	86
Tabla A2-16. Absorbancias de ácido gálico. Curvas de calibración	87
Tabla A2-17. Datos de la curva de calibración de ácido gálico	87

Índice de figuras

	Página
Figura 2-1. Diagrama simplificado de la producción de etanol (Bazúa y col., 1991)	5
Figura 2-2. Reactores tipo RALLFA de estudio (Rincón-Acelas, 2008)	7
Figura 2-3. Diagrama simplificado de la obtención de metano (Cavinato, 2011)	10
Figura 2-4. Degradación anaerobia en presencia de sulfatos (Anónimo, 2017)	11
Figura 2-5. Estructura de los flavonoides y ácidos fenólicos más abundantes en el jugo de caña (<i>Saccharum officinarum</i>) (Duarte-Almeida y col., 2006)	18
Figura 2-6. Clasificación de los polifenoles (Hardman, 2014)	19
Figura 2-7. Degradación de la quercetina en compuestos fenólicos simples (Marín y col., 2015)	20
Figura 2-8. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu (Muñoz-Bernal y col., 2017)	21
Figura 2-9. Algunos tipos de isothermas de adsorción (Geankoplis, 2006)	23
Figura 3-1. Reactivos para la cuantificación de polifenoles	28
Figura 3-2. Diagrama de bloques para la cuantificación de polifenoles	28
Figura 3-3. Adición del reactivo Folin-Ciocalteu a las muestras	29
Figura 3-4. Reactores experimentales operando a 45, 55 y 65°C	30
Figura 3-5. Esquema funcional de los reactores tipo RALLFA	30
Figura 4-1. Seguimiento de la temperatura en las corrientes de vinaza	34
Figura 4-2. Evolución del pH en las corrientes de vinaza	34
Figura 4-3. Seguimiento del factor de alcalinidad de los efluentes de los reactores de estudio	35
Figura 4-4. Evolución de la concentración de ácido acético para los efluentes de los RALLFA	36
Figura 4-5. Evolución de la alcalinidad de las muestras de estudio	37
Figura 4-6. Seguimiento de la conductividad eléctrica en las corrientes de vinaza	38
Figura 4-7. Evolución de la DQO en las corrientes de vinaza	39
Figura 4-8. Seguimiento de la concentración de sulfatos en las corrientes de vinaza	39
Figura 4-9. Diagrama simplificado de las etapas de degradación anaerobia sin sulfatos	40
Figura 4-10. Evolución de la concentración de AGV en los efluentes de los reactores: a) ácido propiónico, b) ácido isobutírico, c) ácido butírico, d) ácido isovalérico, e) ácido valérico	41
Figura 4-11. Análisis estadístico de la concentración de polifenoles en las corrientes de vinaza	49
Figura 4-12. Isotherma experimental e isothermas predictivas de los modelos de Langmuir, Freundlich y D-R	50
Figura 4-13. Masa teórica de carbón activado utilizado y número de etapas en función de la relación $a=L/M$	51
Figura A1-1. Diagrama de bloques para la medición de la temperatura	55
Figura A1-2. Diagrama de bloques para la medición de pH	55
Figura A1-3. Diagrama de bloques para la preparación de ácido sulfúrico 0.1 N	56
Figura A1-4. Diagrama de bloques para la medición de alcalinidad y factor de alcalinidad	56
Figura A1-5. Diagrama de bloques para la cuantificación de AGV	57
Figura A1-6. Curva de calibración del ácido acético	58
Figura A1-7. Curva de calibración del ácido propiónico	59
Figura A1-8. Curva de calibración del ácido isobutírico	59
Figura A1-9. Curva de calibración del ácido butírico	60
Figura A1-10. Curva de calibración del ácido isovalérico	61
Figura A1-11. Curva de calibración del ácido valérico	61
Figura A1-12. Diagrama de bloques para la preparación de la solución de desplazamiento	62
Figura A1-13. Diagrama de bloques para la cuantificación del biogás	63
Figura A1-14. Diagrama de bloques para la medición de la CE	63

	Página
Figura A1-15. Diagrama de bloques para la determinación de la DBO ₅	64
Figura A1-16. Preparación de reactivos para la determinación de la DQO	65
Figura A1-17. Diagrama de bloques para la determinación de la DQO	66
Figura A1-18. Curva de calibración de la demanda química de oxígeno	67
Figura A1-19. Diagrama de bloques para la determinación de sólidos totales	67
Figura A1-20. Diagrama de bloques para la determinación de sólidos totales volátiles	68
Figura A1-21. Diagrama de bloques para la cuantificación de sólidos suspendidos totales	68
Figura A1-22. Diagrama de bloques para la cuantificación de sólidos suspendidos volátiles	69
Figura A1-23. Diagrama de bloques para la cuantificación de fósforo total y ortofosfatos	69
Figura A1-24. Curva de calibración de fósforo total	71
Figura A1-25. Curva de calibración de ortofosfatos	72
Figura A1-26. Preparación de reactivos para la determinación de sulfatos	72
Figura A1-27. Diagrama de bloques para la determinación de sulfatos	73
Figura A1-28. Curva de calibración de sulfatos	73
Figura A1-29. Preparación de reactivos utilizados para la determinación de sulfuros	74
Figura A1-30. Diagrama de bloques para la determinación de sulfuros	75
Figura A2-1. Cromatogramas de AGV para cada uno de los reactores: 45, 55 y 65°C	83
Figura A2-2. Curva de calibración de ácido gálico (polifenoles)	88
Figura A2-3. Análisis de varianza para los datos de temperatura	89
Figura A2-4. Análisis de varianza para los datos de pH	90
Figura A2-5. Análisis de varianza para los datos de conductividad eléctrica	90
Figura A2-6. Análisis de varianza para los datos de alcalinidad	91
Figura A2-7. Análisis de varianza para los datos de factor de alcalinidad	91
Figura A2-8. Análisis de varianza para los datos de DQO	92
Figura A2-9. Análisis de varianza para los datos de sulfatos	92
Figura A2-10. Análisis de varianza para los datos de sulfuros	93
Figura A2-11. Análisis de varianza para los datos de biogás	93
Figura A2-12. Análisis de varianza para los datos de fósforo total	94
Figura A2-13. Análisis de varianza para los datos de ortofosfatos	94
Figura A3-1. Determinación de la curva de calibración de la DQO	95
Figura A3-2. Equipo HACH para la determinación de la DBO ₅	95
Figura A3-3. Sistema de cuantificación de biogás	95
Figura A3-4. Sólidos totales	96
Figura A3-5. Sólidos totales volátiles y sólidos suspendidos volátiles	96
Figura A3-6. Sólidos suspendidos totales	96
Figura A3-7. Muestras de la curva de calibración de fósforo	97
Figura A3-8. Determinación de sulfatos en los influentes y efluentes de vinaza	97
Figura A3-9. Titulación, prueba de sulfuros	97
Figura A3-10. Mantenimiento preventivo y correctivo en el reactor de 65°C	98
Figura A3-11. Adsorción de polifenoles con carbón activado	98
Figura A3-12. Cambio de coloración después de remover los polifenoles	98

Glosario

AG	Ácido gálico
AGV	Ácidos grasos volátiles
Alcalinidad	Medida de la capacidad de una muestra de agua para neutralizar ácidos (Ec. A1-1)
Anaerobio	Organismo que puede vivir sin oxígeno. Aquellos organismos que mueren en presencia de oxígeno se denominan anaerobios estrictos, mientras que el resto se conocen con el nombre de anaerobios facultativos
ANDEVA	Análisis de varianza (<i>ANOVA Analysis of variance</i>)
B	Constante relacionada con la energía más probable de adsorción (Ec. 2-17)
C	Concentración de adsorbato en el equilibrio (Ec. 2-15, 16, 17, y 19)
CE	Conductividad eléctrica
C _F	Concentración inicial de adsorbato en la muestra (Ec. 2-19)
CG-FID	Cromatografía de gases con detector de ionización de llama por sus siglas en inglés (<i>flame ionization detector</i>)
CLAR	Cromatografía de líquidos de alta resolución (<i>HPLC</i> en inglés)
DBO ₅	Demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días
DBO _u	Demanda bioquímica de oxígeno última
DQO	Demanda química de oxígeno
DOF	Diario Oficial de la Federación
D-R	Isoterma de Dubinin-Radushkevich (Ec. 2-17)
E	Energía más probable de adsorción (Ec. 2-17)
EGCG	Galato de epigallocatequina
eq	Equivalentes gramo
F _m	Fracción volumétrica entre la muestra y el volumen total de la DBO (Ec. A1-5)
F _s	Fracción volumétrica entre el agua de dilución y el volumen total de la DBO (Ec. A1-4)
H ⁺	Iones hidrógeno
Influente, afluyente, efluente	Del latín <i>fluere</i> , influente es una corriente de líquido o gas que ingresa o entra a un sistema, afluyente es una corriente secundaria que se une a una principal y efluente es la corriente que sale del sistema
K	Constante de adsorción de Langmuir (Ec. 2-15)
K _a	Constante termodinámica de equilibrio (Ec. 2-18)
K _{CH4}	Constante que relaciona la cantidad de gramos de DQO necesarios para producir un mol de metano (Ec. 2-4)
K _F	Constante de adsorción de Freundlich (Ec. 2-16)
M	Masa de carbón activado (Ec. 2-19)
M ₁ , M ₂ , M ₃	Masas para determinaciones de sólidos (Ec. A1-6 y 7)
Masa contra peso	La masa es una propiedad intrínseca de un cuerpo, que mide su inercia, es decir, la resistencia del cuerpo a cambiar su movimiento. La masa no es lo mismo que el peso, que mide la atracción que ejerce la Tierra sobre una masa determinada
MEB	Microscopio electrónico de barrido (<i>SEM Scanning Electron Microscope</i>)
MEL	Microscopía de emisión de luz (<i>LEM Light Emission Microscopy</i>)
mg eq. AG	Miligramos equivalentes de ácido gálico
n ⁻¹	Constante empírica que se relaciona con la intensidad de adsorción (Ec. 2-16)

$N_{H_2SO_4}$	Normalidad de la disolución de ácido sulfúrico (Ecuación A1-1)
NK, NTK	Nitrógeno Kjeldahl, nitrógeno total Kjeldahl
NMX	Norma mexicana (no obligatoria)
NOM	Norma oficial mexicana (obligatoria)
$N_{Sol. \text{ de Yodo}}$	Normalidad de la solución patrón de yodo (Ec. A1-8)
$N_{Tiosulfato \text{ de Sodio}}$	Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio (Ec. A1-8)
P	Presión atmosférica (Ec. 2-13)
PEAD	Polietileno de alta densidad (<i>HDPE high density polyethylene</i> , por sus siglas en inglés)
pH	Potencial hidrógeno. Es un término que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución
ppm	Partes por millón
q	Cantidad de adsorbato adsorbido en el equilibrio (Ec. 2-15, 16, 17 y 19)
q_F	Concentración inicial de la solución adsorbida en el adsorbente (Ec. 2-19)
qm	Capacidad de adsorción monocapa (Ec. 2-17)
R	Constante de los gases (Ec. 2-13)
R^2	Coefficiente de determinación
R45°C	Efluente del reactor de 45°C en la caracterización física y química
R55°C	Efluente del reactor de 55°C en la caracterización física y química
R65°C	Efluente del reactor de 65°C en la caracterización física y química
RALLFA	Reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente (<i>UASB upflow anaerobic sludge blanket reactor</i> , por sus siglas en inglés)
Relación $a=L/M$	L es la masa de la solución inicial y M es la masa de carbón activado añadida al proceso de adsorción
S	Volumen de muestra para la adsorción (Ec. 2-19)
SD	Sólidos disueltos
SST	Sólidos suspendidos totales
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
ST	Sólidos totales
STV	Sólidos totales volátiles
T	Temperatura de operación
Turba	Material orgánico compacto, de color pardo oscuro y muy rico en carbono, que se forma como resultado de la putrefacción y carbonización parciales de la vegetación en el agua ácida de las turberas
Turbera	Sitio donde se encuentra turba
VC	Vinaza cruda. Vinaza que proviene directamente del ingenio azucarero alcoholero cooperante
VD	Vinaza diluida. Vinaza que se alimenta a los reactores de 45 y 55°C
VD65	Vinaza diluida del reactor de 65°C. Vinaza que se alimenta al reactor de 65°C
$V_{CH_4 \text{ teórico}}$	Volumen teórico de producción de metano en condiciones de laboratorio (ecuación 2-13)
V_m	Volumen de la muestra de vinaza para la determinación de alcalinidad (Ecuación A1-1)
$V_{pH=4.3}$	Volumen necesario de ácido sulfúrico para llevar la muestra de vinaza a un pH de 4.3 (Ecuación A1-1)
$V_{pH=5.75}$	Volumen necesario de ácido sulfúrico para llevar la muestra de vinaza a un pH de 5.75 (Ecuación A1-1)
$V_{Sol. \text{ de yodo}}$	Volumen de la solución patrón de yodo (Ecuación A1-8)
$V_{Tiosulfato \text{ de sodio}}$	Volumen de tiosulfato de sodio empleado en la valoración (Ecuación A1-8)

Símbolos griegos y especiales

$\%DQO_{\text{removido}}$	Porcentaje de DQO removida en el proceso de adsorción (Ec. 4-2, 3 y 4)
α	Factor de alcalinidad: relación entre el ion bicarbonato producido y la alcalinidad total (Ec. A1-2)
ΔDQO	Diferencia entre la DQO inicial y final de una determina corriente de vinaza (Ec. 2-13)
ΔG	Cambio en la energía libre de Gibbs para el sistema de adsorción (Ec. 2-18)
ϵ	Arreglo matemático para linealizar el modelo de isoterma de D-R. $\epsilon=RT\ln(1+1/C)$
μ_{max}	Velocidad máxima específica de crecimiento o proliferación

Nota:

Esta tesis usa el punto decimal (DOF, 2009)

Resumen

México es uno de los principales países productores de azúcar a nivel mundial. Durante el proceso de producción se generan diversos subproductos residuales, uno de ellos son las melazas, que pueden ser aprovechadas como fuente de carbono para la producción de alcohol etílico al someterlas a una operación unitaria de fermentación. El alcohol etílico producido es separado del mosto fermentado mediante operaciones de destilación y los remanentes que quedan en el fondo de la primera torre de destilación se denominan vinazas. En este trabajo se realizó la caracterización física y química de vinazas provenientes de un ingenio azucarero alcoholero cooperante. Las vinazas se sometieron a un proceso de transformación bioquímico anaerobio en tres reactores tipo RALLFA (reactor anaerobio de lecho de lodos de flujo ascendente) operando en un intervalo termofílico a las temperaturas de 45, 55 y 65°C. Los resultados indican que existe una remoción de la carga orgánica medida como demanda química de oxígeno (DQO), además de algunos otros contaminantes, produciendo un biogás aprovechable como fuente alternativa de energía (metano). Para evaluar la estabilidad del proceso de transformación anaerobio en los reactores tipo RALLFA se cuantificaron continuamente parámetros de seguimiento: temperatura, pH, factor de alcalinidad y producción de ácidos grasos volátiles. Con ello fue posible determinar que dos de los reactores se encuentran operando de manera óptima (45 y 55°C) y que el reactor de 65°C aún se encuentra en etapa de estabilización. En las vinazas se encuentran presentes compuestos poliméricos que se forman durante la caramelización del azúcar, a los cuales se les denominan polifenoles. Como parte de la caracterización química se cuantificaron los polifenoles utilizando el método de Folin-Ciocalteu antes y después de la transformación anaerobia. A partir de un análisis de varianza (*ANDEVA*), también conocido por sus siglas en inglés como *ANOVA (Analysis of variance)*, se constató que no existen diferencias significativas en la concentración de polifenoles antes y después del tratamiento en los reactores tipo RALLFA, lo cual demuestra que los polifenoles no pueden ser aprovechados por los microorganismos que habitan en los reactores. Debido a que los polifenoles deben de ser removidos para cumplir con las regulaciones legales de las plantas de alcohol etílico, se utilizó un proceso de adsorción con carbón activado para eliminar estos compuestos. En investigaciones precedentes se ha demostrado que este proceso es muy eficaz para remover polifenoles, además de que los costos de mantenimiento y operación son bajos. Los datos de adsorción experimentales se ajustaron a tres modelos de isoterma de adsorción: Langmuir, Freundlich, y Dubinin-Radushkevich. El modelo que presentó el mejor ajuste fue el de Langmuir con un coeficiente de regresión de 0.991. Se relacionó la remoción de polifenoles en función de la masa de carbón activado añadida, y se evaluó la influencia de la remoción de polifenoles en la DQO de las corrientes de vinaza.

Palabras clave: Polifenoles, sistemas bioquímicos anaerobios (RALLFA), vinazas

Abstract

Mexico is one of the main sugar producing countries worldwide. During the production process, various residual byproducts are generated, one of them being molasses, which can be used as a carbon source to produce ethyl alcohol by subjecting them to a fermentation unit operation. The ethyl alcohol produced is separated from the fermented must by distillation operations and the remnants at the bottom of the first distillation tower are called vinasses. In this work, the physical and chemical characterization of vinasses from a cooperative sugar mill was made. The vinasses were subjected to an anaerobic biochemical transformation process in three UASB reactors (Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactors) operating in a thermophilic range at temperatures of 45, 55 and 65°C. The results indicate that there is a removal of the organic load measured as chemical oxygen demand (COD), in addition to some other pollutants, producing a biogas useful as an alternative source of energy (methane). To evaluate the stability of the anaerobic transformation process in the UASB reactors, monitoring parameters were continuously quantified: temperature, pH, alkalinity factor and the production of volatile fatty acids. With this, it was possible to determine that two of the reactors are operating optimally (45 and 55°C) and that the 65°C reactor is still in the stabilization stage. In vinasses are present polymeric compounds that are formed during the caramelization of sugar, which are called polyphenols. As part of the chemical characterization, polyphenols were quantified using the Folin-Ciocalteu's method before and after the anaerobic transformation. From an analysis of variance (ANOVA), it was found that there are no significant differences in the concentration of polyphenols before and after treatment in the UASB reactors; which shows that polyphenols cannot be used by the microorganisms that inhabit the reactors. Because the polyphenols must be removed to comply with the legal regulations of ethyl alcohol plants, an adsorption process with activated carbon was used to eliminate these compounds. Previous research has shown that this process is very effective to remove polyphenols, in addition to low maintenance and operation costs. The experimental adsorption data were adjusted to three models of adsorption isotherms: Langmuir, Freundlich, and Dubinin-Radushkevich. The model that presented the best fit was the Langmuir isotherm with a regression coefficient of 0.991. The removal of polyphenols was related to the added activated carbon mass, and the influence of the polyphenol removal on the COD of the vinasses streams was evaluated.

Keywords: Anaerobic biochemical systems (UASB reactors), polyphenols, vinasses

CAPÍTULO I

PROBLEMÁTICA Y OBJETIVOS

1.1. Introducción

El cultivo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y la industria azucarera constituyen uno de los pilares económicos y sociales en el desarrollo del país, generando más de dos millones de empleos. Estas actividades productivas se desarrollan en 227 municipios concentrados en 15 entidades federativas, de tal forma que México es catalogado como el sexto país productor de azúcar a nivel mundial con una producción que supera los 6 millones de toneladas anualmente (SAGARPA, 2015). En el proceso de fabricación de azúcar se generan diversos subproductos. Las melazas son uno de estos, se obtienen al final de la etapa de separación de los cristales de azúcar en los cristalizadores y centrifugas, y pueden ser aprovechadas en diversos bioprocesos como fuente de carbono. La fermentación es uno de los bioprocesos más importantes por la producción de etanol. El etanol obtenido por este medio es separado a través de un proceso de destilación, quedando como remanente en los fondos de la primera torre de destilación un nuevo subproducto denominado vinazas, constituidas en su mayoría por mezclas de minerales y sustancias orgánicas, con valor relativo y potencial para diversos usos (Lima y Rodríguez, 2014).

Las vinazas presentan un pH ácido (3-5) debido a la adición de ácido sulfúrico para evitar la competencia de otras especies microbianas por la glucosa. Tienen un contenido de materia orgánica e inorgánica medida como demanda química de oxígeno, DQO, que oscila en el rango de 100 a 150 g/L (considerando que las aguas residuales domésticas tienen entre 2 y 4 g/L, puede verse que son mucho más concentradas que éstas). Tienen cantidades altas de sustancias inorgánicas como calcio, potasio y magnesio y un alto contenido de polifenoles producidos por la caramelización del azúcar (Robles y Villalobos, 2010). Los polifenoles son sustancias formadas por múltiples moléculas fenólicas y en general son tóxicas para los microorganismos utilizados en los biotratamientos de efluentes. Son altamente recalcitrantes, persisten en el suelo y retienen propiedades antioxidantes (Baldiris y col., 2012). A pesar de que las disoluciones originales son incoloras, desarrollan un color característico durante el proceso de producción de azúcar, por esa caramelización indeseable:



que restringe, además, la penetración de la luz a los cuerpos de agua superficial en caso de que estos efluentes líquidos sean dispuestos en ecosistemas acuáticos (Godshall, 1996). El caramelo es un líquido viscoso de color café oscuro con alta masa molecular (> 10 kDa). Se forma a partir de una compleja serie de reacciones que no se conocen en su totalidad, pero implican la hidrólisis, la isomerización y la deshidratación de los carbohidratos, a especies más reactivas que posteriormente se polimerizan entre sí, dando origen a la formación melanoidinas y polifenoles (Myers y Howell, 1992). La reacción de caramelización se produce cuando los glúcidos se someten a elevadas temperaturas y se acelera con la adición de ácidos carboxílicos y de algunas sales. En el proceso de producción de azúcar se forman caramelos cuando la temperatura se eleva por encima de 210°C. Esto ocurre principalmente en el cristalizador donde los cristales de azúcar entran en contacto con superficies calientes (Arimi y col., 2014).

En la Ecuación 1-1 se presenta la reacción de isomerización de la sacarosa dando origen a la isosacarosana a 160°C. Al incrementar la temperatura se acelera la deshidratación y a partir de la isosacarosana se producen la caramelana, el carameleno y la caramelina, Ecuaciones 1-2, 3 y 4, respectivamente. Posteriormente estos compuestos se polimerizan y dan origen a una amplia gama de sustancias entre las que se encuentran los polifenoles (Delgadillo-González, 2014).

Es importante destacar que los ingenios azucareros utilizan grandes cantidades de agua para llevar a cabo sus procesos. En México, las ramas industriales química y azucarera generan en conjunto el 59.8% de la cantidad total de aguas residuales del sector industrial (Chaux y col., 1997). Actualmente el uso de procesos biológicos en el tratamiento de aguas residuales provenientes de plantas agroindustriales, incluyendo los de las destilerías, son reconocidos como métodos efectivos en la remoción de contaminantes, ya sea empleando sistemas aerobios o anaerobios. Sin embargo, la presencia de polifenoles dificulta el biotratamiento de estos efluentes debido a su poder bactericida y recalcitrante, impidiendo que se alcance el grado de pureza requerido en los tratamientos (García y col., 2011). En la literatura se encuentran reportados diversos métodos de remoción de polifenoles de las vinazas del alcohol de caña, siendo de los más eficientes el uso de carbón activado, logrando reducir contenidos de 5.33 a 0.007 g_{eq} por litro de disolución (Caqueret y col., 2012) y el uso del reactivo Fenton, el cual se encarga de oxidar los polifenoles a especies más simples, aumentando su biodegradabilidad y obteniendo valores de remoción superiores al 90% (Rodríguez y col., 2010). En cuanto a estudios bioquímicos, se ha analizado el tratamiento de las vinazas en condiciones aerobias empleando algunas especies de hongos como *Penicillium decumbens*, *Aspergillus terreus* y *Geotrichum candidum*, obteniendo también buenos resultados de remoción (Baldiris y col., 2012).

Con la finalidad de estudiar más apropiadamente el tratamiento de aguas en condiciones termofílicas de una planta instalada en un ingenio azucarero (Bazúa-Rueda y col., 2015), se han construido reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente RALLFA (UASB por sus siglas en inglés) a escala de laboratorio, en los cuales son alimentadas vinazas provenientes de la industria azúcar alcoholera y son tratadas isotérmicamente con bacterias anaerobias termofílicas a temperaturas de 45, 55 y 65°C (Castro-González, 2004; Rincón-Acelas, 2008). En estos reactores se han llevado a cabo pruebas de degradación de las vinazas mediante comunidades bacterianas sin presencia de aire, obteniendo un efluente con una DQO menor, con nutrientes que son útiles en suelos y produciendo biogás compuesto principalmente de metano (Bernal-González y col., 2012). También se ha estudiado la influencia de la temperatura en un intervalo mesofílico y termofílico sobre la actividad metanogénica y sulfato-reductora de los consorcios microbianos (Castro-González, 2004; Castro-González y col., 1997, 2001, 2004; Castro-González y Durán-de-Bazúa, 2001). Además, se han evaluado las cinéticas de degradación anaerobias a las tres temperaturas de trabajo (Rincón-Acelas, 2008). Pero, hasta la fecha, ningún método ha sido aplicado en los efluentes residuales de los reactores tipo RALLFA para la eliminación específicamente de polifenoles.

1.2. Justificación

Los polifenoles afectan la eficiencia de remoción de contaminantes de aguas residuales en sistemas que utilizan bacterias para su tratamiento, inhibiendo la acción de los organismos anaerobios (Baldiris y col., 2012) como en el caso los reactores tipo RALLFA. Una descarga con alto contenido de polifenoles, (concentración mayor a 2 mg/L) es tóxica para los peces e incluso en concentraciones mayores provoca la muerte de la vida acuática cuando las vinazas son descargadas directamente en mantos acuíferos (Körbahti y Tanyolaç, 2003). Por tanto, resulta imprescindible un tratamiento antes de su descarga. Existe un marcado interés en la aplicación de tratamientos físicos y químicos con el fin de eliminar estos compuestos fenólicos. Sin embargo, aún no han sido utilizados en los efluentes de los reactores tipo RALLFA.

1.3. Hipótesis

Al eliminar los polifenoles se incrementará el porcentaje de remoción de contaminantes carbonosos medidos como demanda química de oxígeno (DQO) de los efluentes de los reactores tipo RALLFA

1.4. Objetivo

1.4.1. Objetivo general

Caracterizar física y químicamente vinazas provenientes de la primera torre de destilación de la industria alcohólica del azúcar de caña, estudiando el efecto de la transformación anaerobia termofílica sobre los polifenoles presentes en estos subproductos.

1.4.2. Objetivos específicos

- Emplear procedimientos analíticos para evaluar la estabilidad de la transformación anaerobia termofílica efectuada dentro de los reactores tipo RALLFA, seleccionando las mejores variables de cuantificación
- Caracterizar física y químicamente las vinazas estudiando el efecto de la transformación bioquímica anaerobia en su composición
- Evaluar la degradación de los polifenoles con bacterias anaerobias termofílicas presentes en los reactores tipos RALLFA
- Cuantificar la cantidad total de polifenoles presentes en las vinazas antes y después de la aplicación de los métodos bioquímicos anaerobios utilizando técnicas espectrofotométricas
- Evaluar procesos físicos, químicos o bioquímicos con base en la literatura seleccionando el más idóneo para la remoción de polifenoles en los efluentes de los reactores tipo RALLFA

CAPÍTULO II

FUNDAMENTO TEÓRICO

En México la agroindustria de la caña de azúcar es históricamente una de las más importantes desde la época de la Conquista ya que fue la primera «agroindustria» establecida por Cortés en lo que ahora es el estado de Veracruz y representa una considerable fuente de ingresos para el país (SIAP, 2017).

El cultivo de caña de azúcar en el continente americano data de la llegada de Cristóbal Colón en 1492, quien la sembró en las islas del Caribe y con el paso del tiempo su cultivo se extendió por Norteamérica, Centroamérica y Sudamérica (Hernández y col., 2013).

Gracias a las condiciones idóneas para la reproducción e industrialización de la caña de azúcar en la zona tropical del continente (entre los Trópicos de Cáncer y Capricornio), Brasil, Estados Unidos y México se encuentran dentro de los 10 principales productores de azúcar a nivel mundial (Tabla 2-1).

Tabla 2-1. Producción mundial de azúcar (USDA, 2016)

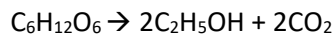
Productor	Millones de toneladas métricas
Brasil	37.78
India	23.94
Unión Europea	16.2
China	9.53
Tailandia	9.27
Estados Unidos	8.46
México	6.68
Pakistán	5.72
Rusia	5.6
Otros	47.75
Producción mundial	170.94

Actualmente la producción nacional de azúcar se concentra en los estados de Veracruz, San Luis Potosí y Jalisco, quienes en conjunto producen cerca de 3.6 millones de toneladas anualmente (SAGARPA, 2015).

Uno de los subproductos que se generan en la producción de azúcar son las melazas, las cuales se obtienen al final de la separación por cristalización y centrifugación y se utilizan principalmente como fuente de carbono en distintos bioprocesos. La fermentación de las melazas para producir bioetanol constituye uno de los usos más redituables y se estima que anualmente se producen en México 70,000 m³ de alcohol etílico, generando en promedio 840,000 m³ de vinazas (Castro-González, 2004) aunque actualmente esta producción ha decrecido considerablemente por la presión de la Comisión Nacional del Agua sobre los ingenieros azucareros alcoholeros para no verter sus vinazas en cuerpos receptores, produciendo en la zafra 2014-2015 solamente 8,400 m³ de alcohol etílico, de 50,000 m³ en la zafra 2005-2006, con la consecuente reducción en la producción de vinazas (CNIIAA, 2016).

Las reacciones químicas principales (Ecuaciones 2-1 y 2) que intervienen en la producción de etanol a partir de la melaza son:





Con mezcla enzimática zimasa

Ecuación 2-2

Por cada 5.6 kg de melaza fermentada, se produce 1 kg de alcohol etílico (Sam, 2012). El alcohol obtenido a través de este método es separado mediante operaciones unitarias de destilación y, al producto remanente en los fondos del destilado de la primera torre se le denomina vinaza, debido a que al mosto fermentado se le conoce en la jerga azucarera como vino. En la Figura 2-1 se presenta un diagrama simplificado de la producción de etanol y vinazas.



Figura 2-1. Diagrama simplificado de la producción de etanol (Bazúa y col., 1991)

2.1. Vinazas

Las vinazas se definen como el efluente secundario producto de la destilación de la fermentación de una materia prima. El volumen obtenido de vinazas varía entre el 10 a 18 veces el volumen de alcohol producido, dependiendo de los procesos de fermentación y destilación que se lleven a cabo, así como de las características de la materia prima utilizada (Silva y col., 2011).

Las características físicas y químicas de las vinazas dependen de su fuente de procedencia. Por ejemplo, las vinazas de la caña de azúcar cuentan con un alto contenido de materia orgánica y sólidos solubles en comparación con las vinazas del café o vino (España-Gamboa y col., 2011). Las vinazas de la caña de azúcar se caracterizan por presentar un pH ácido (3-5), por la adición de ácido sulfúrico para ajustar el pH e impedir la proliferación de microorganismos oportunistas que compitan con la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y un contenido de materia orgánica e inorgánica disuelta medida como demanda química de oxígeno, DQO, que oscila en un intervalo de 100 a 150 g/L (Robles y Villalobos, 2010). Son ricas en sustancias inorgánicas como nitrógeno, fósforo, azufre, calcio, potasio y magnesio. Sus principales componentes orgánicos son el glicerol, etanol y ácido acético, además de carbohidratos, y compuestos aromáticos como fenoles y polifenoles (Parnaudeau y col., 2008).

Industrialmente, las vinazas salen de la primera de las columnas de destilación en un intervalo de temperatura que oscila entre 65 y 80°C, de modo que su descarga directa a los cuerpos de agua origina graves problemas ambientales (Bernal-González y col., 2012). En la Tabla 2-2 se muestra una recopilación de las características físicas y químicas de las vinazas de la caña de azúcar determinadas en distintas localidades geográficas. Las caracterizaciones realizadas por Rincón-Acelas (2008), Castro-González y col. (1997), y Detor-Méndez y Hernández-Segoviano (2012) corresponden a las vinazas de un ingenio azucarero cooperante, ubicado en el estado de Veracruz, México, las cuales se utilizan para alimentar los reactores tipo RALLFA.

Tabla 2-2. Compendio de caracterizaciones de vinazas de caña de azúcar

Parámetro	Rincón Acelas, 2008	Castro-González y col., 1997	Detor-Méndez y Hernández-Segoviano, 2012	García y col., 1997	Jiménez y col., 2006	Robles-González y col., 2012	Bautista-Zúñiga y col., 2000
Alcalinidad, mgCaCO ₃ /L	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	6 000	n.d	n.d.
Azufre, mg/L	9.85x10 ⁻³ %	n.d.	2.628	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Carbono, mg/L	4.47 %	38.18	2.638	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Cloruros, mg/L	5 230	n.d.	5.5x10 ⁻⁴	n.d	n.d	n.d.	n.d.
Conductividad eléctrica, µS/cm	26 500	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
DBO ₅ , mgO ₂ /L	98 250	91 771	61 440	n.d.	n.d.	26 500	31 500
DQO, mgO ₂ /L	116 250	100 428	72 448.85	75 000	80 500	56 230	58 500
Fenoles, mg/L	n.d.	n.d.	n.d.	469 total	540 (ácido gálico)	478 (ácido gálico)	n.d.
Fosfatos, mg/L	n.d.	n.d.	n.d	n.d.	n.d.	290	n.d.
Fructosa, mg/L	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	14.8	n.d.
Hidrógeno, mg/L	6.77 %	44.96	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Nitrógeno, mg/L	6.1 %	1.24	1.0037	975 total	1 800 (Kjeldahl)	660 (Kjeldahl)	1,400 (Kjeldahl)
Nitrógeno amoniacal, mg/L	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	5 000	n.d.
pH	4.28	4.34	4.986	4.4	5.2	3.7	4.2
SDT, mg/L	83 683	54 150	n.d.	n.d.	n.d.	n.d	n.d.
SST, mg/L	7 591	4 300	n.d.	11 000	3 600	3 130	7 950
SSV, mg/L	n.d.	4 100	n.d.	9 000	2 500	1 130	n.d.
ST, mg/L	91 227	58 450	65 591	n.d	109 000	26 830	n.d
STV, mg/L	n.d.	47 250	36 099.33	n.d	79 000	n.d	n.d.
Sulfatos, mg/L	8 150	n.d	n.d.	n.d.	n.d.	308	4 450
Sulfuros, mg/L	69	n.d.	0.5366	n.d.	n.d.	n.d	n.d.

n.d., no disponible

2.2 Reactores tipo RALLFA

Los reactores tipo RALLFA (Reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente) o también conocidos por sus siglas en inglés como *UASB* (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*) reactors son un sistema de tratamiento de aguas residuales, cuyo objetivo es eliminar contaminantes y disminuir la carga orgánica a partir de una transformación bioquímica anaerobia (Leeuwenhoek, 1995).

A pesar de que la carga orgánica es altamente biodegradable utilizando tanto sistemas aerobios como anaerobios, se prefieren los anaerobios debido a las altas concentraciones de compuestos orgánicos disueltos en las vinazas, lo que resulta en un proceso más eficiente (Bazúa y col., 1991). Además, el metano generado en este tipo de procesos puede ser utilizado como fuente de energía (FAO, 2011).

Las vinazas se alimentan diluidas en una proporción cercana a un 50/50 por la parte inferior de los reactores. Al ingresar entran en contacto con lodos anaerobios que contienen diversos microorganismos. Cabe señalar que las vinazas se alimentan diluidas debido a que en investigaciones precedentes se observó que al entrar sin diluir provocaban inestabilidad en el proceso (Castro-González, 2004). Para un flujo de alimentación de 333 mL/día, el tiempo de residencia hidráulico es de 7.2 días (Detor-Méndez y Hernández-Segoviano, 2012).

Los reactores tipo RALLFA de estudio cuentan con un volumen total de 2.7 L, una altura de 65 cm y un diámetro exterior de 7.27 cm. Los reactores de 45 y 55°C tienen un volumen de operación de 2.4 L y un diámetro de tubo concéntrico de 3.7 cm. Por su parte el reactor de 65°C tiene un volumen de operación de 2 L y un diámetro de tubo concéntrico de 4 cm. A través del tubo concéntrico circula agua caliente, de forma que mantiene las temperaturas relativamente constantes de 45, 55 y 65°C dentro de los reactores. Los reactores se encuentran cubiertos por fibra de vidrio, el cual es un aislante térmico que impide pérdidas por transferencia de calor. El volumen de los lodos corresponde al 37% del volumen total de los reactores. Este porcentaje de lodos se seleccionó con el fin de lograr un equilibrio entre la cantidad de vinaza tratada y el porcentaje de remoción de carga orgánica (Nasr y col., 2006). En la Figura 2-2 se muestra la configuración de uno de los reactores tipo RALLFA de estudio (Rincón-Acelas, 2008).

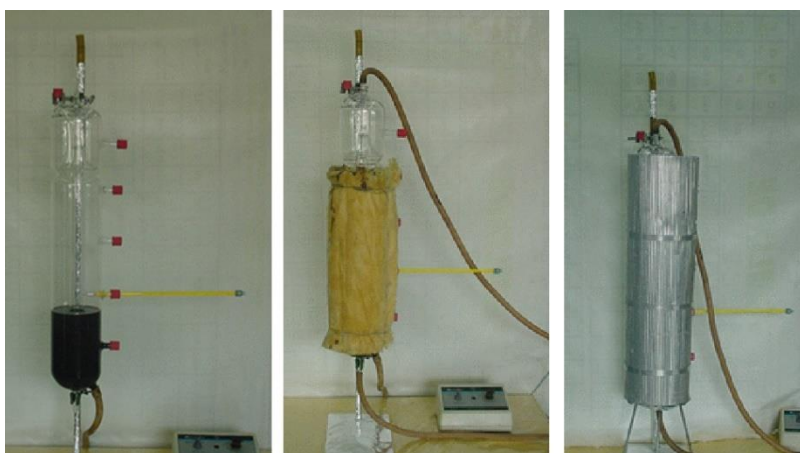


Figura 2-2. Reactores tipo RALLFA de estudio (Rincón-Acelas, 2008)

2.3. Transformación anaerobia

Dentro de los reactores tipo RALLFA se realiza un proceso de transformación anaerobia, el cual consta de varias etapas y se origina por medio de las interacciones entre las distintas poblaciones microbianas. Este proceso se basa en la capacidad de los microorganismos para eliminar por asimilación y descomposición la materia orgánica biodegradable presente en las vinazas. Durante este proceso la materia orgánica se degrada y transforma en biogás constituido principalmente por metano y dióxido de carbono, proceso del cual se ocupan un consorcio de bacterias sensibles e inhibidas por la presencia de oxígeno denominadas anaerobias obligadas. Mediante el proceso anaerobio es posible convertir gran cantidad de residuos en subproductos útiles, asimismo, más del 90% de la energía disponible por oxidación directa se transforma en metano, consumiéndose sólo un 10% de la energía en el metabolismo microbiano, comparado al 50% consumido en un sistema aerobio (FAO, 2011). Por lo tanto, el tratamiento de vinazas mediante un proceso anaerobio es una alternativa potencial, con bajos costos de operación, además, el metano generado puede utilizarse como fuente alternativa de energía.

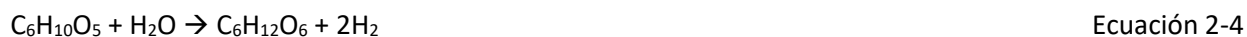
El proceso anaerobio es complejo tanto por el número de reacciones bioquímicas que tienen lugar como por la cantidad de microorganismos involucrados en ellas. Los estudios bioquímicos y microbiológicos realizados hasta ahora dividen el proceso en cuatro grandes etapas: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. En forma general el proceso se puede resumir mediante la reacción química 2-3 donde el material orgánico como la glucosa se transforma en dióxido de carbono y metano por los organismos anaerobios (Manyi-Loh y col., 2013):



2.3.1. Hidrólisis

La hidrólisis es la primera etapa necesaria para la degradación anaerobia. En esta etapa la materia orgánica compleja se hidroliza en compuestos solubles de menor masa molecular. Los compuestos poliméricos más abundantes como los carbohidratos, lípidos y proteínas son transformados en glúcidos simples, ácidos grasos y aminoácidos, respectivamente. Este proceso de ruptura se origina a partir de las enzimas secretadas por los microorganismos hidrolíticos. La hidrólisis depende de diversos factores tales como la temperatura del proceso, el tiempo de residencia hidráulico, la composición bioquímica del sustrato y el nivel de pH. Cuando se tratan residuos con alto contenido de sólidos, la hidrólisis resulta ser el paso limitante de rapidez o velocidad global de la degradación anaerobia (FAO, 2011).

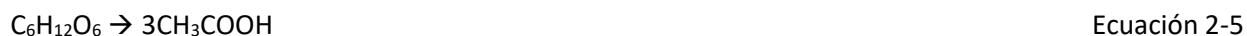
La ecuación química (2-4) muestra un ejemplo de una reacción de hidrólisis en la que los residuos orgánicos se descomponen en un glúcido simple, en este caso glucosa (Ostrem y Themelis, 2004).



2.3.2. Acidogénesis

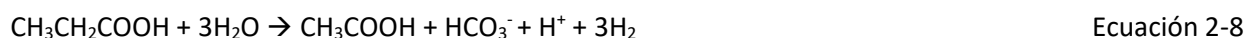
Durante esta etapa los compuestos orgánicos solubles generados en la hidrólisis son biodegradados en compuestos más sencillos de menor masa molecular como los ácidos grasos volátiles, alcoholes, dióxido de carbono, amoníaco e hidrógeno. Los microorganismos encargados de realizar esta conversión son las bacterias acidogénicas (Shin y col., 2004).

La importancia de esta etapa radica en que se produce el alimento para los grupos de bacterias que actúan posteriormente, es decir las acetogénicas y metanogénicas, y, además, se elimina cualquier vestigio de oxígeno disuelto en el sistema. Las ecuaciones 2-5, 6 y 7 representan tres reacciones típicas de la acidogénesis en las que la glucosa se convierte en ácido acético, propiónico y etanol, respectivamente (Ostrem y Themelis, 2004).



2.3.3. Acetogénesis

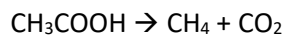
De los productos de la acidogénesis, el hidrógeno y el ácido acético pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos. Sin embargo, otros como el etanol y los ácidos grasos volátiles, deben ser transformados en productos más sencillos como el ácido acético, proceso del cual se ocupan las bacterias acetogénicas (FAO, 2011). El hidrógeno juega un papel importante como intermediario en esta etapa, dado que las reacciones sólo ocurrirán si la presión parcial del hidrógeno es lo suficientemente baja como para permitir termodinámicamente la conversión de todos los ácidos. Esta disminución en la presión parcial es llevada a cabo por bacterias que capturan el hidrógeno y, de este modo, la concentración de hidrógeno en un digestor es un indicador de salud (Mata-Álvarez, 2003). La ecuación química (2-8) representa la conversión del ácido propiónico en ácido acético, solamente lograda a presiones parciales bajas de hidrógeno. Las ecuaciones 2-9 y 10 representan la conversión de glucosa y etanol, en ácido acético. La producción de ácido acético es muy importante, dado que al menos el 70% del metano que se produce proviene de la descarboxilación de este compuesto.



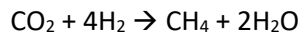
2.3.4. Metanogénesis

En esta etapa los microorganismos utilizan los productos intermedios de las etapas anteriores y los convierten en metano, dióxido de carbono y agua. Estos componentes constituyen la mayor parte del biogás emitidos por el sistema. La metanogénesis es sensible a los cambios de pH y se favorece en un rango entre 6.5 y 8 (Pandiyán y col., 1999a,b). Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano. El metano se obtiene principalmente por dos vías, en la primera de ellas se utiliza el ácido acético como aceptor final de electrones (Ecuación 2-11), mientras que en la segunda se utiliza el dióxido de carbono, el cual reacciona con el hidrógeno producido esencialmente por la deshidrogenación de ácidos grasos volátiles en la etapa de acetogénesis, dando lugar a la formación de metano y agua (Ecuación 2-13). Bajo condiciones normales de presión y temperatura ambas reacciones (Ecuaciones 2-11 y 12) son favorecidas termodinámicamente y ocurren de manera espontánea, siendo sus energías libres de Gibbs -55.27 kJ/mol y -130.7 kJ/mol, respectivamente (FAO, 1997).

La producción de metano a partir de la materia orgánica compleja puede simplificarse en el Diagrama 2-3, que incluye los porcentajes y las vías de producción de los principales compuestos que participan en la degradación anaerobia.



Ecuación 2-11



Ecuación 2-12

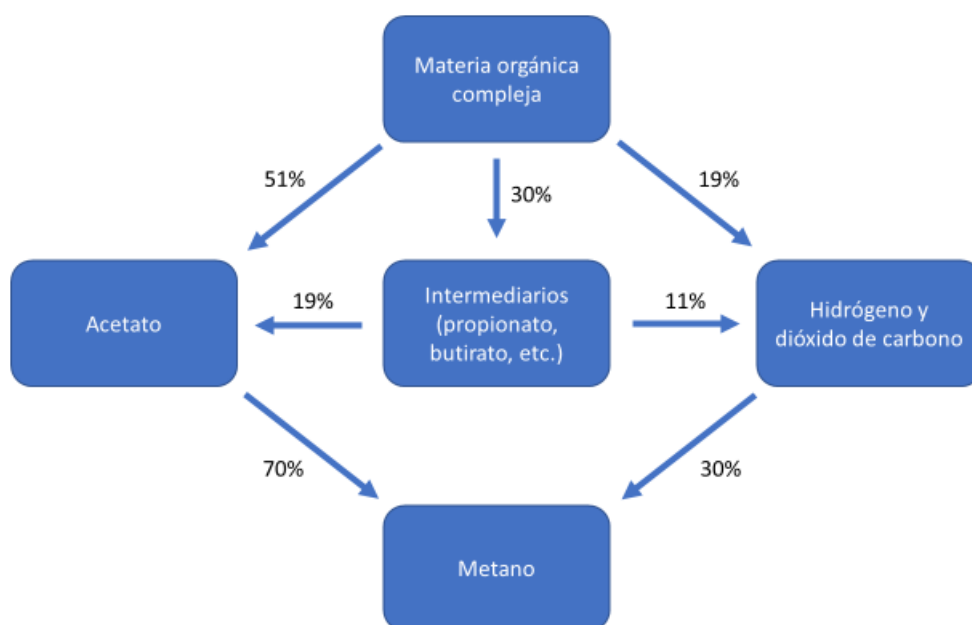


Figura 2-3. Diagrama simplificado de la obtención de metano (Cavinato, 2011)

2.3.5. Sulfato-reducción

Esta etapa solamente se lleva a cabo si existe presencia de sulfatos en el influente. Aquí ocurre la oxidación de los ácidos grasos volátiles, así como del ácido acético por bacterias sulfato-reductoras (Koschorreck, 2008).

Las bacterias sulfato-reductoras utilizan el sulfato como aceptor final de electrones y lo reducen a sulfuro de hidrógeno, proceso a partir del cual obtienen energía y eliminan el sulfuro resultante como desecho (Muyzer y Stams, 2008). Durante esta etapa las bacterias sulfato reductoras compiten con las *arqueas* metanogénicas por los mismos sustratos: ácido acético, dióxido de carbono, e hidrógeno. Asimismo, los sulfuros solubles producidos son sumamente tóxicos para los microorganismos que participan en la degradación anaerobia. La producción de sulfuros es uno de los mayores problemas asociados al tratamiento de aguas residuales ricas en sulfatos. No obstante, la remoción del H₂S del biogás producido, reduce significativamente la cantidad de sulfuros en la fase líquida (Lens y col., 1998).

En la Figura 2-4 se muestra el proceso anaerobio en presencia de sulfatos, el cual se lleva a cabo dentro de los reactores tipo RALLFA.

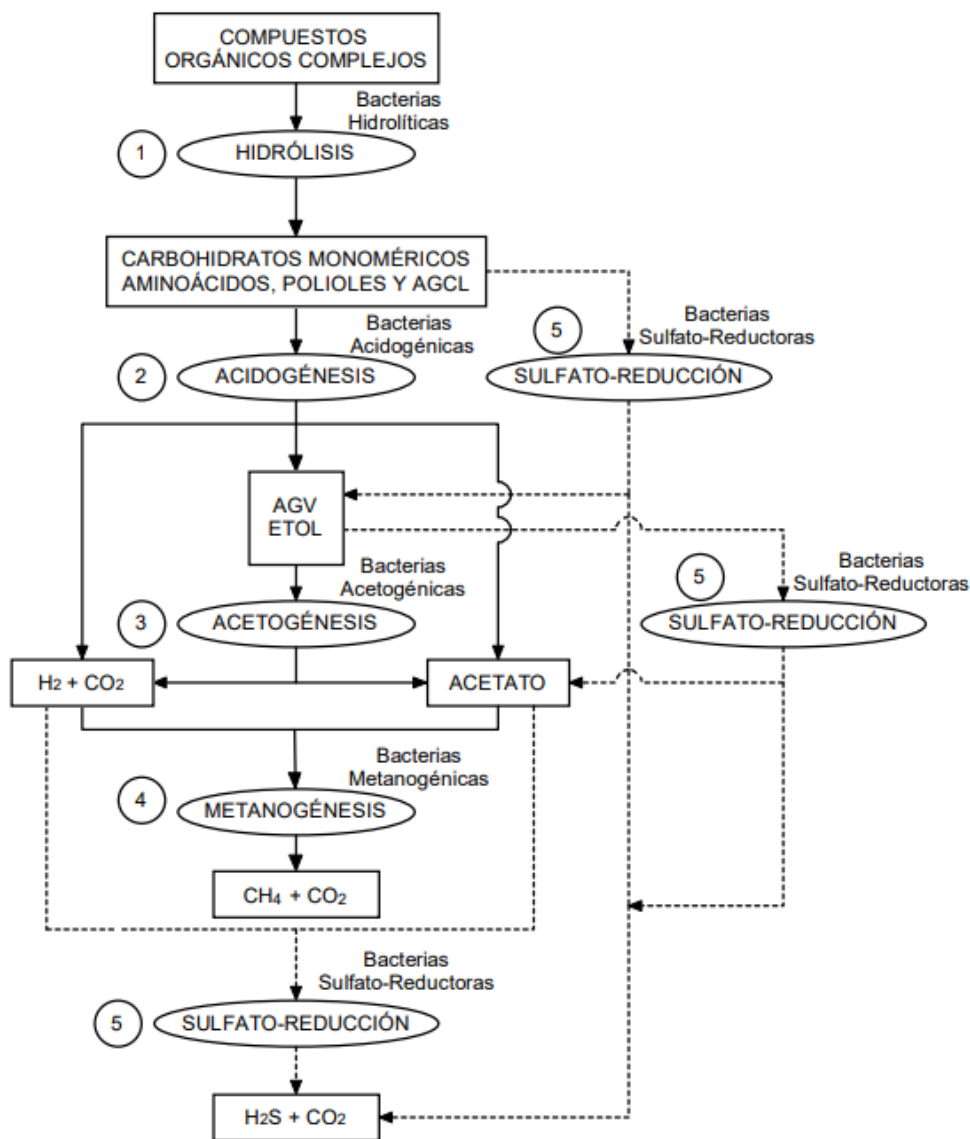


Figura 2-4. Degradación anaerobia en presencia de sulfatos con los números en círculo indicando las etapas que se supone van ocurriendo en forma secuencial. La numeración del 1 al 5 son las etapas que van realizándose por diferentes consorcios microbianos (Anónimo, 2017)

2.4. Parámetros de seguimiento del proceso anaerobio

Existen parámetros de control que permiten identificar si el proceso anaerobio de los reactores tipo RALLFA se realiza adecuadamente. Estos incluyen la temperatura, la concentración de ácidos grasos volátiles, la alcalinidad, el pH, los sólidos totales, suspendidos y volátiles y la producción de metano en el biogás (Detor-Méndez y Hernández-Segoviano, 2012). De igual forma, para realizar una caracterización completa de los efluentes es necesario cuantificar parámetros tales como conductividad eléctrica (CE), demanda química de oxígeno (DQO), demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días (DBO₅) o demanda bioquímica de oxígeno última (DBOu), concentración de polifenoles, cantidades de fosfatos, de sulfuros y de sulfatos (Melamane y col., 2007).

2.4.1. Temperatura

La temperatura es una propiedad de los sistemas que determina si están en equilibrio térmico. Es un parámetro establecido como límite máximo permitido en las descargas de aguas residuales y una especificación de importancia en los cálculos de balance de energía y de calor en los procesos industriales (DOF, 2013). La temperatura de operación de los reactores tipo RALLFA es considerada como un parámetro elemental de diseño debido a la gran influencia de este factor en la transformación anaerobia. Las variaciones bruscas de temperatura pueden conducir a la desestabilización del proceso. Por ello, es fundamental garantizar una temperatura homogénea en los reactores, lo cual se puede lograr a partir de un controlador de temperatura y un sistema de agitación adecuado.

Existen tres rangos de temperatura en los que trabajan más eficientemente los microorganismos: psicrófilos (por debajo de 25°C), mesófilos (entre 25 y 45°C) y termófilos (entre 45 y 65°C), siendo la rapidez o velocidad máxima específica de crecimiento o proliferación (μ_{max}) mayor conforme aumenta el intervalo de temperatura. Las arqueas metanogénicas y las bacterias sulfato-reductoras presentan un desarrollo óptimo en el rango termofílico proliferando a las temperaturas de 45, 55 y 65°C en los reactores tipo RALLFA (Kaksonen y col., 2006; Thummes y col., 2007). La temperatura del proceso actúa también sobre aspectos físicoquímicos del mismo. La solubilidad de los gases generados desciende al aumentar la temperatura, favoreciéndose la transferencia líquido-gas. Esto supone un efecto positivo para gases tales como el amoníaco, hidrógeno y sulfuro de hidrógeno, dada su toxicidad sobre los procesos metabólicos de los microorganismos anaerobios (FAO, 2011).

2.4.2. Valor de pH

El potencial hidrógeno o comúnmente conocido por sus siglas como pH, es un término que indica la concentración de iones hidrógeno en una disolución. La medición de pH es muy importante para el funcionamiento efectivo de los procesos de tratamiento de aguas y su control. Se ha investigado que el desarrollo óptimo de bacterias y arqueas se presenta en un pH neutro. Sin embargo, algunas cepas de arqueas metanogénicas que proliferan en las turberas pueden tolerar condiciones ácidas (Williams y Crawford, 1985). Por su parte Koschorreck (2008) estudió el desempeño de bacterias sulfato-reductoras bajo condiciones ácidas y determinó que en procesos de biorremediación son acidotolerantes.

La medición del pH resulta un parámetro fundamental en el caso de estudio de los reactores tipo RALLFA. Para que el proceso de degradación se desarrolle satisfactoriamente, el pH no debe bajar de 6.0 ni subir de 8.0. El valor del pH en el proceso no sólo determina la producción de biogás sino también su composición, puesto que, si el pH desciende a valores inferiores de 6, el biogás generado será muy pobre en metano, y, por lo tanto, con menores cualidades energéticas. La medición de pH comúnmente se realiza a través de métodos electrométricos basados en la medición de la diferencia de un potencial de celda electroquímica, la cual consta de dos medias celdas, una en un electrodo de medición y la otra en un electrodo de referencia (Buck y col., 2002).

2.4.3. Alcalinidad

La alcalinidad es una propiedad que hace referencia a la presencia de sustancias hidrolizables en el agua, que generan como resultado el ion hidroxilo OH⁻ (DOF, 2001c).

Las principales especies que contribuyen a la alcalinidad en los sistemas de tratamiento anaerobio son los carbonatos, los bicarbonatos, y los ácidos grasos volátiles no protonados. La alcalinidad indica la capacidad de amortiguamiento de un cuerpo de agua, la cual se ve reflejada en su habilidad de neutralizar ácidos fuertes, manteniendo un pH estable. Sin esta capacidad de amortiguamiento, se presentarían cambios súbitos de pH, de modo que resulta esencial tener una alcalinidad suficiente para el control apropiado del pH en las vinazas (Rincón-Acelas, 2008).

De igual manera, los efluentes de aguas residuales con vasta alcalinidad benefician a los organismos acuáticos, dado de los cuerpos de agua aumentan su capacidad de neutralizar contaminantes por ácidos como la lluvia ácida, además de que las fluctuaciones de CO_2 se mantienen más estables (Addy y col., 2004). La alcalinidad generalmente se reporta en mg de CaCO_3 , misma que se obtiene a partir del volumen total medido de ácido clorhídrico o ácido sulfúrico que es necesario añadir a una muestra para llevar el pH a un valor determinado, que coincide con el vire del indicador naranja de metilo.

2.4.3.1 Factor de alcalinidad (α)

El factor de alcalinidad es un parámetro de seguimiento que representa la relación entre el ion bicarbonato y la alcalinidad total. Para que la degradación anaerobia se considere estable, el factor de alcalinidad debe encontrarse en un intervalo de 0.2 a 0.4 unidades. Cuando el factor de alcalinidad se encuentra arriba de este intervalo, significa que existe una alta concentración de ácidos grasos debido a que estos reaccionan con los iones bicarbonato, disminuyendo la capacidad de amortiguamiento del efluente. Por el contrario, cuando el factor de alcalinidad es menor a 0.2 unidades significa que hay una acumulación de iones bicarbonato y, por ende, una baja producción de ácidos grasos (López-López y col., 2015). Empleando la Ecuación A1-2 del Anexo 1 es posible calcular el factor de alcalinidad para una muestra líquida.

2.4.4. Conductividad eléctrica (CE)

La conductividad eléctrica es una medida de la concentración total de componentes ionizados en una muestra. Se encuentra estrechamente relacionada con la cantidad total de cationes o aniones y proporciona un indicio de la concentración de sales. Las mediciones de conductividad eléctrica usualmente se realizan a una temperatura estándar de 25°C, debido a que, dependiendo de la naturaleza de la muestra, la conductividad eléctrica puede aumentar un 2 por ciento por cada grado centígrado que aumente la temperatura (FAO, 2013). La conductividad eléctrica puede determinarse utilizando un equipo de campo para conductividad (mutiparamétrico), el cual mide la capacidad de la solución para conducir la corriente eléctrica.

2.4.5. Demanda química de oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) es un parámetro que indica la cantidad de oxígeno requerida para oxidar la materia orgánica e inorgánica soluble o en suspensión de una muestra de agua. Un método comúnmente empleado para determinar la DQO de una muestra de agua es a partir del uso de un agente oxidante, dicromato de potasio, en presencia de un catalizador como el sulfato de plata que estimula la oxidación de ciertos compuestos orgánicos y sulfato de mercurio que reduce la interferencia de la oxidación de los iones cloruro. La cantidad de dicromato consumida por la materia disuelta y suspendida es

equivalente a la masa de oxígeno. Esta técnica se describe en la norma mexicana NMX-AA-030/2-SCFI-2011 (DOF, 2011). La demanda química de oxígeno es un parámetro importante de la calidad del agua, debido a que proporciona un indicio para evaluar el efecto que las aguas residuales podrían presentar al descargarlas sobre un medio receptor. Los niveles altos de DQO indican que existe una gran cantidad de materia orgánica en la muestra, de esta manera los niveles de oxígeno disuelto se ven disminuidos, lo cual es perjudicial para los organismos acuáticos (Real Tech Water, 2017).

2.4.6. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO)

La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) es un indicador de la cantidad de oxígeno que requieren organismos biológicos aerobios para descomponer la materia orgánica de una muestra de agua. La DBO usualmente se mide como la masa (en miligramos) de oxígeno utilizado por un litro de muestra del efluente incubado a 20°C durante un periodo de cinco días. La DBO influye directamente sobre la cantidad de oxígeno disuelto en el medio receptor. Si la tasa de consumo de oxígeno por los microorganismos excede el suministro de oxígeno generado por las plantas acuáticas y por la disolución del aire se producen condiciones desfavorables para la vida acuática.

La diferencia principal entre DQO y DBO radica en que la DQO mide todo lo que se puede oxidar químicamente y la DBO solamente lo que se pueda oxidar biológicamente, por esa razón el valor de DQO generalmente es mayor al de DBO, dado que muchas sustancias pueden oxidarse químicamente, pero no biológicamente. A la relación entre ambos parámetros, DBO/DQO, se le conoce como relación de biodegradabilidad y va de cero a uno (cero biodegradabilidad y biodegradabilidad completa).

La norma mexicana NMX-AA-028-SCFI-2001 (DOF, 2001a) establece el método para determinar la DBO₅, el cual se basa en medir el oxígeno consumido por una población microbiana en condiciones en las que se ha inhibido los procesos fotosintéticos de producción de oxígeno y en circunstancias que favorecen el desarrollo de los microorganismos. Generalmente es mejor medir la demanda bioquímica de oxígeno última (DBO_u) pero esto depende de las facilidades con las que se cuente en los laboratorios. Es necesario tener en cuenta que un bajo valor de DBO no quiere decir necesariamente que la contaminación del agua sea baja o tolerable, ya que éste puede deberse a que la toxicidad afecte también a los microorganismos depuradores.

2.4.7. Ácidos grasos volátiles (AGV)

La concentración de ácidos grasos volátiles es uno de los parámetros que permiten evaluar eficazmente el proceso de degradación anaerobio. Su cuantificación es muy utilizada en los sistemas de control gracias a su rápida respuesta ante variaciones del sistema. En un proceso de degradación anaerobio óptimo, la concentración de AGV es relativamente baja y generalmente se encuentra en un rango de 50 a 250 mg/L medidos en función del ácido acético. Un aumento en la concentración de AGV en el sistema implica la desestabilización del proceso y, como consecuencia, una disminución de la producción de biogás rico en metano (FAO, 2011).

La caída del pH es causada frecuentemente por la acumulación de AGV y/o por la excesiva acumulación de dióxido de carbono. Para solucionar este problema es necesario reducir la carga orgánica en la alimentación hasta el punto en el cual los AGV se consuman más rápido de lo que se generan. Una vez que el exceso de AGV alcanza niveles óptimos, el pH del sistema retorna a rangos de operación normales y la metalogénesis

comienza a aumentar. En un reactor estable, operando bajo condiciones óptimas y en ausencia de factores de estrés, las etapas de acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis ocurren de manera simultánea, de modo que existe un equilibrio entre la velocidad de producción y consumo de los AGV. Sin embargo, la variación de parámetros tales como la temperatura, ausencia temporal de nutrientes y presencia de compuestos tóxicos, pueden ocasionar una acumulación de AGV (de Aquino y Chernicharo, 2005). De esta forma, es importante evaluar la concentración de AGV en los reactores anaerobios como forma de prevenir problemas operacionales o para implementar acciones correctivas. La determinación cuantitativa de cada AGV permite diagnosticar los consorcios de microorganismos más afectados por las condiciones adversas.

Una de las técnicas más empleadas para la determinación de AGV es la cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG-FID). En esta, la muestra pasa por una flama formada a partir de la combustión de aire e hidrógeno, la cual oxida a las moléculas orgánicas y produce partículas con carga eléctrica (iones). La generación de estos iones es proporcional a la concentración de las especies orgánicas en la muestra. Los iones se detectan a través de dos electrodos que proporcionan una diferencia de potencial (Abalos y col., 2000).

2.4.8 Biogás

El biogás es un término que se aplica a la mezcla de gases que se obtienen a partir de la descomposición en un ambiente anaerobio de los residuos orgánicos, como el estiércol animal o los productos de desecho de los vegetales. En este proceso, realizado por bacterias, se libera una mezcla de gases formada por metano, dióxido de carbono, hidrógeno, nitrógeno y sulfuro de hidrógeno. La composición del biogás depende del material degradado y del funcionamiento del proceso. Cuando el biogás tiene un contenido de metano superior al 45% es inflamable y, por tanto, aprovechable como fuente de energía. El biogás es un combustible económico y renovable; se utiliza en vehículos de motor, para mezclar con el gas del alumbrado y para usos industriales y domésticos. La producción de biogás, además de aprovechar materia considerada como desperdicio, origina como subproducto un fertilizante de calidad excelente. El biogás tiene mucha importancia en los países en desarrollo, y en los industrializados está aumentando la atención por este combustible para intentar reducir la dependencia actual del petróleo (Encarta, 2009).

2.4.8.1 Metano

El metano es el principal componente del biogás. Se caracteriza por ser un gas de efecto invernadero, incoloro, inodoro e inflamable. Se encuentra en el gas natural y es apreciado por su calor de combustión (Howarth y col., 2011).

La cantidad teórica de metano es un parámetro ampliamente utilizado para determinar la porción máxima de metano que es posible obtener en un proceso específico. El volumen de metano teórico que se produce en un tratamiento anaerobio puede determinarse en función de la diferencia de la demanda química de oxígeno del influente y del efluente, de acuerdo con la Ecuación 2-13 (Bernal-González y col., 2012):

$$V_{CH_4} = \frac{\Delta DQO \cdot R \cdot T}{K_{CH_4} \cdot P} \quad \text{Ecuación 2-13}$$

donde V_{CH_4} es el volumen teórico de metano producido en condiciones de laboratorio, R es la constante universal de los gases, T es la temperatura absoluta de operación, P es la presión atmosférica, y K_{CH_4} es una constante que relaciona la cantidad de gramos de DQO necesarios para producir un mol de metano (Ecuación 2-14):

$$K_{CH_4} = 64 \frac{\text{g de DQO}}{\text{mol de CH}_4} \quad \text{Ecuación 2-14}$$

2.4.9. Sulfatos (SO_4^{2-}) y sulfuros (S^{2-})

La presencia de altas concentraciones de sulfatos en las vinazas puede producir la inhibición del proceso anaerobio, afectando principalmente la metanogénesis. En presencia de sulfatos, las *arqueas* metanogénicas compiten con las bacterias sulfato-reductoras por los mismos sustratos, acetato e hidrógeno, mostrando estas últimas ventajas termodinámicas y cinéticas sobre las primeras. Por medio de esta competencia, se determina la proporción de ácido sulfhídrico y metano en el biogás producido (Castro-González, 2004). Los sulfuros son inhibidores para los consorcios microbianos, especialmente los metanogénicos. La forma más tóxica corresponde a la forma no ionizada del ácido sulfhídrico, favoreciéndose su formación a pH y temperatura bajos. La presencia de sulfuros en los efluentes residuales ocasiona importantes perjuicios al medio receptor, tales como olores, corrosión y toxicidad (Castro-González, 2004). La presencia de sulfatos por sí sola es inofensiva, sin embargo, puede acarrear graves problemas si los efluentes que los contienen son vertidos en cuerpos receptores contaminados por materia orgánica, debido a que se favorece la reducción de sulfatos a sulfuros. Por este motivo es importante determinar la presencia de sulfuros y sulfatos en los efluentes de los reactores tipo RALLFA (Castro-González, 2004).

En la norma mexicana NMX-AA-074-SCFI-2014 (DOF, 2014) se establece un método para la determinación de sulfatos en los efluentes residuales. Este método consiste en la precipitación del ion sulfato con cloruro de bario, en un medio ácido, produciéndose cristales de sulfato de bario. La concentración de masa del ion sulfato se mide por comparación de la lectura con una curva analítica calibrada. La determinación de sulfuros se puede realizar a través del método descrito en el proyecto de norma mexicana PROY-NMX-AA-084-SCFI-2005 (DOF, 2005) el cual se basa en la reacción del ion sulfuro con yodo en un medio ácido, a través de una titulación con tiosulfato de sodio.

2.4.10. Sólidos

Todas las aguas contienen sustancias disueltas en cantidades variables dependiendo de su origen. Las vinazas, por ejemplo, contienen varios tipos de sólidos, entre ellos, sólidos disueltos, suspendidos y volátiles. En las plantas potabilizadoras el análisis de sólidos es importante como indicador de la efectividad del proceso de tratamiento, debido a que estos sólidos junto con las sales disueltas pueden afectar adversamente la calidad del cuerpo receptor de varias formas, por ejemplo, pueden incrementar la temperatura del agua debido a que estas partículas absorben más calor proveniente de la radiación del sol, y también pueden disminuir la cantidad de oxígeno disuelto en el agua. Asimismo, la cuantificación de los sólidos suspendidos totales (SST) y/o sólidos suspendidos volátiles (SSV) permiten determinar la cantidad total de biomasa presente en una muestra (Arnáiz y col., 2000).

La norma mexicana NMX-AA-034-SCFI-2015 (DOF, 2015) establece el método para la determinación de sólidos disueltos y sales suspendidas y puede aplicarse a efluentes residuales. El método se basa en la medición cuantitativa de los sólidos y de la materia orgánica, mediante la evaporación y calcinación de la muestra a temperaturas específicas. Los parámetros se pueden determinar mediante este procedimiento son: sólidos totales, sólidos totales volátiles, sólidos suspendidos volátiles, y sólidos suspendidos totales.

2.4.10.1. Sólidos totales (ST)

La determinación de sólidos totales proporciona una medida de todos los sólidos presentes en una muestra de agua: suspendidos, disueltos y coloidales, incluidas las sales disueltas y partículas sólidas como el plancton.

2.4.10.2. Sólidos totales volátiles (STV)

Los sólidos totales volátiles son aquella porción de sólido total que se volatiliza de una muestra cuando se calienta durante dos horas a 550°C. Los sólidos volátiles contienen componentes orgánicos, los cuales teóricamente pueden ser convertidos a metano en la degradación.

2.4.10.3. Sólidos suspendidos volátiles (SSV)

Los sólidos suspendidos volátiles se encuentran constituidos por sólidos sedimentables, sólidos en suspensión y sólidos coloidales, que se separan de la fase líquida por filtración. Su parte orgánica se volatiliza por el efecto de la calcinación a 550°C en un tiempo de 20 a 30 minutos.

2.4.10.4. Sólidos suspendidos totales (SST)

El conjunto de sólidos suspendidos totales lo conforman los sólidos sedimentables, los sólidos suspendidos y los sólidos coloidales que son retenidos por un filtro de fibra de vidrio con poro de 1.5 µm. La muestra es secada y llevada a masa constante a una temperatura de 105°C.

2.4.11. Fósforo (P)

El fósforo es un nutriente esencial para el crecimiento de los organismos, por lo que la descarga de fosfatos en cuerpos de aguas puede estimular el crecimiento de macro y microorganismos fotosintéticos en cantidades nocivas, fenómeno conocido en los cuerpos de agua como eutrofización (alimentación verdadera del griego) (Durán-de-Bazúa, 1994). El fósforo comúnmente se encuentra en las aguas naturales y residuales en forma de fosfatos. Éstos se clasifican en ortofosfatos, fosfatos condensados y compuestos organofosfatados, los cuales pueden provenir de una gran cantidad de fuentes como lo son: procesos biológicos, fertilizantes, productos de limpieza, etc. (Durán-de-Bazúa, 1994). En la norma mexicana NMX-AA-029-SCFI-2001 (DOF, 2001b) se presenta un método para la determinación de fósforo el cual se basa en la reacción de la muestra con ácido molíbdico, que a su vez es reducido con cloruro de estaño y, posteriormente, se cuantifica espectrofotométricamente a 690 nm.

2.5. Polifenoles

Los polifenoles constituyen una amplia variedad de sustancias cuya estructura se encuentra conformada por múltiples unidades fenólicas. Pueden llegar a ser desde moléculas simples como los ácidos fenólicos o fenolcarboxílicos, hasta estructuras complejas y polimerizadas como los taninos.

Los polifenoles provenientes de las plantas, como la caña de azúcar, comúnmente se encuentran unidos a glúcidos en forma de glucósidos (García y col., 1997).

En el trabajo de Duarte-Almeida y col. (2006) se identificaron y cuantificaron compuestos fenólicos presentes en el jugo de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*). Entre los más abundantes destacan los flavonoides y los ácidos fenólicos. Los flavonoides con mayor presencia fueron la apigenina, la luteolina y derivados de la tricina; mientras que los ácidos fenólicos más importantes fueron los ácidos hidroxicinámicos, cafeico y sinápico. Las estructuras de estos compuestos se muestran en la Figura 2-5.

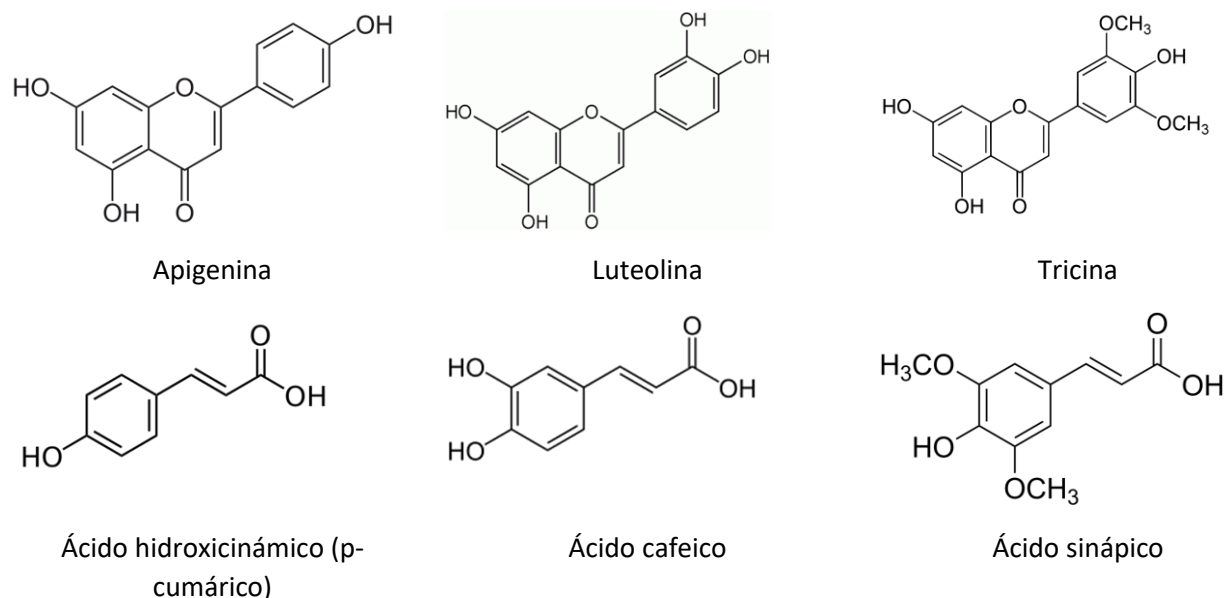


Figura 2-5. Estructura de los flavonoides y ácidos fenólicos más abundantes en el jugo de caña (*Saccharum officinarum*) (Duarte-Almeida y col., 2006).

Los polifenoles se pueden clasificar en diversos grupos. Esta clasificación puede ser de acuerdo con el número de anillos fenólicos en las estructuras, por los elementos estructurales que unen los anillos, o por el tipo de sustituyentes. Una de las clasificaciones más aceptadas es la que se muestra en la Figura 2-6 (Hardman, 2014).

Uno de los mayores problemas con las vinazas residuales es su color, usualmente café oscuro, debido mayoritariamente a la presencia de polifenoles, como el ácido tánico, ácido húmico, melanoidinas, entre otros (Wilkie y col., 2000). La concentración de polifenoles en aguas residuales de destilerías puede variar desde 477 mg/L como lo señalan Arimi y col. (2014), hasta 1083 mg/L para una solución de vinaza diluida al 10% en volumen como lo mencionan España-Gamboa y col. (2017).

Usualmente la cuantificación de polifenoles se reporta como mg equivalentes de ácido gálico, dado que éste es uno de los más abundantes en las plantas, es muy soluble y estable en soluciones acuosas, de tal forma que se convierte en un blanco ideal para las curvas de calibración (Fischer y col., 2011).

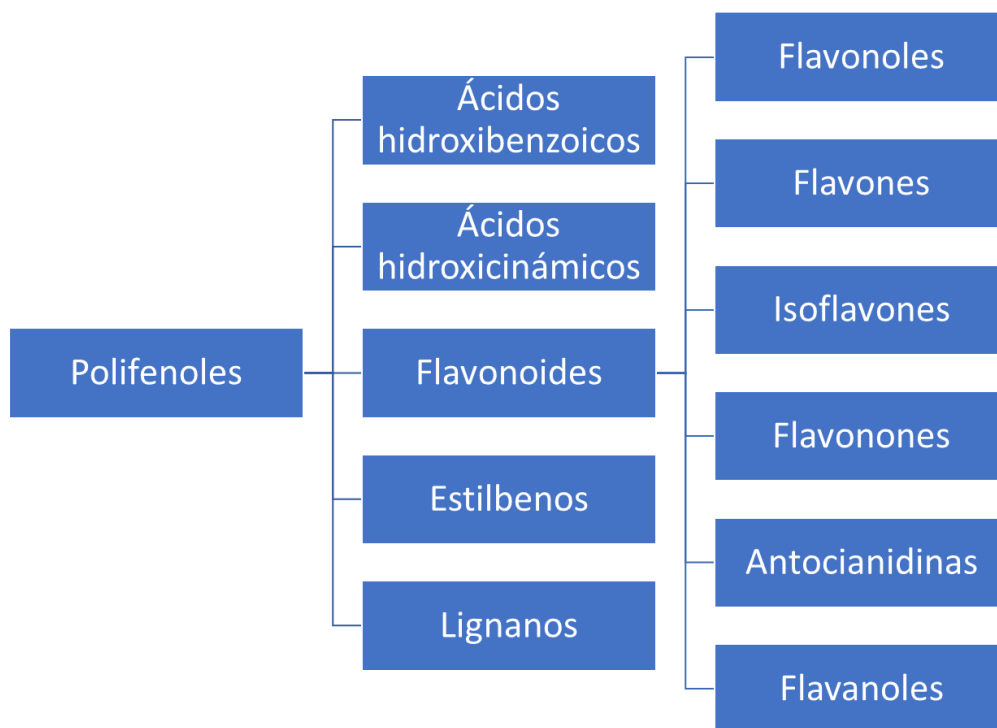


Figura 2-6. Clasificación de los polifenoles (Hardman, 2014)

2.5.1. Propiedades de los polifenoles

Los compuestos polifenólicos son sustancias recalcitrantes que pueden inhibir o reducir la actividad de los microorganismos y deben ser removidos durante los tratamientos de aguas residuales debido al impacto ambiental que presentan. Las descargas con alto contenido de polifenoles promueven la putrefacción de la materia orgánica, emitiendo olores desagradables (Melamane y col., 2007). A pesar de que los polifenoles inhiben el desarrollo de diversos microorganismos, también se ha demostrado que poseen propiedades benéficas para la salud. Los polifenoles presentes en el té verde como el galato de epigallocatequina (EGCG) pueden inhibir el crecimiento de patógenos como *Helicobacter pylori* y *Clostridium perfringens*; pero también pueden estimular el crecimiento de algunas especies benignas de la flora intestinal como *Clostridium spp*, *Bifidobacterium spp*, y probióticos como los *Lactobacillus spp*. (Nakamura y col., 2015). Los polifenoles modifican la microbiota intestinal y por lo general proporcionan efectos benéficos a la salud, pues la microbiota intestinal desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los compuestos químicos que se encuentran en los alimentos (Duda-Chodak y col., 2015).

Los polifenoles difícilmente son degradados por los microorganismos dada su compleja estructura. Para que puedan ser metabolizados por la microbiota intestinal necesitan volverse bioactivos, de tal forma que deben experimentar diversas transformaciones intestinales por la acción de enzimas digestivas o por el mismo metabolismo de la microbiota. Los polifenoles bioactivos son absorbidos y transportados en la sangre hacia múltiples órganos donde tienen lugar otras transformaciones enzimáticas y finalmente son excretados a través de la orina. Durante el tránsito por los órganos los polifenoles llevan a cabo actividades antivirales, antibacterianas y antiparasitarias, y de ahí su relevancia para la salud humana (Marín y col., 2015). El nivel de biotransformaciones que tiene un polifenol a lo largo de tracto digestivo está determinado por dos factores importantes: por su estructura química y por la variedad de especies que conforman la

microbiota intestinal. Por ejemplo, la quercetina es un flavonol que comúnmente se encuentra en alimentos como las cebollas, manzanas y brócolis. En el trato digestivo especies de la microbiota, como la *Bacteroides distasonis*, desglucosilan la quercetina produciendo un intermediario que es degradado fácilmente por otras especies, lo cual lleva a la formación de compuestos fenólicos más simples. Este proceso de degradación de muestra en la Figura 2-7. Al igual que la quercetina existen otros polifenoles que pueden ser transformados en compuestos más sencillos a partir de la acción de los microorganismos. Algunos de ellos se muestran en la Tabla 2-3 donde se incluyen los nombres de las bacterias presentes en la degradación.

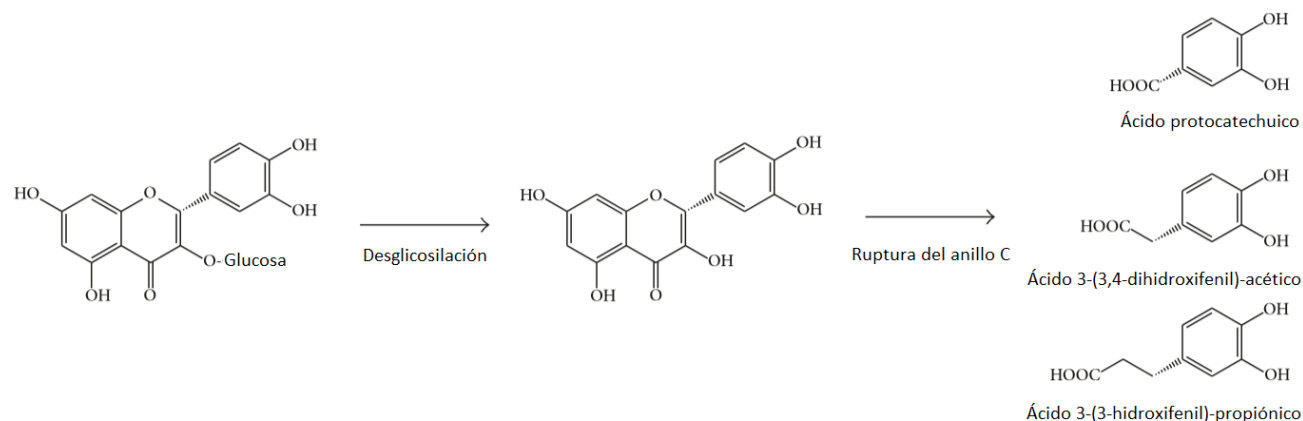


Figura 2-7. Degradación de la quercetina en compuestos fenólicos simples (Marín y col., 2015)

Tabla 2-3. Metabolitos derivados a partir de polifenoles y de la acción microbiana (Marín y col., 2015)

	Precursor	Metabolitos identificados	Bacterias
Flavonoles	Kaempferol	Ácido 2-(4-Hidroxifenil)-propiónico	<i>Clostridium orbiscidens</i>
	Miricetina	Ácido 2-(3,5-Dihidroxifenil)-acético Ácido 2-(3-Hidroxifenil)-acético	<i>C. orbiscidens</i> <i>E. oxidoreducens</i>
Flavononas	Naringenina	Ácido 3-(4-Hidroxifenil)-propiónico	<i>Clostridiumstrains</i>
Antocianinas	Cianidina	Ácido 3,4-Dihidroxibenzoico	<i>Lactobacillus plantarum</i>
	Peonidina	Ácido 3-Metoxi4-hidrobenzoico	<i>Lactobacillus casei</i>
Isoflavonas	Malvidina	Ácido 3,4-Dimetoxibenzoico	<i>Bifidobacterium lactis BB-12</i>
	Daidzeína	(S)-Equol	<i>Bacteroides ovatus</i>
Flavonas	Apigenina	Ácido 3-(3,4-Dihidroxifenil)-propiónico	<i>C. orbiscidens</i>

2.5.2. Determinación y cuantificación de polifenoles

Los polifenoles pueden ser determinados y cuantificados por diversos métodos. Entre los más utilizados destacan el método de Folin-Ciocalteu, la reacción con 4-aminoantipirina, y el uso de cromatografía de líquidos de alta resolución. Esta fue la metodología que se empleó en esta investigación.

2.5.2.1 Adaptación del método tradicional Folin-Ciocalteu

Este método consiste en la reducción de una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico (componentes del reactivo de Folin-Ciocalteu) a óxidos de tungsteno y molibdeno, respectivamente, en medio básico con presencia de carbonato de sodio. Esto propicia la oxidación de los polifenoles y la formación de un complejo de molibdeno con coloración azul en la muestra, el cual resulta susceptible de ser medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 765 nm. La reacción que se lleva a cabo es una reacción de óxido-reducción y puede ser utilizada como medida de la actividad antioxidante. En la Figura 2-8 se muestra el mecanismo de reacción del ácido gálico con el reactivo de Folin-Ciocalteu.

Este método sufre de interferencias de varios compuestos, como: ácido ascórbico, glúcidos reductores, aminoácidos y proteínas. Algunos de ellos resultan susceptibles de ser eliminados por calentamiento, pero otros no. Otra desventaja es que el color evoluciona con el tiempo, de tal forma que las muestras deben ser medidas en el mismo lapso (Caqueret y col., 2008).

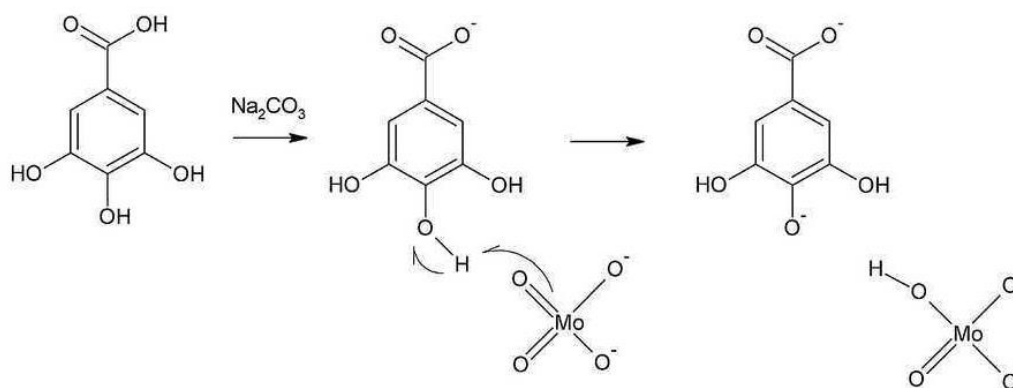


Figura 2-8. Reacción entre el ácido gálico y el reactivo de Folin-Ciocalteu (Muñoz-Bernal y col., 2017)

2.5.2.2. Reacción con 4-aminoantipirina

Este método se basa en la oxidación de los compuestos fenólicos y su subsecuente complejación utilizando 4-aminoantipirina como reactivo y un agente oxidante como catalizador. Las mediciones se realizan en un espectrofotómetro de UV/Vis a una longitud de onda de 510 nm (MNCN, 2010). Se debe tener en cuenta que existen algunos compuestos que pueden ocasionar interferencia en los resultados. Algunos de ellos son: glucosa, fructosa, sacarosa, ácido tartárico, ácido ascórbico, metanol, sulfato de amonio y cloruro de potasio. La interferencia por estos compuestos se puede evaluar examinando las diferencias entre lecturas de absorbancia obtenidas de las soluciones preparadas de ácido gálico con y sin la interferencia de los compuestos.

2.5.2.3. Cromatografía de líquidos de alta eficiencia o resolución

En el artículo de Fernandes y col. (2015) se detalla la cuantificación de una muestra con contenido de polifenoles utilizando cromatografía de líquidos de alta resolución, CLAR (*HPLC*, en inglés) acoplada a un detector de UV visible. La separación cromatográfica se lleva a cabo empleando una fase móvil acuosa de ácido fosfórico al 0.05% como solvente A y metanol como solvente B. Se utiliza una velocidad de flujo de 1 mL/min. Los picos en el detector de UV visible se manifiestan a una longitud de onda de 271 nm y se identifican al compararlos con el tiempo de retención de una solución estándar de ácido gálico. Las ventajas del método descrito son que la cuantificación se realiza de una forma rápida y fácil, por lo que puede ser aplicado para análisis de control de calidad.

2.5.2.4. Identificación de polifenoles a partir de técnicas de microscopía

Aunque no se emplearon estas metodologías en esta investigación se pueden identificar empleando microscopios electrónicos de barrido (MEB) comúnmente conocidos por sus siglas en inglés como *SEM* (*Scanning Electron Microscope*) es posible identificar polifenoles tal y como lo señalan Shah y col., (2016) quienes analizaron un extracto líquido de *Pteropryum Scoparium* e identificaron que las hojas de esta planta son una gran fuente de polifenoles. Esta técnica usualmente se realiza en conjunto con la cuantificación total de polifenoles empleando el reactivo de Folin-Ciocalteu y su subsecuente medición espectrofotométrica. De igual manera, es posible identificar complejos fenólicos luminiscentes o electroluminiscentes mediante microscopía de emisión de luz (MEL) mejor conocida por sus siglas en inglés como LEM (*Light Emission Microscopy*) tal y como lo mencionan Li y col., (2014) quienes sintetizaron un complejo fenólico fotoluminiscente y electroluminiscente de iridio.

2.6. Adsorción con carbón activado

Un método alternativo para el tratamiento de aguas residuales consiste en adicionar carbón en polvo a las corrientes acuosas utilizando agitadores mecánicos o aspersores de aire para mantener las partículas suspendidas. Es preferible trabajar con partículas finas de carbón activado debido a que la adsorción es mucho más rápida en comparación con partículas granulares, sin embargo, para recuperar partículas finas de carbón activado gastado es necesario utilizar procesos de filtración y sedimentación específicos. El carbón activado es un material monocristalino que se genera principalmente a partir de la descomposición térmica de la madera, cortezas vegetales y carbón. Tiene áreas superficiales que rondan de 300 a 1200 m²/g y un promedio de diámetro de poro de 10 a 60 Å. El carbón activado es ampliamente utilizado para remover contaminantes a partir de desechos acuosos y presenta la ventaja de que sustancias orgánicas como los polifenoles pueden ser adsorbidos fácilmente en él (Harriott, 1991).

La cantidad de carbón que se agrega a las corrientes residuales varía desde 10 ppm hasta más de 1000 ppm, dependiendo de la naturaleza del efluente y de los estándares requeridos. Los polifenoles adsorbidos pueden ser recuperados empleando solventes como el metanol, la acetona y la dimetilformamida (Cooney y col., 1983). Además, el carbón activado puede regenerarse con aire húmedo a 250°C, destruyendo la biomasa y la mayoría de las especies adsorbidas, lo cual permite reutilizar el carbón activado varias veces en ese proceso.

2.6.1. Modelos de isotermas de adsorción

Las isotermas de adsorción son ecuaciones que relacionan la cantidad de adsorbato en el adsorbente a una temperatura específica. Algunos de los modelos más utilizados son el de Langmuir, Freundlich y Dubinin-Radushkevich. En la Figura 2-9 se presentan ciertos tipos de isotermas de adsorción.

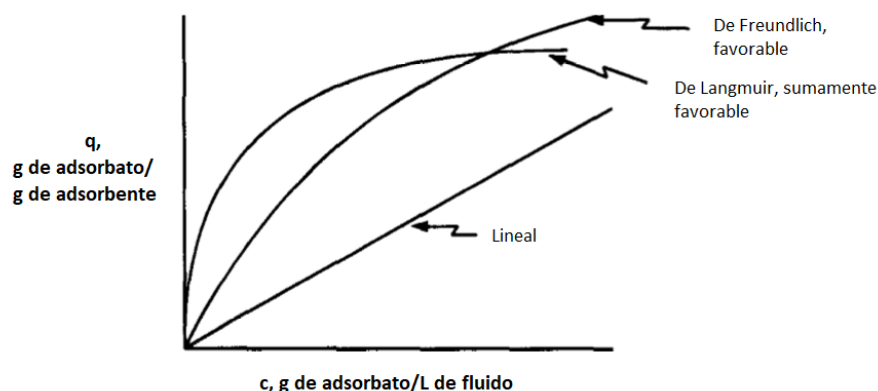


Figura 2-9. Algunos tipos de isotermas de adsorción (Geankoplis, 2006)

2.6.1.1. Isotherma de Langmuir

La ecuación de Langmuir (Ecuación 2-15) se utiliza para describir la adsorción en monocapa. Tiene una base teórica y se deduce suponiendo que existen un número fijo de sitios activos para la adsorción, en la que solamente se forma una capa (monocapa), la adsorción es reversible y alcanza una condición de equilibrio.

$$q = \frac{q_0 C}{K + C} \quad \text{Ecuación 2-15}$$

La variable q representa la cantidad de adsorbato adsorbida en el equilibrio, C es la concentración en el equilibrio, q_0 es una constante empírica y K es la constante de adsorción de Langmuir. Si al graficar $1/q$ contra $1/c$ se obtiene una línea recta, la relación K/q_0 representa la pendiente y $1/q_0$ representa la ordenada al origen.

2.6.1.2. Isotherma de Freundlich

La isoterma de Freundlich (Ecuación 2-16) es una ecuación empírica que sirve para aproximar los datos de diversos sistemas de adsorción físicos y es especialmente útil para líquidos. Se basa en la suposición de que la superficie del adsorbente es heterogénea y está compuesta por distintos sitios de adsorción.

$$q = K_F C^n \quad \text{Ecuación 2-16}$$

K_F es la constante de Freundlich y es un indicador de la capacidad de adsorción y $1/n$ es una constante empírica que se relaciona con la intensidad de adsorción, en este caso, la afinidad de los polifenoles con el carbón activado. Si al graficar $\ln(q)$ contra $\ln(C)$ se obtiene una línea recta, el valor de la pendiente es igual a n , y el exponente natural de la ordenada al origen proporciona el valor de K_F .

2.6.1.3. Isoterma de Dubinin – Radushkevich

El mecanismo de adsorción también puede ser explicado por la ecuación de Dubinin-Radushkevich (Ecuación 2-17), la cuál es similar al modelo de Langmuir, pero no supone que las superficies de adsorción son homogéneas.

$$q = q_m \exp \left\{ -B \left[RT \ln \left(1 + \frac{1}{C} \right) \right]^2 \right\} \quad \text{Ecuación 2-17}$$

La capacidad de adsorción monocapa es q_m , B es una constante relacionada con la energía más probable de adsorción, E, la cual se define como $E=(2B)^{-1/2}$, R es la constante universal de los gases y T es la temperatura absoluta. Si al establecer como variable $\varepsilon=RT\ln(1+1/C)$, y al graficar $\ln(q)$ contra ε^2 se obtiene una línea recta, el valor de la pendiente es -B, y el exponente natural de la ordenada al origen es q_m .

2.6.2 Energía libre de Gibbs en el proceso de adsorción

Para determinar qué tan favorecido se ve el proceso de adsorción de polifenoles en carbón activado es necesario calcular la energía libre de Gibbs (Ecuación 2-18), ΔG° , donde K_a es la constante termodinámica de equilibrio, R es la constante universal de los gases y T es la temperatura absoluta. De acuerdo con Marsal y col. (2012) la contante de equilibrio termodinámica puede ser reemplazada por la constante de adsorción de Langmuir. El proceso de adsorción usualmente se lleva a cabo a temperatura ambiente, debido a que en la mayoría de los sistemas a medida que aumenta la temperatura la cantidad adsorbida por el adsorbente va disminuyendo con rapidez. Por esta razón, si lo que se desea es un proceso de desorción, este se ve favorecido al aumentar la temperatura (Geankoplis, 2006).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_a \quad \text{Ecuación 2-18}$$

2.6.3. Balance de materia en el proceso de adsorción

Mediante un balance de materia, y conociendo la ecuación de la isoterma de adsorción para el sistema en estudio, es posible calcular las etapas teóricas necesarias para alcanzar una determina concentración final del adsorbato en el efluente. El balance de materia se muestra en la Ecuación 2-19, donde q_F es la concentración inicial del soluto adsorbido en el adsorbente, q es la concentración de soluto en el equilibrio, M es la cantidad de adsorbente, S es el volumen de la solución de alimentación, C es la concentración de equilibrio, y C_F es la concentración inicial en la solución.

$$q_F M + c_F S = q M + c S \quad \text{Ecuación 2-19}$$

A continuación, se presenta el capítulo correspondiente a la metodología seguida en esta investigación para alcanzar el objetivo general planteado y corroborar la hipótesis.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

En este capítulo se presenta la descripción de la fase experimental. Se trabajó con tres reactores tipo RALLFA construidos a escala de laboratorio, alimentados con vinazas diluidas provenientes de un ingenio azucarero alcoholero cooperante, las cuales se almacenaron a temperatura de refrigeración a su llegada a los laboratorios para reducir una posible variabilidad en su composición. La evaluación de la carga orgánica y de algunos contaminantes a productos gaseosos, biogás, se efectuó utilizando las metodologías que se describen en el Anexo 1, las cuales han sido utilizadas en estudios previos y han arrojado buenos resultados.

3.1. Vinazas

Las vinazas provienen de un ingenio azucarero alcoholero cooperante ubicado en Veracruz, México. Se almacenaron en un cuarto frío a una temperatura de $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ con el propósito de conservar sus características físicas y químicas. Las vinazas se caracterizaron de manera general midiendo pH, DQO, DBO₅, todas las formas de sólidos (totales, suspendidos, volátiles), sulfatos, sulfuros, fósforo total y ortofosfatos. Las vinazas analizadas se consideran muestras representativas puesto que se atribuye a que fueron colectadas aleatoriamente, esto es, sin ningún tipo de sesgo, reúnen las características principales de la población, y el tamaño de las muestras proporcionadas es relevante y se empleó un solo lote de 200 L para toda la investigación.

3.2. Técnicas analíticas

En la Tabla 3-1 se resumen las técnicas analíticas utilizadas para la caracterización de las corrientes de vinaza de los reactores tipo RALLFA, mediante la evaluación de parámetros operacionales. En cada evaluación las muestras se analizaron cuando menos por duplicado y para garantizar la reproducibilidad de las técnicas, algunas muestras determinadas fueron analizadas por otros analistas en el laboratorio. La fase general de experimentación fue de 15 meses, iniciando en mayo del 2017 y culminando en julio del 2018.

Tabla 3-1. Técnicas analíticas para la evaluación de parámetros

Parámetro	Normativa o método analizado	Periodo de evaluación
AGV, mg/L	CG-DIF (Adorno y col., 2014)	Diario
Alcalinidad, mg CaCO ₃	NMX-AA-036-SCFI, 2001 (DOF, 2001c)	Diario
Biogás, L/d	Desplazamiento de líquidos (Villalobos-Juvenal, 2015)	Diario
Conductividad eléctrica, mS/cm	Equipo de campo multiparamétrico	Diario
DBO ₅ , mg/L	NMX-AA-028-SCFI-2001 (DOF, 2001a)	Semanal
DQO, mg/L	NMX-AA-030/2-SCFI-2011 (DOF, 2011)	Diario
Factor de alcalinidad	Valoración con ácido-base (Rincón-Acelas, 2008)	Diario
Fósforo y ortofosfatos, mg/L	NMX-AA-029-SCFI-2001 (DOF, 2001b)	Semanal
pH	Equipo de campo multiparamétrico	Diario
Polifenoles, mg/L	Folin-Ciocalteu. Whaterhouse (2002)	Diario
SSV, mg/L	NMX-AA-034-SCFI-2015 (DOF, 2015)	Semanal
SST, mg/L	NMX-AA-034-SCFI-2015 (DOF, 2015)	Semanal

Parámetro	Normativa o método analizado	Periodo de evaluación
ST, mg/L	NMX-AA-034-SCFI-2015 (DOF, 2015)	Semanal
STV, mg/L	NMX-AA-034-SCFI-2015 (DOF, 2015)	Semanal
Sulfatos, mg/L	NMX-AA-074-SCFI-2014 (DOF, 2014)	Diario
Sulfuros, mg/L	PROY-NMX-AA-084-SCFI-2005 (DOF, 2005)	Diario
Temperatura, °C	Equipo de campo multiparamétrico	Diario

3.2.1. Parámetros de seguimiento

Con el propósito de evaluar la estabilidad en el proceso de degradación anaerobio llevado a cabo dentro de los reactores tipo RALLFA, se cuantificaron continuamente parámetros de seguimiento: temperatura, pH, factor de alcalinidad y producción de ácidos grasos volátiles.

La temperatura de operación de los reactores se midió empleando termómetros de vidrio con columna de mercurio, mientras que la temperatura de las corrientes de vinaza se midió utilizando un termopar incorporado a un equipo de medición multiparamétrico, siguiendo los pasos descritos en el manual de usuario y en la NMX-AA-007-SCFI-2013 (DOF, 2013) (A1.1.).

La medición del pH se realizó empleando la metodología descrita en la norma mexicana NMX-AA-008-SCFI-2016 (DOF, 2016) y utilizando un potenciómetro (pH-metro) Hanna modelo Hi-4221. El procedimiento se describe en el Anexo A1.2.

La determinación del factor de alcalinidad se efectuó mediante la técnica descrita en el Anexo A1.3 (Rincón-Acelas, 2008), en la cual la muestra se titula con una concentración conocida de ácido sulfúrico hasta alcanzar dos valores específicos de pH: 5.75 y 4.3. Se registran los volúmenes de ácido utilizados y se sustituyen en la Ecuación A1-1.

La cuantificación de ácidos grasos volátiles se realizó mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (CG-DIF). Las muestras se analizaron diariamente después de que los efluentes eran recolectados. El cromatógrafo de gases utilizado es de la marca Perkin Elmer y se utilizó Helio de alta pureza como gas acarreador con una presión de 85.5 kPa (12.4 psi). La temperatura inicial de la columna fue de 70°C, se mantuvo 1.5 minutos y posteriormente aumentó a una velocidad de 10°C/min hasta alcanzar 110°C. El tiempo de corrida total fue de 5.5 minutos. La temperatura del inyector se fijó en 190°C y la del detector de ionización de flama (DIF) en 210°C. Los ácidos grasos se identificaron en tiempos de retención específicos obtenidos a partir del análisis de muestras estándar con concentraciones conocidas. Los ácidos grasos identificados y sus respectivos tiempos de retención se presentan en el Anexo A1.4.

3.2.2. Mediciones de alcalinidad, biogás total y conductividad eléctrica

La alcalinidad se cuantificó utilizando la metodología descrita en la NMX-AA-036-SCFI, 2001 (DOF, 2001c), adaptada con la presentada por Jenkins y col. (1991). En ella se titula la muestra con una solución de concentración conocida de ácido sulfúrico hasta alcanzar un pH final de 4.3, correspondiente al vire del naranja de metilo de color canela a amarillo. En el Anexo A1.3 se presenta esta metodología de manera completa.

La producción de biogás a partir de la degradación anaerobia se cuantificó de forma semejante a la metodología que utilizó Villalobos-Juvenal (2015), la cual tiene como fundamento el desplazamiento de líquidos. En el Anexo A1.5 se detalla la metodología completa.

La medición de conductividad eléctrica en las corrientes de los reactores RALLFA se realizó utilizando un electrodo específico de un potenciómetro Hanna modelo Hi-4221 siguiendo el instructivo para el usuario. El procedimiento está señalado en el Anexo A1.6.

3.2.3. Mediciones de demanda bioquímica y química de oxígeno, DBO₅ y DQO

La DBO a los 5 días fue cuantificada empleando la NMX-AA-030/2-SCFI-2001 (DOF, 2001a). En la cual determinadas cantidades de muestra y de agua de dilución se adicionan a frascos Winkler ámbar y se mide diariamente durante 5 días seguidos el consumo de oxígeno. Los reactivos preparados, así como la metodología completa se describen en el Anexo A1.7.

La DQO se cuantificó empleando el método de reflujos cerrado descrito en la NMX-AA-030/2-SCFI-2011 (DOF, 2011). En el cual las muestras son oxidadas con dicromato de potasio bajo condiciones específicas. Las muestras se leen en un espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda de 600 nm, utilizando una curva de calibración previamente elaborada se obtiene la DQO de la muestra. Esta metodología se detalla en el Anexo A1.8.

3.2.4. Mediciones de fósforo total y ortofosfatos, sólidos en todas sus formas, y, sulfatos y sulfuros

La determinación de sólidos totales, sólidos volátiles, sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles se realizó con base en la NMX-AA-034-SCFI-2015 (DOF, 2015), en la cual las muestras son sometidas a procesos de calentamiento y calcinación a temperaturas de 105°C y 550°C, respectivamente. Los Anexos A1.9.1 a 4 presentan la descripción completa para la cuantificación de estos parámetros.

La cuantificación de fósforo total y ortofosfatos se realizó mediante la técnica de cloruro estano descrito en la NMX-AA-029-SCFI-2001 (DOF, 2001b). En la cual el fósforo reacciona con ácido molibdico generando un compuesto que a su vez es reducido con cloruro de estaño a azul de molibdeno. Esto propicia una coloración azul en la muestra que resulta susceptible de medirse espectrofotométricamente a una longitud de onda de 690 nm. Con una curva de calibración previamente elaborada se puede conocer la concentración de dichos compuestos. En el Anexo A1.10. se presenta la metodología completa.

La cuantificación de sulfatos se realizó mediante la NMX-AA-074-SCFI-2014 (DOF, 2014), la cual tiene como principio la precipitación de sulfatos en forma de sulfato de bario al agregar cloruro de bario a la muestra. Toda esta metodología se encuentra en el Anexo A1.11. Para los sulfuros presentes en las muestras de vinaza se usó la técnica yodométrica descrita en PROY-NMX-AA-084-SCFI-2005 (DOF, 2005). El método se fundamenta en la adición de yodo en exceso que oxida a los sulfuros. El yodo remanente es cuantificado mediante una valoración con tiosulfato de sodio utilizando almidón como indicador, y a partir de ello conocer la concentración inicial de sulfuros en la muestra. El Anexo A1.12 se dan los pasos a seguir para su medición.

3.2.5. Mediciones de polifenoles. Método de Folin-Ciocalteu

La determinación y cuantificación de polifenoles en las corrientes de los reactores tipo RALLFA se realizó utilizando la metodología descrita en Waterhouse (2002). La preparación de los reactivos necesarios para la cuantificación se presenta en la Figura 3-1, y el procedimiento desarrollado para la cuantificación de polifenoles se presenta en la Figura 3-2.

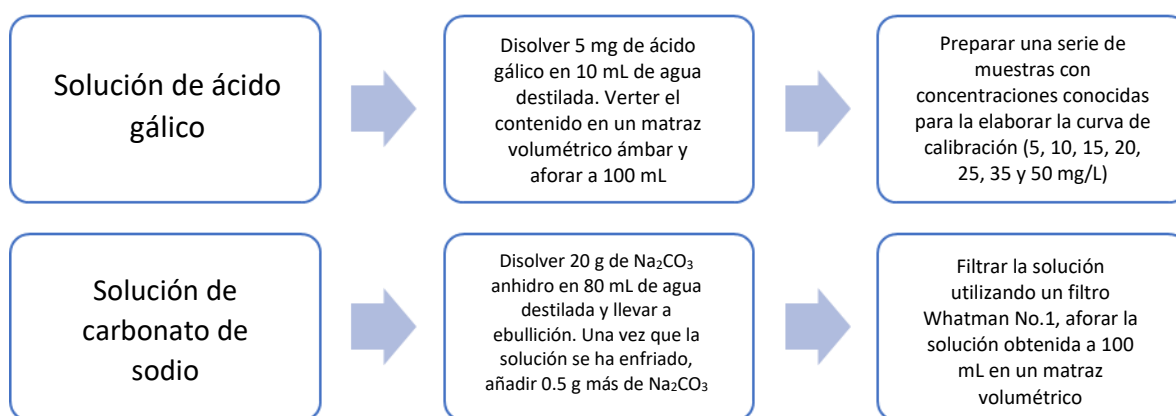


Figura 3-1. Reactivos para cuantificación de polifenoles

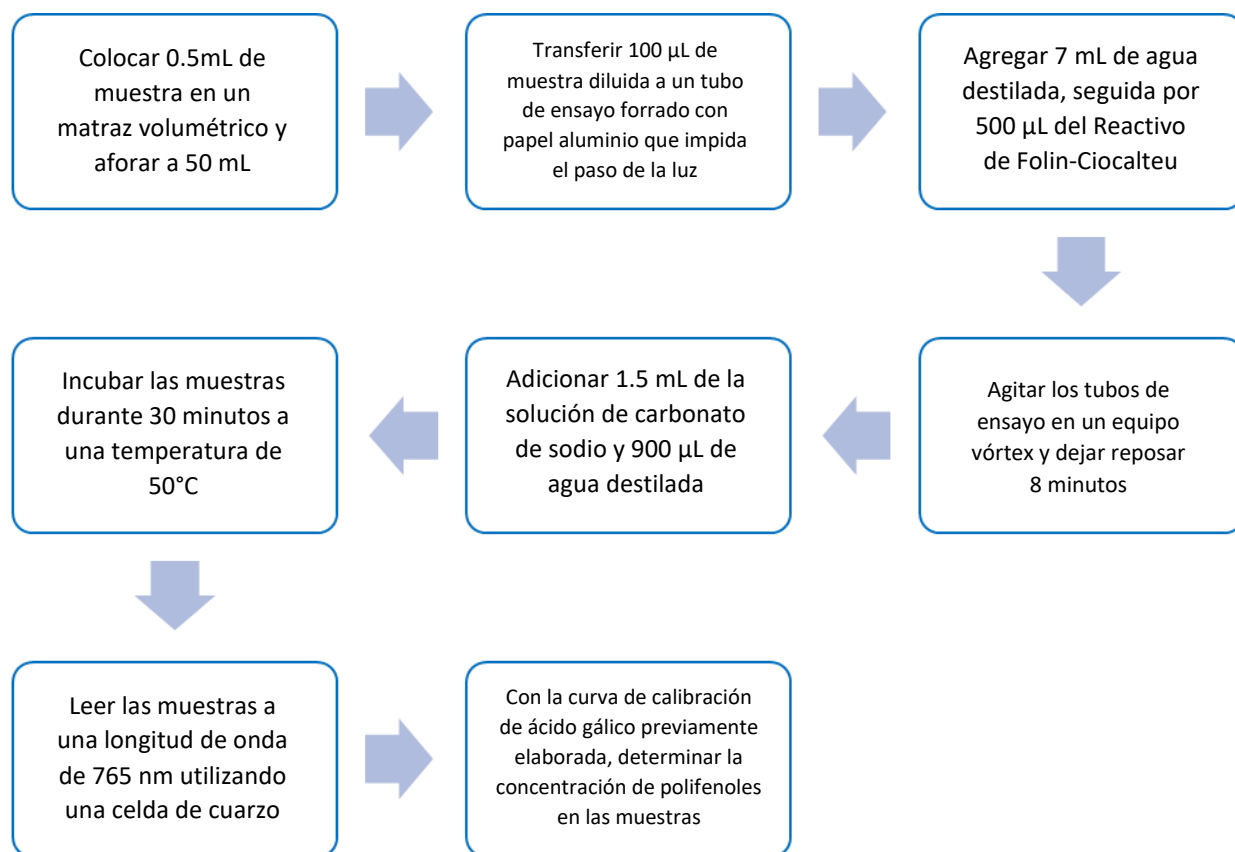


Figura 3-2. Diagrama de bloques para la cuantificación de polifenoles

En la Figura 3-3 se muestra la coloración que se origina al añadir el reactivo de Folin-Ciocalteu a las muestras. Dicha coloración desaparece después de añadir la solución de carbonato de sodio.



Figura 3-3. Adición del reactivo de Folin-Ciocalteu a las muestras

3.3. Reactores

En la Figura 2-2 del capítulo anterior se mostraron los reactores cuando fueron arrancados por primera vez (Rincón-Acelas, 2008). Actualmente, se encuentran cubiertos con fibra de vidrio y una coraza de aluminio para sostenerla. La Figura 3-4 muestra una fotografía de ellos actualmente. Es importante mencionar que el reactor operando a 65°C se observa diferente y esto se debe a que el reactor original sufrió una rotura interna y tuvo que cambiarse. Por ello, se encuentra en etapa de estabilización puesto que, aunque la reinoculación de la biomasa anaerobia se buscó que fuera lo menos impactante posible, la operación sigue siendo inestable. Los reactores son alimentados de manera intermitente con 333 mL de vinaza diluida cada día. El tiempo de residencia hidráulico es de 7.2 días. Los reactores de 45 y 55°C reciben una carga orgánica promedio de 33000 mg DQO/L mientras que el reactor de 65°C se alimenta con 17500 mg DQO/L. El tiempo de retención de sólidos es de 10.3, 10.1 y 11.4 días para los reactores de 45, 55 y 65°C, respectivamente. De acuerdo con Rincón-Acelas (2008), la cantidad de sólidos suspendidos volátiles (biomasa) de los lodos al momento de inocular los reactores fue de 111210 mg/L.

En la Figura 3-5 se muestra un esquema funcional de los reactores tipo RALLFA. El influente es alimentado por la parte inferior de los reactores. Posteriormente entra en contacto con lodos granulares que contienen consorcios de microorganismos anaerobios y es llevada a cabo la transformación bioquímica. El biogás producido es recolectado en la parte superior de los reactores, al igual que el efluente.

3.3.1. Caracterización del lote de vinazas en estudio

La vinaza que proviene directamente del ingenio azucarero alcoholero cooperante se ha denominado vinaza cruda (VC), de esta se tomaron cantidades necesarias para diluirla con agua de la llave y adicionarle una solución acuosa de sulfato ferroso (1 g/L). En el caso de los reactores de 45 y 55°C las proporciones volumétricas fueron 45:45:10, vinaza, agua y solución de sulfato ferroso, respectivamente, conformando la vinaza diluida de alimentación (VD). Esta dilución se utilizó debido a que en investigaciones precedentes se

demostró que al incrementar la cantidad de vinaza cruda se puede conducir a la desestabilización del proceso (Castro-González, 2004). Para el reactor de 65°C la proporción a partir del mes de septiembre del 2017 fue 22.5:72.5:5 debido a que se encuentra en etapa de estabilización y requiere ser alimentado con una menor carga orgánica. A esta vinaza de alimentación se le denominó VD65. Es importante señalar que se utilizó el sulfato ferroso debido a que es un compuesto enriquecedor que puede ser aprovechado en los procesos metabólicos microbianos, especialmente los anaerobios (Harada y col., 1994; Pandiyan y col., 1999a).

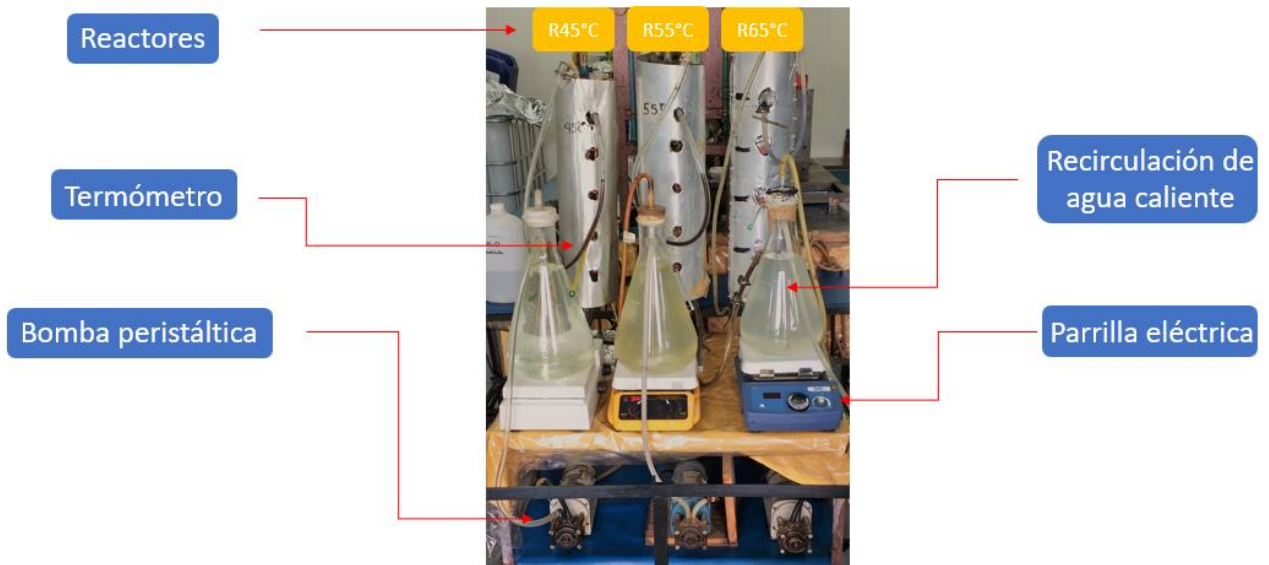


Figura 3-4. Reactores experimentales operando a 45, 55 y 65°C

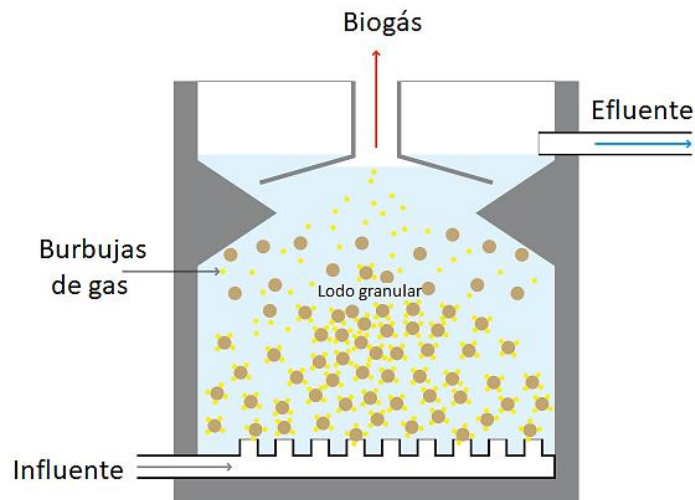


Figura 3-5. Esquema funcional de los reactores tipo RALLFA

3.4. Adsorción

La adsorción en carbón activado se realizó siguiendo la metodología descrita por Caqueret y col. (2008). Para evaluar la concentración de equilibrio se tomaron muestras en intervalos de 30 minutos, hasta que la concentración se mantuviera constante. El tiempo requerido fue de 210 minutos (3.5 h), el cual es cercano al reportado por Caqueret (2006), que es de 180 minutos. El carbón activado utilizado es de origen vegetal, marca Hycel. Su presentación física es en polvo, posee un diámetro de partícula <1mm, sus diámetros de poro se encuentran entre 15 a 25 Å, y su área superficial es de 452 m²/g. Se utilizó tal como se recibió del proveedor, sin ningún tratamiento adicional.

La isoterma de adsorción experimental se realizó añadiendo 1 g de carbón activado a 50 mL de muestra de ácido gálico con seis concentraciones diferentes, 500, 1000, 2000, 3000 y 4000 mg/L. Estas concentraciones se obtuvieron a partir de la dilución de una solución patrón. Las muestras se mantuvieron bajo agitación mecánica a 150 rpm utilizando un equipo múltiple de calentamiento y agitación marca Barnstead Thermolyne. La temperatura se fijó a 20°C. Después del tiempo de contacto con el carbón activado, las muestras se filtraron utilizando un filtro Whatman No. 1, y posteriormente se centrifugaron a 3600 rpm para separar la fase sólida de la fase líquida. Finalmente, a las muestras se les dio el tratamiento para cuantificar los polifenoles empleando el método de Folin-Ciocalteu. Las mediciones espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro Rayleigh UV-1800.

3.5. Análisis estadísticos de los datos

Todos los datos obtenidos experimentalmente se analizaron utilizando el paquete de software Minitab 17. Se eliminaron datos atípicos mediante la prueba de Grubbs. Se evaluó la distribución de los datos utilizando pruebas de normalidad, y cada conjunto de datos se sometió a una prueba de Levene para evaluar su homocedasticidad. Todo lo anterior con el propósito de determinar si existen diferencias significativas en los conjuntos de datos considerando un 95% de confianza ($p < 0.05$).

En la caracterización física y química se obtuvo el promedio global para cada conjunto de datos, además de su respectiva desviación estándar. También se reporta intervalo de confianza del 95%, lo que indica que, al sumar y restar este valor a la media global de cada dato, se obtiene un intervalo donde se encuentran el 95% de los datos obtenidos.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Seguimiento de los reactores

Los procesos de degradación anaerobio son más susceptibles a verse afectados por diversos factores, en comparación con los procesos aerobios. Es importante evaluar continuamente parámetros como: temperatura, pH, factor de alcalinidad y producción de ácidos grasos volátiles para corroborar si la degradación anaerobia se lleva a cabo de forma adecuada dentro de los reactores tipo RALLFA, manteniendo condiciones óptimas para el desarrollo de los microorganismos involucrados en el proceso, así como para la producción de metano (Padilla-Gasca y col., 2011).

4.1.1. Temperatura

En la Figura 4-1 se presentan los promedios mensuales de temperatura obtenidos durante el transcurso de mayo 2017 a julio 2018. En general, las variaciones en torno a la temperatura de cada uno de los reactores no sobrepasan 1.5°C de desviación estándar. Es importante evitar variaciones bruscas de la temperatura porque cambios por encima de 5°C pueden conducir a la desestabilización del proceso de transformación anaerobio. En este caso las variaciones no son muy elevadas, por lo que los sistemas de calentamiento y agitación son adecuados, permitiendo que los reactores operen de manera isotérmica.

Para el caso de los influentes de vinaza, las variaciones en torno a la temperatura no sobrepasan los 3.5°C de desviación estándar. Es importante señalar que en los meses de diciembre a febrero hay disminución en la temperatura de los influentes, esto se debe a que las diluciones se hacen con agua de la llave, y en los meses de invierno el agua sale del grifo con una temperatura menor. Sin embargo, esto no afecta la temperatura dentro de los reactores debido a que cuentan con su propio sistema de calentamiento.

4.1.2. Valores de pH

En la Figura 4-2 se muestran los valores promedios de pH obtenidos durante el transcurso de mayo 2017 a julio 2018. A simple vista pareciera ser que las variaciones de pH son mayores en comparación a las de la temperatura, sin embargo, las desviaciones no sobrepasan las 0.5 unidades.

Las vinazas de alimentación presentan un pH ácido debido a la adición de ácido sulfúrico en el proceso de producción de alcohol etílico. El pH de los efluentes es un parámetro fundamental para evaluar la degradación anaerobia. Es deseable tener un pH que ronde de 7 a 8 unidades, debido a que se ha demostrado que así se favorece el desarrollo y crecimiento de las *arqueas* metanogénicas, maximizando la producción de metano (Cavinato, 2011). En este caso el valor de pH de los efluentes de los tres efectivamente se encuentra dentro de este rango. Este incremento en el pH posiblemente es debido a la generación de iones bicarbonato que se producen directamente en el proceso de transformación anaerobio, que es la forma natural de los consorcios microbianos de protegerse del ambiente. Además, una determinada cantidad del dióxido de carbono generado se disuelve en el efluente propiciando la formación de iones carbonato que otorgan propiedades alcalinas.

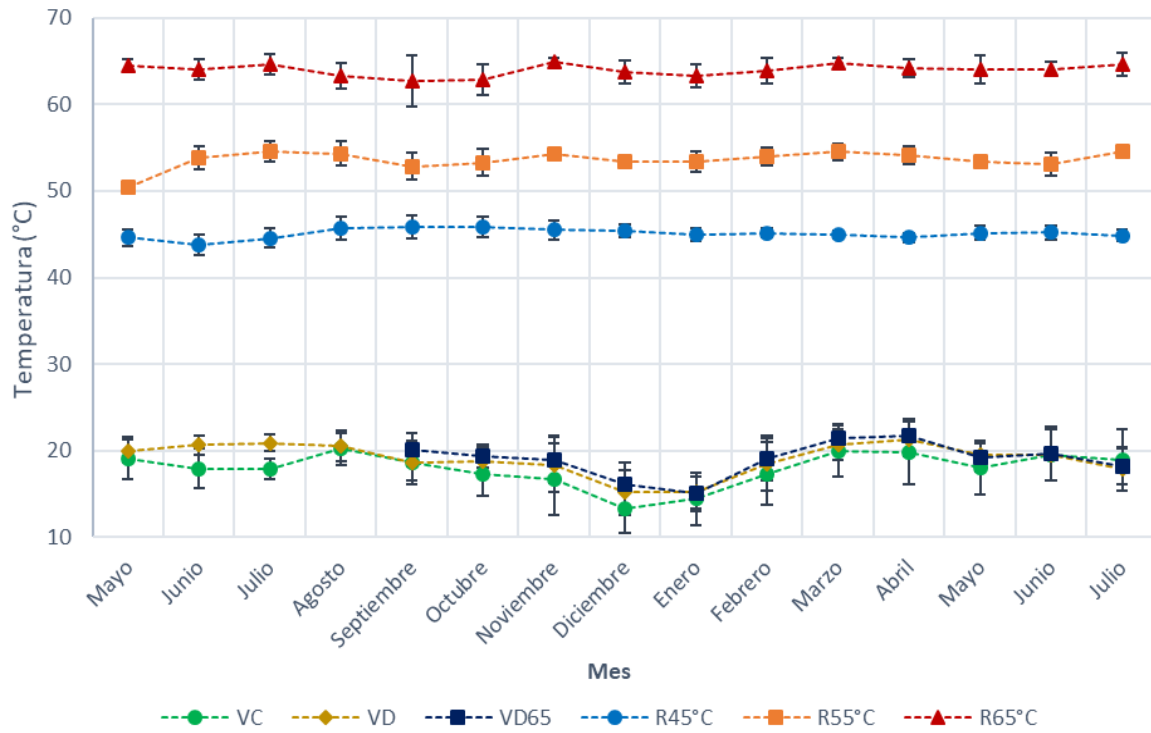


Figura 4-1. Seguimiento de la temperatura en las corrientes de vinaza

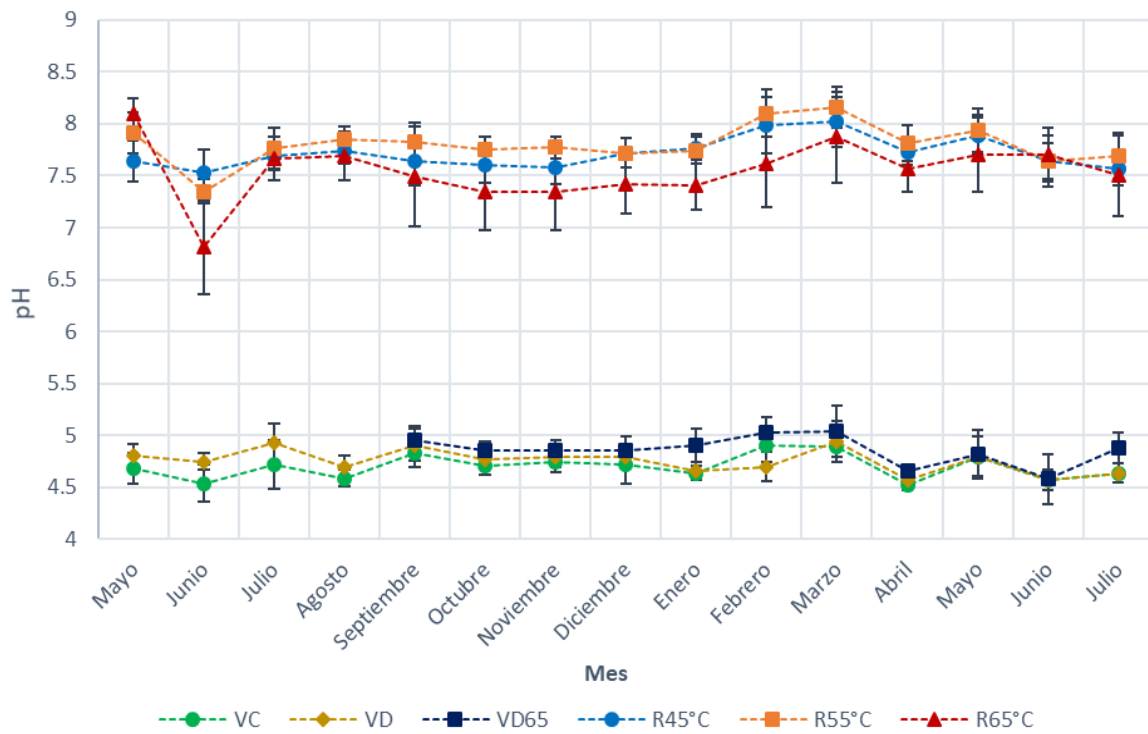


Figura 4-2. Evolución del pH en las corrientes de vinaza

4.1.3. Factor de alcalinidad

Otro parámetro que permite evaluar la estabilidad de la transformación anaerobia dentro de los reactores es el factor de alcalinidad. En la Figura 4-3 se muestran los promedios mensuales del factor de alcalinidad para cada uno de los reactores durante el transcurso de mayo 2017 a julio 2018.

Para que el proceso de degradación anaerobio se considere estable, el factor de alcalinidad debe encontrarse en un intervalo de 0.2 a 0.4 unidades (López-López y col., 2015). En este caso los reactores de 45 y 55°C presentan un factor de alcalinidad que efectivamente se encuentra dentro de este intervalo. Sin embargo, en el caso del reactor de 65°C, su factor de alcalinidad se encuentra por encima del límite establecido, lo que indica que posee todavía una baja capacidad de amortiguamiento, además de que las variaciones son mayores en comparación a las que presentan los otros dos reactores. Una posible explicación para este suceso es que en el reactor de 65°C se producen mayores cantidades de compuestos ácidos como los ácidos grasos volátiles que reaccionan y neutralizan los compuestos alcalinos productos de la degradación anaerobia (bicarbonatos y carbonatos, principalmente). De igual forma, se comenta que tiempo atrás los lodos del reactor de 65°C se airearon debido a un desperfecto que condujo a un desequilibrio en la población microbiana. Por lo tanto, el reactor de 65°C aún se encuentra en periodo de estabilización.

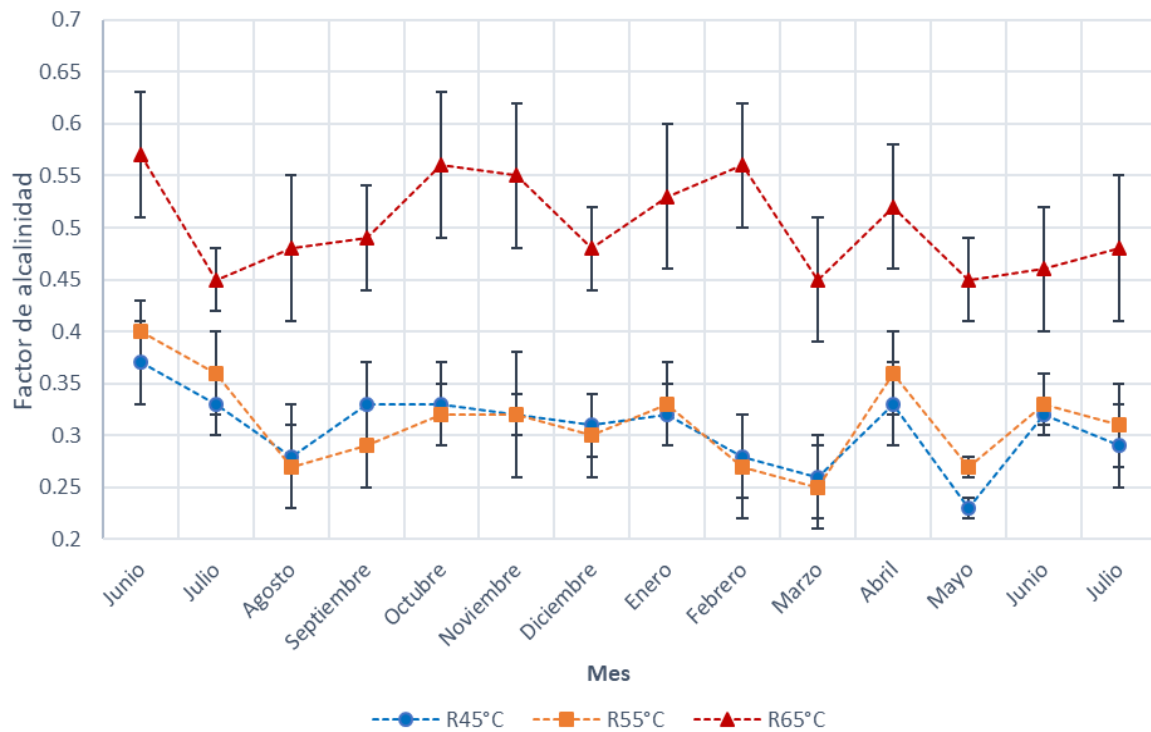


Figura 4-3. Seguimiento del factor de alcalinidad de los efluentes de los reactores de estudio

4.1.4. Ácido acético

Para evaluar la degradación anaerobia se cuantificaron seis ácidos grasos volátiles (Anexo A1.4.). El más importante de ellos es el ácido acético debido a que es el principal precursor del metano. En la Figura 4-4 se muestra la evolución de la producción de ácido acético en los tres reactores bioquímicos. Es deseable tener una concentración menor a 250 ppm, dado que altas concentraciones disminuyen el pH del efluente lo que resulta en condiciones tóxicas para la biomasa dentro de los reactores (FAO, 2011).

En este caso las concentraciones medias de ácido acético son 30.6, 37.2 y 29.1 ppm para los reactores de 45, 55 y 65°C, respectivamente. Es posible suponer que estas bajas concentraciones de ácido acético se deben a que es adecuadamente utilizado por las *arqueas* metanogénicas para la producción de metano.

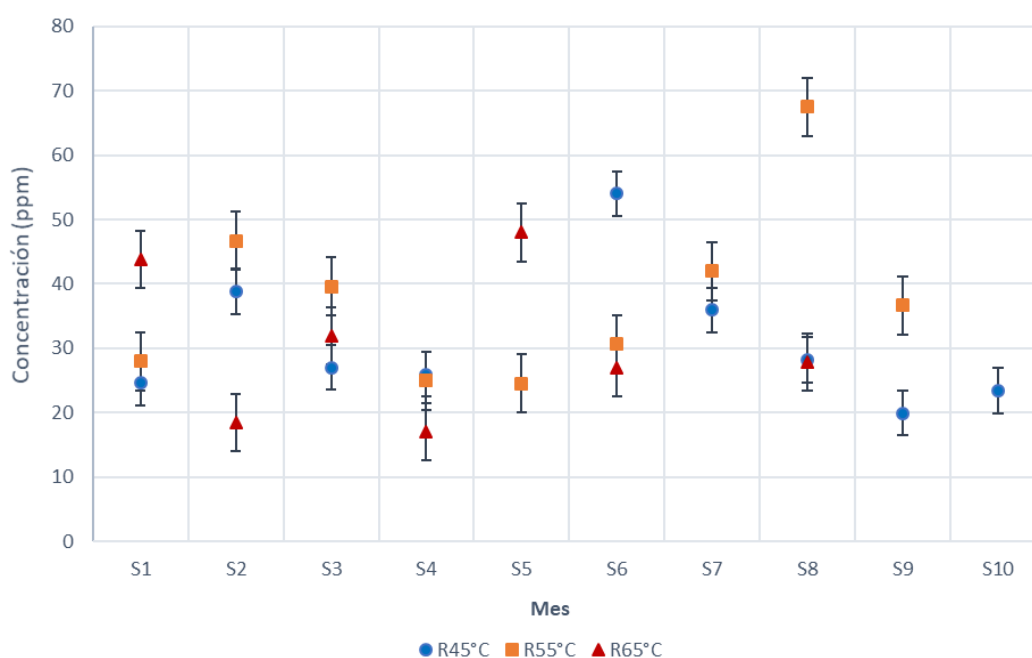


Figura 4-4. Evolución de la concentración de ácido acético para los efluentes de los RALLFA

De acuerdo con los resultados anteriores, se puede afirmar que el proceso de transformación anaerobio de los compuestos carbonosos en los reactores de 45 y 55°C se encuentra en régimen estable, pero no en el reactor de 65°C que aún se encuentra en proceso de estabilización por su alto factor de alcalinidad. A pesar de que la producción de ácido acético en el reactor de 65°C es menor a 250 ppm, es posible que exista una producción alta de este compuesto, al igual que de otros ácidos grasos volátiles, los cuales reaccionan con los carbonatos y bicarbonatos que son productos de la transformación anaerobia, propiciando el alto factor de alcalinidad. Es por ello que la carga orgánica que se alimenta al reactor de 65°C es menor a la de los otros dos reactores hasta que alcancen la estabilidad los consorcios microbianos que proliferan en ese ambiente.

4.2. Seguimiento de los parámetros

4.2.1. Alcalinidad

En la Figura 4-5 se presenta la evolución de los resultados de alcalinidad durante el transcurso de junio 2017 a mayo 2018. Cabe mencionar que para los influentes únicamente se reporta una alcalinidad parcial debido a que su pH es menor a 5.75, por lo cual tampoco se pudo obtener un factor de alcalinidad para estos. Para los efluentes se reporta una alcalinidad total. A partir del mes de septiembre la alcalinidad del reactor de 65°C disminuye notablemente debido a que el reactor se empezó a alimentar con la solución de VD65 sustituyendo a la VD. Esto se debe al haber menos sustratos carbonosos, se generan también menos iones bicarbonatos, lo cual influye de manera directa en la alcalinidad. Debido a que las *arqueas* metanogénicas son muy susceptibles a cambios bruscos en el pH, es deseable que el sistema de transformación anaerobio posea una capacidad de amortiguamiento suficiente que permita mitigar los cambios en el pH. Debido a que la alcalinidad de los efluentes se encuentra en un rango de 2500 a 5550 mgCaCO₃, se puede amortiguar los cambios bruscos de pH fácilmente (Pereira y col., 2009).

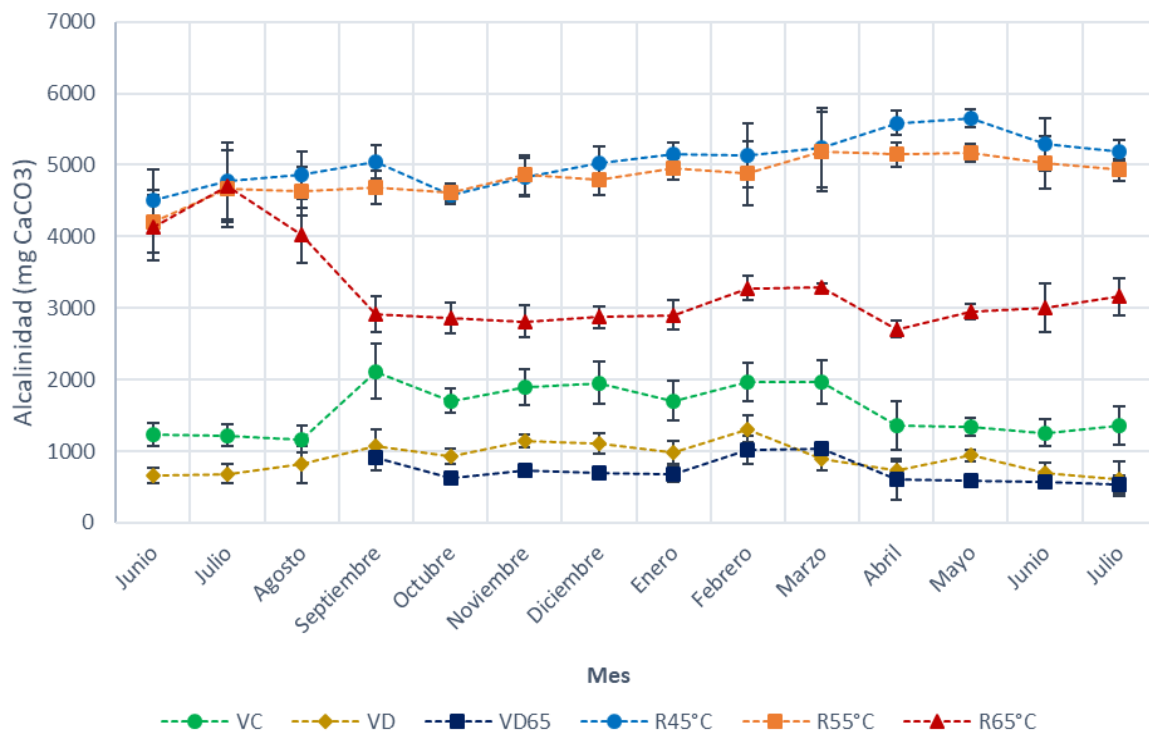


Figura 4-5. Evolución de la alcalinidad de las muestras en estudio

4.2.2. Conductividad eléctrica

En la Figura 4-6 se muestran los datos de conductividad eléctrica obtenidos en el transcurso de junio 2017 a julio 2018. A simple vista parece ser que no existe variación significativa entre la conductividad eléctrica de los influentes y efluentes, sin embargo, se realizó un análisis de varianza, (ANOVA en inglés) (Anexo 2 A2.15) el cual indicó que la conductividad eléctrica de los efluentes sí es significativamente diferente a la de los influentes. Esto debido a que en la degradación anaerobia se producen formas ionizadas, como la de los ácidos grasos volátiles, que modifican la conductividad eléctrica de las corrientes. Debido a que en el

periodo junio-agosto 2017 los tres reactores se alimentaban con el mismo influente, presentan valores semejantes de conductividad eléctrica. A partir de septiembre cuando el reactor de 65°C se empezó a alimentar con la VD65, su conductividad eléctrica se volvió semejante a la de su influente.

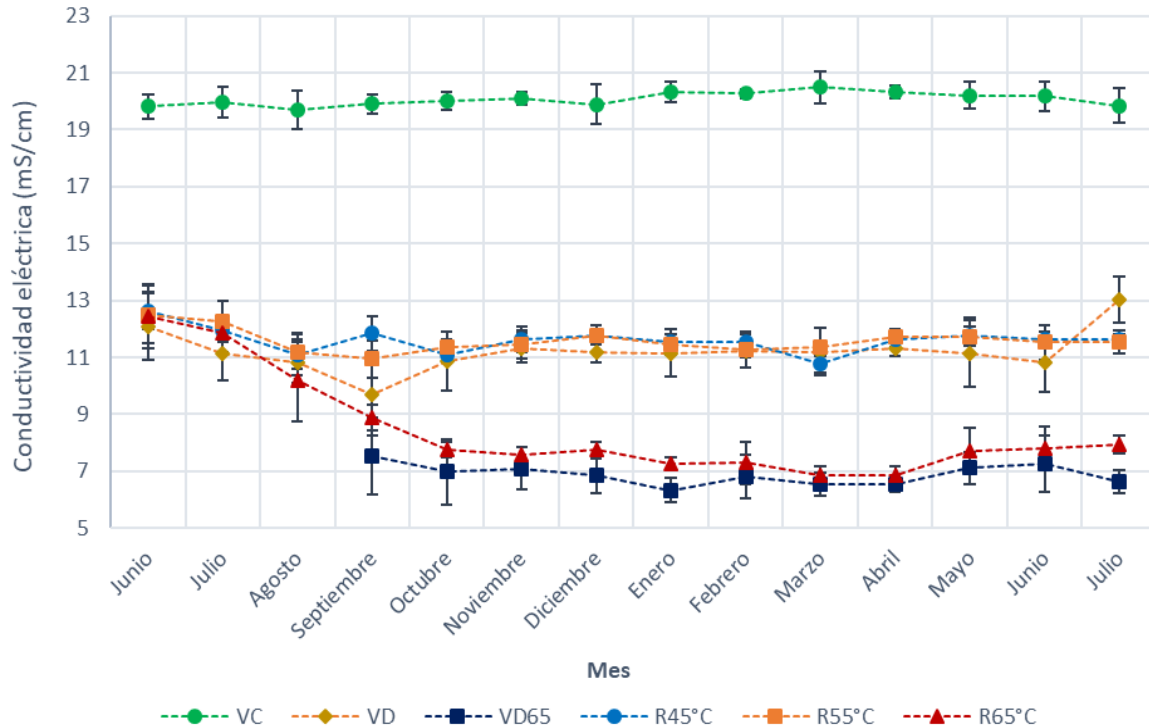


Figura 4-6. Seguimiento de la conductividad eléctrica en las corrientes de vinaza

4.2.3 Demanda química de oxígeno

En la Figura 4-7 se presentan los datos de demanda química de oxígeno para los influentes y efluentes de los reactores, recolectados durante el transcurso de septiembre 2017 a abril 2018. Los efluentes poseen una DQO menor, ya que el principal objetivo de la transformación anaerobia es eliminar la carga orgánica, produciendo un biogás con cualidades energéticas compuesto mayoritariamente por metano. La cantidad de metano producido es directamente proporcional a la DQO removida. Es importante aclarar que la DQO del reactor de 65°C es menor a la de los otros dos reactores, esto debido a su baja carga orgánica volumétrica con la que se alimenta (VD65). Los porcentajes de remoción de DQO fueron: 58.3%, 55.7% y 54.8% para los reactores de 45, 55 y 65°C, respectivamente.

4.2.4 Sulfatos

En la Figura 4-8 se muestra la evolución de la concentración de sulfatos obtenidos durante el transcurso de octubre 2017 a abril 2018. Al igual que sucede con la DQO, también hay una disminución de sulfatos en los efluentes. La concentración de sulfatos en los influentes es elevada, debido a que el ácido sulfúrico adicionado durante el proceso de producción de etanol contribuye a este aumento. Los porcentajes de remoción de sulfatos fueron: 23.5%, 25.1% y 14.9%, para los reactores de 45, 55 y 65°C, respectivamente. Esto indica que la remoción de sulfatos, como señaló Castro-González (2004), se debe a que los consorcios

de bacterias sulfato-reductoras utilizan este compuesto como aceptor final de electrones, reduciendo el azufre hasta sulfuro y, de ahí, el incremento de estos últimos (Anexo A1.11).

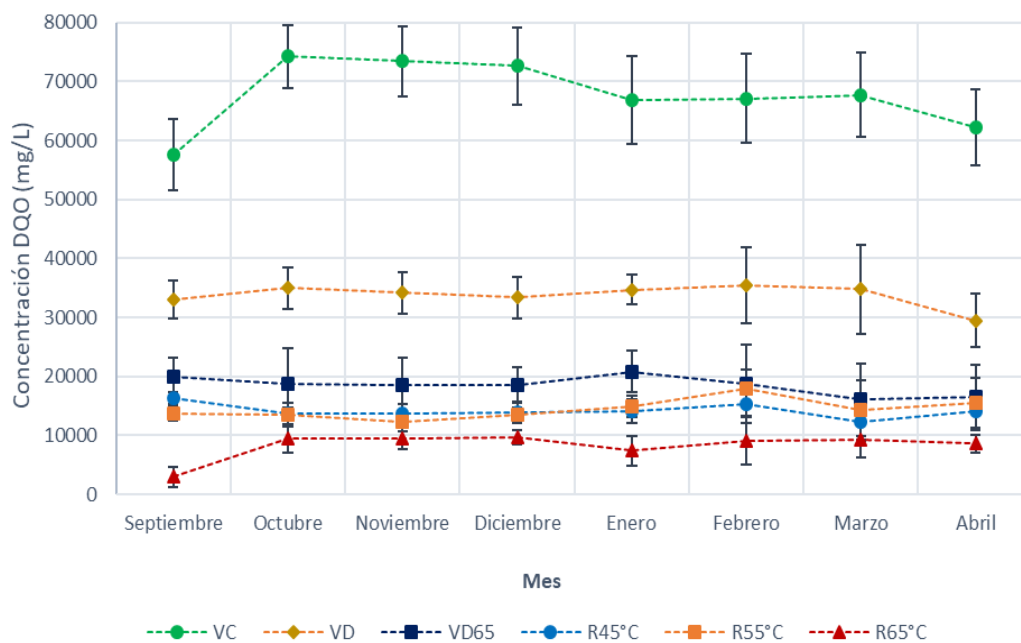


Figura 4-7. Evolución de la DQO en las corrientes de vinaza

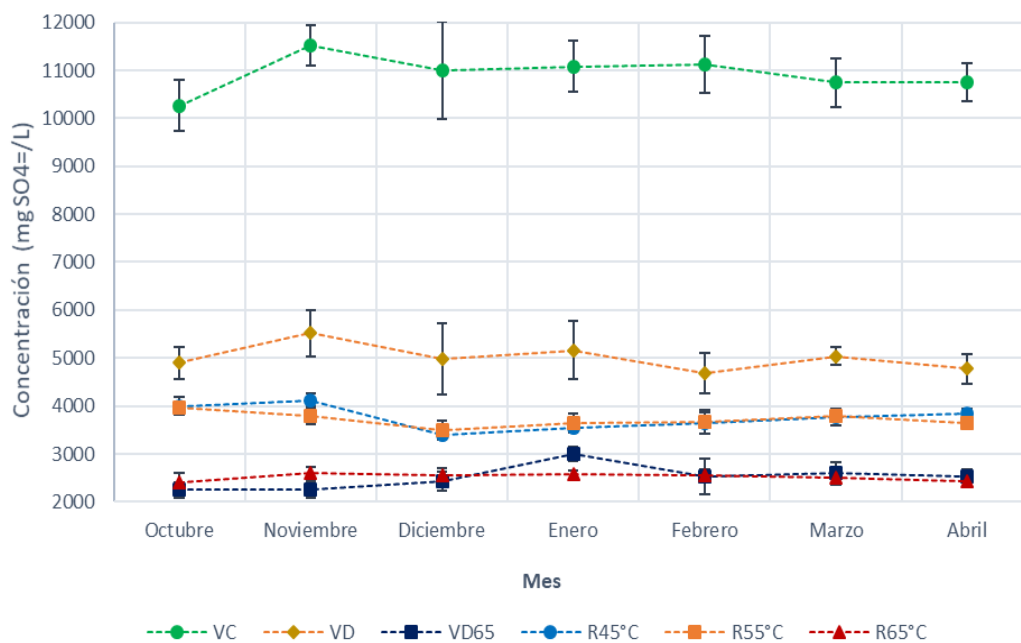


Figura 4-8. Seguimiento de la concentración de sulfatos en las corrientes de vinaza

4.2.5. Ácidos grasos volátiles (AGV)

Como se mencionó anteriormente, se cuantificaron seis ácidos grasos volátiles: ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido isobutírico, ácido valérico y ácido isovalérico, los cuales son producidos durante la degradación anaerobia cuando la materia orgánica es hidrolizada y degradada a compuestos de menor masa molecular (Figura 4-9) (Hill y col. 1987).

En un sistema anaerobio óptimo la concentración de ácidos grasos debe ser menor a 250 ppm (FAO, 2011). En caso contrario, significa que hay un desequilibrio entre la acidogénesis y la acetogénesis. Un aumento en la concentración de ácidos grasos volátiles es perjudicial para el sistema, implicando una desestabilización del proceso de transformación anaerobio y, con ello, una disminución de la producción de biogás. No obstante, son requeridos en cantidades pequeñas debido a que son los intermediarios de la ruta para la producción de metano.

En la Figura 4-10 se presenta la evolución de los ácidos grasos volátiles, exceptuando el ácido acético que se presentó en la sección 4.1.4. Los datos se empezaron a recolectar a partir del mes de febrero del 2018 y cada punto representa el promedio semanal obtenido de cada ácido.

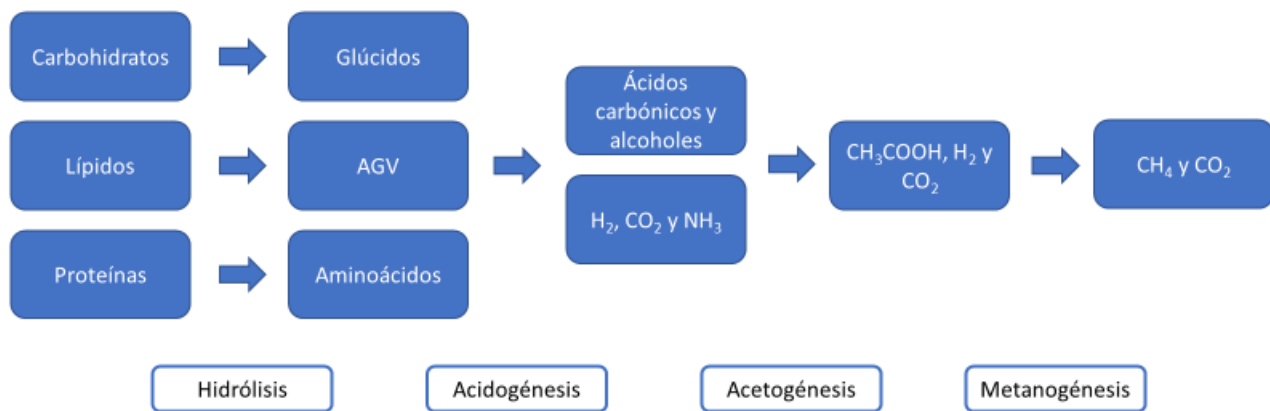


Figura 4-9. Diagrama simplificado de las etapas de la degradación anaerobia sin sulfatos

En general, las concentraciones promedio de cada ácido se encuentran entre 20 y 30 ppm para cada uno de los reactores. El ácido propiónico es uno de los principales predecesores del ácido acético. Existe una relación conocida como relación ácido propiónico/ácido acético la cual debe encontrarse en un intervalo menor o igual a 1.4 unidades para garantizar que no existen inestabilidades en la acetogénesis (Hill y col., 1987). En este caso en ninguno de los reactores se supera dicha relación y, por lo tanto, se garantiza que la acetogénesis se realiza adecuadamente. Respecto del ácido butírico, concentraciones cercanas a 10000 mg/L generan una disminución en el pH del sistema y elevan la concentración de hidrógeno gaseoso en la transformación anaerobia (Zhao y col., 2010). En este caso las concentraciones de ácido butírico e isobutírico se encuentran muy por debajo de ese límite. Los ácidos valérico e isovalérico son precursores del ácido propiónico y ácido acético, de tal forma que también es necesario garantizar concentraciones menores a 250 ppm, en este caso los promedios globales se encuentran entre 15 y 20 ppm para cada uno de los reactores.

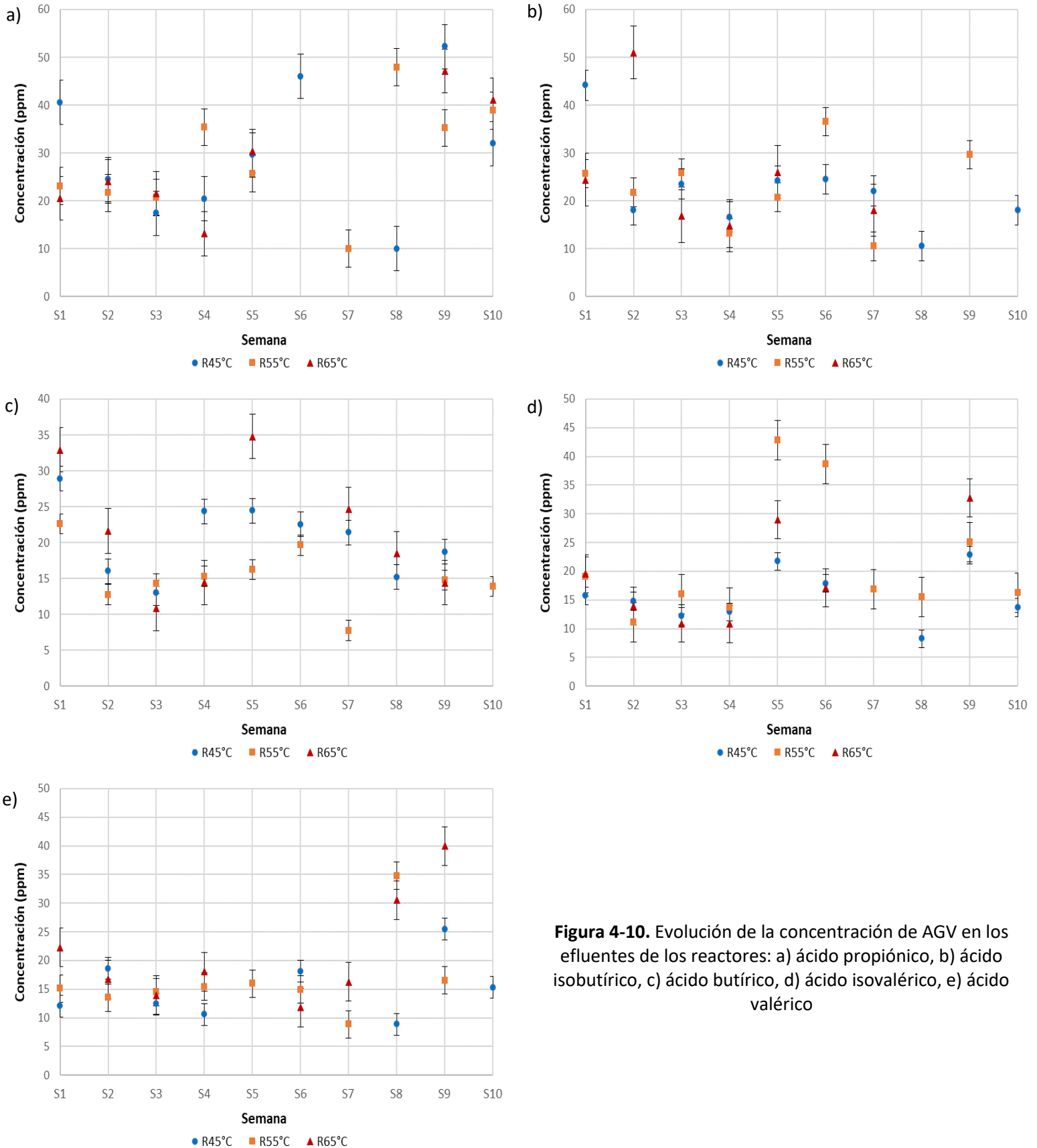


Figura 4-10. Evolución de la concentración de AGV en los efluentes de los reactores: a) ácido propiónico, b) ácido isobutírico, c) ácido butírico, d) ácido isovalérico, e) ácido valérico

4.3. Caracterización física y química

La caracterización física y química se realizó cuantificando determinados parámetros a partir de las metodologías que se presentaron en la Tabla 3-1.

4.3.1. Vinaza cruda

La vinaza cruda es aquella que proviene del ingenio azucarero alcoholero cooperante. En la Tabla 4-1 se presentan los resultados de la caracterización física y química de la vinaza cruda. A pesar de que esta vinaza no se alimenta directamente a los reactores, su caracterización resulta importante, dado que se puede observar que los valores de DQO, sulfatos, así como todas las formas de sólidos, son mayores a los de la vinaza diluida (VD), que a su vez son mayores a los de la vinaza de alimentación del reactor de 65°C (VD65). Es importante señalar que los parámetros de temperatura, pH, alcalinidad y conductividad eléctrica de los influentes de los reactores: VC, VD, VD65, se cuantificaban poco antes de la alimentación a los mismos.

La alta carga de materia orgánica de la vinaza cruda impide que pueda ser alimentada directamente a los reactores, ya que, en caso de hacerlo, provocaría inestabilidad tal y como lo menciona Castro-González (2004) y, además, es necesario un tiempo muy largo para lograr la adaptación de estos microorganismos. Cuando se incrementa la cantidad de vinaza cruda en la alimentación, el sistema comienza a acidificarse por la acumulación de ácidos grasos volátiles, y las cualidades energéticas del biogás disminuyen (Castro-González, 2004). Los resultados indican que la caracterización de la vinaza cruda es semejante a las que se reportan en la literatura (Tabla 2-2).

4.3.2. Vinaza diluida

En la Tabla 4-2 se muestran los resultados de la caracterización física y química de la vinaza de alimentación de los reactores de 45 y 55°C. Se observa que la temperatura y pH son ligeramente superiores a los de la vinaza cruda, esto debido a la influencia directa del agua de la llave que se adiciona. La conductividad eléctrica, la alcalinidad, la DQO, los sulfatos, los sulfuros, las formas de fósforo y sólidos, reducen su concentración aproximadamente a la mitad respecto a la vinaza cruda. Lo cual tiene sentido al recordar que la vinaza diluida es una dilución cercana al 50% de la vinaza cruda, por lo tanto, es de esperar que la concentración de dichos parámetros disminuya. De igual manera existe una disminución de la DBO₅ debido a que la concentración de materia orgánica disminuye, por lo tanto, es necesaria una menor cantidad de oxígeno para degradar la materia orgánica presente.

La concentración inhibitoria de ácido sulfhídrico en los sistemas de tratamiento anaerobios se encuentra en un intervalo de 100 a 150 mg/L para pH cercanos al neutro, tal y como lo señalan Paula y Foresti (2009). Para evitar una producción alta de este ácido es necesario tener una relación DQO/sulfatos mayor a 2.5 (Velasco y col., 2008; Seehone y col., 2016). Para la vinaza diluida la relación DQO/sulfatos es de 6.8, cumpliendo con el límite señalado. De igual manera, la relación DQO:N:P para los sistemas de tratamiento anaerobio debe ser por lo menos 900:5:1.7 de acuerdo con Ammary (2004). Suponiendo que la concentración de nitrógeno en la vinaza cruda es de 1880 mg/L, y equivalente a 940 mg/L en la vinaza diluida (Castro-González, 2004), entonces la relación DQO:N:P para esta alimentación es de 900:25:3, la cual efectivamente se encuentra por encima de los requerimientos mínimos.

Tabla 4-1. Caracterización física y química de la vinaza cruda (VC)

Vinaza cruda (VC)				
Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Temperatura	17.02	0.59	3.19	°C
pH	4.728	0.028	0.157	-
Conductividad eléctrica	20.211	0.042	0.238	mS/cm
Alcalinidad	1830.7	76.6	393.7	mg CaCO ₃
DQO	66791	2713	8256	mg/L
DBO ₅	6870	746.4	862.7	mg/L
Sulfatos	10876.5	177.4	532.1	mg/L
Sulfuros	209.9	32.4	80.2	mg/L
Fósforo total	191.43	22.91	44.61	mg/L
Ortofosfatos	53.94	4.19	4.02	mg/L
Sólidos totales	32069	3372	4707	mg/L
Sólidos totales volátiles	26438	5228	6546	mg/L
Sólidos suspendidos totales	5642	1217	2773	mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	1517	290	379	mg/L

Tabla 4-2. Caracterización física y química de la vinaza diluida (VD)

Vinaza diluida (VD)				
Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Temperatura	18.47	0.535	3.169	°C
pH	4.79	0.026	0.133	-
Conductividad eléctrica	11.24	0.006	0.334	mS/cm
Alcalinidad	1012.9	41.7	212.8	mg CaCO ₃
DQO	33363	2070	6208	mg/L
DBO ₅	6180	547.3	675.6	mg/L
Sulfatos	4881	123.6	370.8	mg/L

Vinaza diluida (VD)

Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Sulfuros	171	36	92.8	mg/L
Fósforo total	120.52	47.2	40.85	mg/L
Ortofosfatos	24.36	6.37	8.38	mg/L
Sólidos totales	29398	4227	6114	mg/L
Sólidos totales volátiles	10508	1038	1257	mg/L
Sólidos suspendidos totales	2083	555	633.5	mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	705.6	40.9	67.36	mg/L

4.3.3. Vinaza diluida de alimentación del reactor de 65°C

En la Tabla 4-3 se presentan los resultados de la caracterización física y química de la vinaza de alimentación del reactor de 65°C. Existe un ligero aumento de la temperatura y del pH respecto a la VD. De igual forma existe una disminución análoga en los valores de los parámetros de conductividad eléctrica, alcalinidad, DQO, DBO₅, sulfatos, sulfuros, formas de fósforo y sólidos, debido a que la VD65 es a su vez una dilución al 50% de la VD, por lo tanto, es de esperar que la concentración de tales parámetros disminuya. La relación DQO/sulfatos en la vinaza diluida del reactor de 65°C continúa siendo 6.8. Mientras que la relación DQO:N:P es, suponiendo una concentración de nitrógeno análoga a 470 mg/L (Castro-González, 2004), 900:24:4, la cual también se encuentra por encima de los requerimientos mínimos (Ammary, 2004).

Tabla 4-3. Caracterización física y química de la vinaza diluida de alimentación del reactor de 65°C (VD R65)

Vinaza diluida del reactor de 65°C VD65

Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Temperatura	19.473	0.482	2.629	°C
pH	4.837	0.028	0.151	-
Conductividad eléctrica	6.689	0.105	0.606	mS/cm
Alcalinidad	747.4	37.8	202.1	mg CaCO ₃
DQO	17579	1841	5522	mg/L
DBO ₅	4818	480.3	590.7	mg/L
Sulfatos	2576.6	89	246.7	mg/L
Sulfuros	91.92	14.95	31.93	mg/L

Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Fósforo total	80.68	24.75	34.05	mg/L
Ortofosfatos	19.74	2.665	6.01	mg/L
Sólidos totales	21361	2797	4274	mg/L
Sólidos totales volátiles	6202	1029	1180	mg/L
Sólidos suspendidos totales	1267	744	819	mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	583	171	268	mg/L

4.4. Comportamiento de los tres reactores

En esta sección se presentan las caracterizaciones de los efluentes de los tres reactores tipo RALLFA en estudio, además del seguimiento a los parámetros en cuestión.

4.4.1. Reactor tipo RALLFA de 45°C

En la Tabla 4-4 se presentan los resultados obtenidos de la caracterización física y química del efluente del reactor de 45°C. Al comparar los resultados con respecto a los de la alimentación, Tabla 4-2, se observa que existe una remoción de la materia orgánica e inorgánica susceptible de oxidarse, medida como DQO. Esto es de suma importancia dado que la cantidad de DQO removida es directamente proporcional a la producción de metano, tal y como lo señalan las Ecuaciones 2-13 y 14. De igual forma existe una disminución en la cantidad de sólidos totales y sólidos totales volátiles, debido a que estos parámetros representan componentes considerados como fuente de nutrientes para los microorganismos presentes en los reactores (FAO, 2011). No obstante, en el caso de los sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles existe un aumento, posiblemente debido a la biomasa que se genera dentro del reactor y que no puede ser retenida por lecho debido al tamaño de partícula. Existe también una remoción de sulfatos, debido a que estos son utilizados por las bacterias sulfato-reductoras en sus procesos metabólicos, por esta razón la concentración de sulfuros es mayor respecto a la vinaza de alimentación (VD).

En cuanto a los valores de fósforo total y ortofosfatos, las diferencias no son significativas con respecto del influente (Anexo 2, incisos A2.22 y 23). Esto posiblemente se debe a que en los sistemas de tratamiento anaerobios la producción de biomasa requiere una menor cantidad de nutrientes (fósforo y nitrógeno) en comparación con los sistemas aerobios (España-Gamboa y col., 2011), por eso los requerimientos de fósforo no son tan notorios. Mediante un balance de SSV, se supone que el reactor de 45°C está generando en promedio 1169.4 mg/L de biomasa y de acuerdo con FAO (2011) se necesitarían solamente 20 mg/L de fósforo para su producción. Utilizando las Ecuaciones 2-13 y 2-14, se puede conocer el flujo de metano teórico producido en el reactor de 45°C, el cual es de 330.5 mL/h. El flujo de biogás experimental obtenido es un 35% menor al valor teórico. Esto indica que no toda la DQO removida está siendo utilizada para la producción metano, sino que también se utiliza para la generación de biomasa, dióxido de carbono y H₂S.

La alcalinidad al igual que el pH son mayores en comparación a los de la VD, debido a que en la degradación anaerobia se producen iones bicarbonato y carbonato, originando este aumento. La DBO₅ es menor debido

a que la concentración de materia orgánica también es menor, de modo que el efluente necesita una menor cantidad de oxígeno de los aniones para degradar esta materia, en comparación con su respectivo influente.

Tabla 4-4. Caracterización física y química del efluente del reactor de 45°C

Efluente del reactor de 45°C				
Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Temperatura	45.23	0.139	0.809	°C
pH	7.721	0.034	0.181	-
Conductividad eléctrica	11.537	0.074	0.432	mS/cm
Alcalinidad	5189.8	92.2	522.8	mg CaCO ₃
Factor de alcalinidad	0.3103	0.008	0.043	-
DQO	13895	886	2658	mg/L
DBO ₅	4908	171	342	mg/L
Sulfatos	3738.4	68.5	202.6	mg/L
Sulfuros	248.8	32.4	83.5	mg/L
Fósforo total	114.46	47.1	38.8	mg/L
Ortofosfatos	21.454	7.83	7.461	mg/L
Biogás	214.23	14.4	32.46	mL/h
Sólidos totales	20419	2107	2199	mg/L
Sólidos totales volátiles	10252	533.38	623.3	mg/L
Sólidos suspendidos totales	4813	933	1427	mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	1875	549.5	652.8	mg/L

4.4.2. Reactor tipo RALLFA de 55°C

En la Tabla 4-5 se muestran los resultados de la caracterización física y química obtenidos del efluente del reactor de 55°C. Este reactor presenta valores semejantes a los del reactor de 45°C. Nuevamente, comparando los resultados con respecto de la alimentación, Tabla 4-2, se observa que existe una remoción de la DQO, sólidos totales y sólidos totales volátiles. También existe una remoción de sulfatos debido a la presencia de las bacterias sulfato-reductoras. Existe un aumento en los sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles, presuntivamente por la biomasa que se genera al interior del reactor. Asimismo, se presenta un aumento en el pH y la alcalinidad por la generación de iones bicarbonato y carbonato, y una disminución en la DBO₅. Los valores correspondientes a fósforo total y ortofosfatos, tampoco presentan diferencias significativas respecto del influente. Con un balance de SSV, se sabe que el reactor de 55°C

produce en promedio 682.4 mg/L de biomasa y, de acuerdo con FAO (2011), se requieren 11.7 mg/L de fósforo. El flujo de metano teórico producido en este reactor es de 318.1 mL/h y es un 40% superior al experimental. Esto es debido a que posiblemente una determinada cantidad de DQO es utilizada para la producción de biomasa y dióxido de carbono, así como para transformar los sulfatos a sulfuros y/o H₂S.

Tabla 4-5. Caracterización física y química del efluente del reactor de 55°C

Efluente del reactor de 55°C				
Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Temperatura	53.77	0.2	1.178	°C
pH	7.802	0.028	0.154	-
Conductividad eléctrica	11.457	0.0638	0.375	mS/cm
Alcalinidad	4918.9	62.7	345.2	mg CaCO ₃
Factor de alcalinidad	0.306	0.010	0.054	-
DQO	15177	1308	3978	mg/L
DBO₅	3664	458	539	mg/L
Sulfatos	3689.4	58.4	170	mg/L
Sulfuros	254.7	33.1	85.6	mg/L
Fósforo total	108.16	10.28	37.96	mg/L
Ortofosfatos	19.74	4.74	4.52	mg/L
Biogás	192.86	13.73	30.98	mL/h
Sólidos totales	20958	3221	4190	mg/L
Sólidos totales volátiles	10286	885	1038	mg/L
Sólidos suspendidos totales	4438	742	960	mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	1388	224.2	440	mg/L

4.4.3. Reactor tipo RALLFA de 65°C

En la Tabla 4-6 se encuentran compilados los resultados de la caracterización física y química del efluente del reactor de 65°C. Comparando los resultados respecto a los de la alimentación de este reactor, Tabla 4-3, se observa que existe una remoción de la DQO, sólidos totales y sólidos totales volátiles. También existe una remoción de sulfatos debido a la presencia de las bacterias sulfato-reductoras y un incremento en la concentración de sulfuros. En el caso de los sólidos suspendidos totales, sólidos suspendidos volátiles, la alcalinidad y el pH, existe un aumento, debido a los factores mencionados anteriormente. Al igual que el

decremento en la DBO₅. En cuanto a los valores de fósforo total y ortofosfatos, no difieren significativamente respecto al influente. Empleando un balance de SSV, en el reactor de 65°C se producen en promedio 304.5 mg/L de biomasa y, como se mencionó arriba, de acuerdo con FAO (2011) se necesitan 5.22 mg/L de fósforo para la formación de la misma. El flujo de metano teórico es 157.8 mL/h que es 49% superior al experimental, lo cual se atribuye a razones análogas a las de los otros dos reactores.

Tabla 4-6. Caracterización física y química del efluente del reactor de 65°C

Efluente del reactor de 65°C				
Parámetro	Valor promedio	Intervalo de confianza	Desviación estándar	Unidades
Temperatura	64.03	0.221	1.267	°C
pH	7.529	0.073	0.43	-
Conductividad eléctrica	7.451	0.104	0.596	mS/cm
Alcalinidad	2848.8	40.1	197	mg CaCO ₃
Factor de alcalinidad	0.516	0.016	0.094	-
DQO	8846	1923	2728	mg/L
DBO₅	4238	1038	418	mg/L
Sulfatos	2495.8	43.5	124.6	mg/L
Sulfuros	145.4	28.3	67	mg/L
Fósforo total	74.38	18.39	27.47	mg/L
Ortofosfatos	15.97	4.302	6.44	mg/L
Biogás	79.75	5.43	11.61	mL/h
Sólidos totales	13458	1436	1367	mg/L
Sólidos totales volátiles	6100	805	1114	mg/L
Sólidos suspendidos totales	2100	667	813.48	mg/L
Sólidos suspendidos volátiles	887.5	584.5	491.4	mg/L

4.5 Polifenoles

Como parte de la caracterización química, se cuantificaron los polifenoles en los influentes y efluentes de los reactores tipo RALLFA con el propósito de determinar si existe remoción de estos compuestos durante la transformación anaerobia.

Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 4-7. Con estos resultados se puede suponer que no hay eliminación de polifenoles en el tratamiento bioquímico anaeróbico. Sin embargo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) (Figura 4-11), que permitió justificar este supuesto.

Tabla 4-7. Concentración de polifenoles en los influentes y efluentes de los reactores

Muestra	Promedio	Intervalo de confianza al 95%	Desviación estándar
VC, mg eq. AG/L	8600	1018	820
VD, mg eq. AG/L	3622	397	320
R45°C, mg eq. AG/L	3689	395	318
R55°C, mg eq. AG/L	3222.2	244.4	196.4
VD65, mg eq. AG/L	2400	494	398
R65°C, mg eq. AG/L	2266.7	203.5	163.9

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
VC	11	A
R45°C	11	B
VD	11	B
R55°C	11	B
VD65	11	C
R65°C	11	C

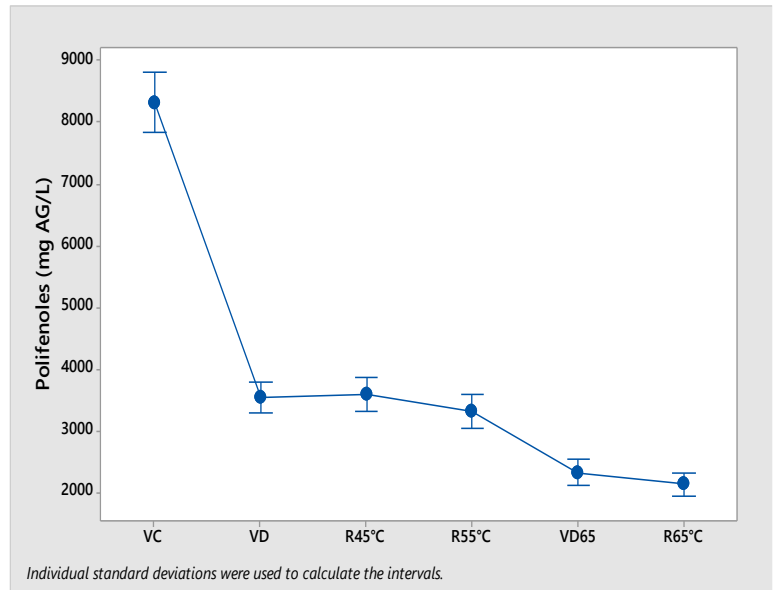


Figura 4-11. Análisis estadístico de la concentración de polifenoles en las corrientes de vinaza

De esta forma se corrobora que el tratamiento bioquímico anaerobio no disminuye la cantidad de polifenoles en las corrientes de salida, verificando que los consorcios de microorganismos que existen dentro de los tres reactores tipo RALLFA, no pueden utilizar los polifenoles como sustratos para su metabolismo.

4.5.1. Adsorción de polifenoles en carbón activado

Debido a que los compuestos polifenólicos deben ser removidos completamente para cumplir con las regulaciones legales de las plantas de alcohol etílico (DOF, 1996-98). Se decidió utilizar un proceso de adsorción con carbón activado para remover específicamente los polifenoles. Los datos de adsorción recolectados se ajustaron a las ecuaciones linealizadas de los modelos de Langmuir, Freundlich y Dubinin-Radushkevich (DR). Los resultados se muestran en la Tabla 4-8. Estos datos definen el mejor modelo de

ajuste para los datos experimentales, dando una idea de cómo ocurre el proceso de adsorción. La temperatura para la que son válidas es 293.15K (20°C).

Tabla 4-8. Ajuste de los modelos de isoterma para los datos experimentales obtenidos

Ecuación de regresión	Ecuación de la isoterma	Constantes	R ²
$\frac{1}{q} = 20.472 \frac{1}{C} + 0.0007$	$q = \frac{1428.57 \times C}{29245.71 + C}$	$q_o = 1428.57 \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{g carbón activado}}$ $K = 29245.71 \frac{\text{g carbón activado}}{\text{L}}$	0.991
$\ln q = 0.878 \ln C - 2.2585$	$q = 0.1045 \times C^{0.878}$	$n = 0.878$ $K_F = 0.1045$	0.973
$\ln q = -7 \times 10^8 \varepsilon^2 + 4.0642$	$q = 58.21 \cdot e^{-7 \times 10^8 \left[RT \ln \left(1 + \frac{1}{C} \right) \right]^2}$	$B = 7 \times 10^8 \frac{\text{mg}^2 \text{ ácido gálico}}{\text{J}^2}$ $q_m = 58.21 \frac{\text{mg ácido gálico}}{\text{g carbón activado}}$	0.817

Al graficar los modelos de isoterma y compararlos con los datos experimentales, se obtuvo la Figura 4-12.

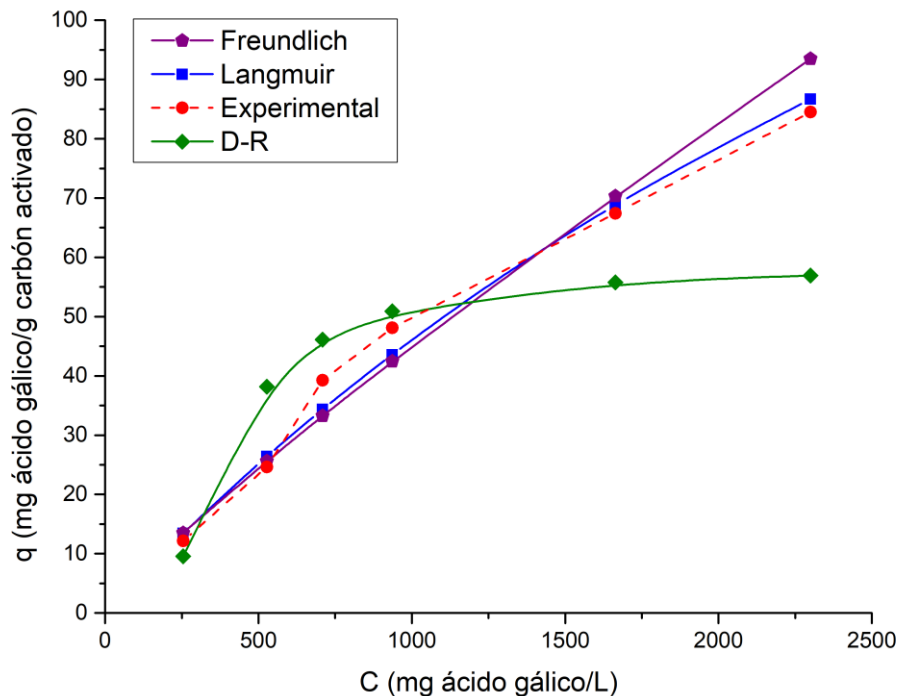


Figura 4-12. Isotherma experimental e isothermas predictivas de los modelos de Langmuir, Freundlich, y D-R

El modelo que mejor se ajusta a los datos experimentales es el de la isoterma de Langmuir (Ecuación 4-1) con un coeficiente de regresión de 0.9912.

$$q = \frac{1428.57 \times C}{29245.71 + C} \quad \text{Ecuación 4-1}$$

Esto significa que las suposiciones hechas por Langmuir como la formación de una monocapa, la existencia de un número fijo de sitios activos y que la adsorción es reversible y alcanza el equilibrio, son las que mejor se ajustan al comportamiento de los datos experimentales. Para determinar qué tan favorecido se ve el proceso de adsorción de los polifenoles sobre el carbón activado, es necesario calcular la energía libre de Gibbs con la Ecuación 2-18. De esta forma, la energía libre de Gibbs para el sistema de estudio es $\Delta G = -25.06$ kJ/mol. Este valor es similar al reportado por Marsal y col. (2012) donde analizaron la adsorción de polifenoles en virutas de cuero dando un resultado de -20.86 kJ/mol. Debido a que el signo de la energía libre de Gibbs es negativo, el proceso de adsorción es termodinámicamente favorable.

Empleando un balance de materia en el sistema (Ecuación 2-19) y con la ecuación de la isoterma de adsorción (4-1) se pueden calcular las etapas teóricas necesarias para eliminar el 99.9% de los polifenoles presentes en los efluentes de los reactores tipo RALLFA, en función de la cantidad de carbón activado añadido. Los resultados se muestran en la Figura 4-13.

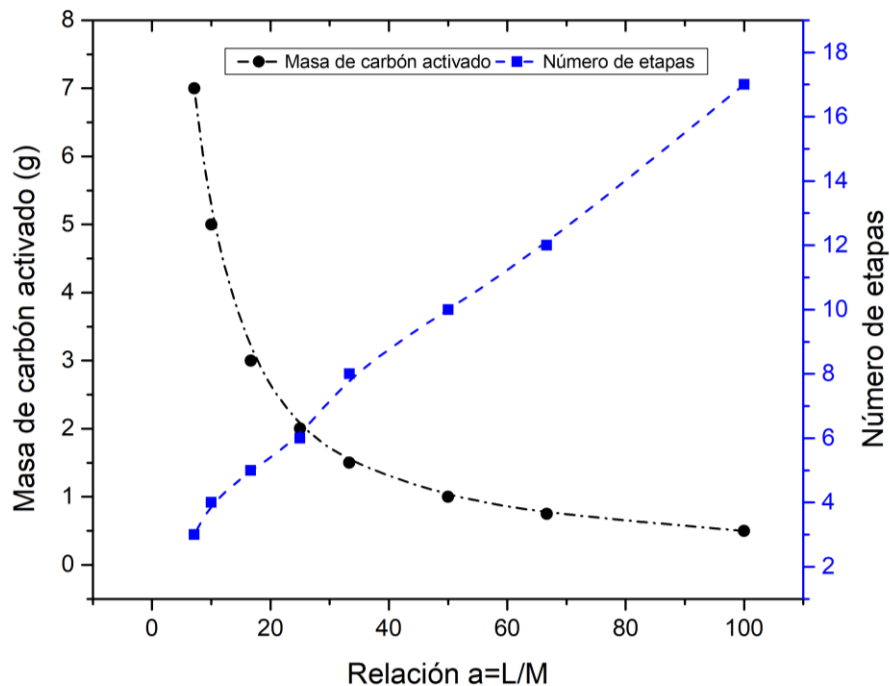


Figura 4-13. Masa teórica de carbón activado utilizado y número de etapas en función de la relación L/M. Donde L es la masa de la solución inicial y M es la masa de carbón activado

Si la cantidad de carbón activado añadido es alta, un menor número de etapas serán necesarias para eliminar los polifenoles de los efluentes de los reactores. Experimentalmente se lograron reducir en promedio 45.5% de los polifenoles presentes en 50 mL de muestra, empleando solamente una etapa y añadiendo 1 g de carbón activado. Mientras que al agregar 5 g de carbón activado a la misma muestra los

polifenoles se redujeron hasta en un 70.2%. Sin embargo, para que el proceso sea factible y pueda ser escalado a nivel industrial es necesario emplear etapas sucesivas empleando columnas de adsorción.

Finalmente, también se determinó la influencia del proceso de adsorción sobre la remoción de la DQO de los efluentes. Se obtuvo una correlación para cada uno de los reactores que relaciona estas dos variables (Ecuaciones 4-2, 3, y 4). Estas ecuaciones son válidas para un intervalo de carbón activado añadido entre 0.5 y 2 g.

$$45^{\circ}\text{C-R} \quad \%DQO_{\text{removido}} = 31.511M + 36.077 \quad R^2 = 0.996 \quad \text{Ecuación 4-2}$$

$$55^{\circ}\text{C-R} \quad \%DQO_{\text{removido}} = 31.517M + 35.386 \quad R^2 = 0.995 \quad \text{Ecuación 4-3}$$

$$65^{\circ}\text{C-R} \quad \%DQO_{\text{removido}} = 40.76M + 17.83 \quad R^2 = 0.965 \quad \text{Ecuación 4-4}$$

Las tres correlaciones presentan una tendencia lineal, de modo que al incrementar la cantidad de carbón activado, el porcentaje de remoción de DQO incrementa de manera proporcional. Esto es debido a que los polifenoles influyen en la carga orgánica y, por lo tanto, al ser adsorbidos es de esperar que efluente posea una menor DQO, y con esto se corroborará la hipótesis.

Ahora, en el último capítulo de este documento, se presentan las conclusiones derivadas de esta investigación y las perspectivas que se abren a ella.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

5.1. Conclusiones

De acuerdo con el objetivo general, caracterizar física y químicamente vinazas provenientes de la primera torre de destilación de la industria alcoholera del azúcar de caña, estudiando el efecto de la transformación anaerobia termofílica sobre los polifenoles presentes en estos subproductos, así como los objetivos específicos de esta investigación se puede concluir lo siguiente:

- Se lograron caracterizar física y químicamente las vinazas de torres de destilación provenientes de la industria alcoholera del azúcar de caña y se estudió el efecto de la transformación anaerobia termofílica sobre los polifenoles, concluyendo que no existe remoción representativa de estos compuestos en los reactores tipo RALLFA por medio de los consorcios microbianos presentes en ellos, independientemente de la temperatura de operación.
- Se evaluó la estabilidad de la transformación anaerobia termofílica llevada a cabo dentro de los reactores tipo RALLFA, cuantificando cuatro parámetros seleccionados: temperatura, pH, factor de alcalinidad y producción de ácidos grasos volátiles. Los resultados obtenidos indican que los reactores de 45 y 55°C operan de forma estable debido a la uniformidad en su temperatura de operación, al pH cercano al neutro para la producción de metano, al factor de alcalinidad que se encuentra en el intervalo de 0.2 a 0.4 unidades y a una producción de ácido acético menor a 250 ppm. El reactor de 65°C aún se encuentra en etapa de estabilización lo que se vio por su alto factor de alcalinidad que supera el intervalo establecido, indicando que todavía los microorganismos no están produciendo suficiente CO₂ dando una baja capacidad de amortiguamiento.
- Se caracterizaron física y químicamente las corrientes de vinaza antes y después del tratamiento bioquímico anaerobio en los reactores tipo RALLFA. Dicho tratamiento logró disminuir casi en un 60% la carga orgánica de las vinazas medida como DQO, además de algunos otros contaminantes como los sulfatos, sólidos totales y sólidos totales volátiles, produciendo un biogás aprovechable como fuente alternativa de energía. La producción del biogás experimental resultó ser inferior a la calculada teóricamente, seguramente debido a que no todos los compuestos carbonosos medidos globalmente con la DQO removida se transforman en metano, sino que también se utilizan para la síntesis de biomasa y de otros productos como los sulfuros, el dióxido de carbono y el H₂S.
- Se cuantificaron los polifenoles totales presentes en las corrientes de vinaza utilizando el método de Folin-Ciocalteu. Se determinó que la concentración promedio de polifenoles medidos en función del ácido gálico para los influentes de vinaza fue de: 8600 mg/L en la vinaza cruda, 3622 mg/L en la vinaza diluida, y 2400 mg/L en la vinaza de alimentación al reactor de 65°C. Los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente indicando que no hay degradación de polifenoles en el tratamiento anaerobio estudiado. Así pues, los microorganismos anaerobios de los reactores tipo RALLFA a las temperaturas estudiadas no pueden aprovechar estos compuestos carbonosos como fuente de alimento.
- Se evaluó la remoción de polifenoles mediante un proceso físico de adsorción, el cual fue seleccionado por los buenos resultados que han arrojado en investigaciones previas y por su bajo

costo de operación y mantenimiento (Caqueret y col., 2008). Se utilizó carbón activado en polvo de origen vegetal marca Hycel para remover los polifenoles. Los datos experimentales de adsorción se ajustaron a tres modelos de isoterma: Langmuir, Freundlich y Dubinin-Radushkevich. El modelo de isoterma de Langmuir presentó la mejor correlación de los datos experimentales y fue posible determinar la remoción de polifenoles en función de la masa de carbón activado añadida. Experimentalmente se logró remover en una sola etapa el 45.5% de los polifenoles presentes en muestras de 50 mL y añadiendo 1 g de carbón activado.

5.2. Perspectivas

De acuerdo con los resultados de esta investigación se recomienda continuar con los siguientes puntos:

- Realizar un análisis cualitativo y cuantitativo de polifenoles en las corrientes de vinaza que permita identificar los compuestos mayoritarios, así como sus respectivas cantidades. Para esto es recomendable analizar las muestras mediante cromatografía líquida (*HPLC* en inglés) acoplada con un espectrómetro de masas o cualquiera de los métodos señalados en el Capítulo 2.
- Evaluar la desorción de polifenoles del carbón activado utilizando diversos solventes que permitan su regeneración y reincorporación en el proceso. De igual manera, estudiar la adsorción de polifenoles bajo diversas condiciones de pH y temperatura que permitan encontrar un óptimo de adsorción. Probar carbones activados obtenidos del propio bagazo de la caña de azúcar para reducir los costos de este insumo de acuerdo con la investigación realizada por el grupo del Prof. Dr. J.A. Solís-Fuentes de la Universidad Veracruzana (Morales-Téllez y col., 2012).
- Estudiar la degradación de polifenoles en las corrientes de vinaza con tratamientos alternativos, por ejemplo, mediante enzimas oxidasas presentes en diversas variedades de plantas y microorganismos como las lacasas que se caracterizan por catalizar la escisión del anillo aromático en compuestos fenólicos, especialmente para vinazas (Michelena-Álvarez, 2018).
- Evaluar la viabilidad de escalar el método de adsorción a nivel piloto utilizando columnas de adsorción y estudiar la relación costo:beneficio entre el número de etapas y la cantidad de carbón activado necesarios para llevar a cabo el proceso.
- Continuar con el proceso de estabilización del reactor de 65°C, evaluando continuamente sus parámetros de seguimiento, y una vez que su factor de alcalinidad se encuentre dentro del intervalo óptimo (0.2-0.4) aumentar progresivamente su carga orgánica de alimentación hasta que sea equivalente a la de los reactores de 45 y 55°C. En ese punto realizar un análisis comparativo en la producción de biogás y remoción de carga orgánica.
- Estudiar un tren de tratamiento para las vinazas que permita alcanzar los valores máximos permisibles de acuerdo con las NOM-001-SEMARNAT-1996, NOM-002-SEMARNAT-1996 y NOM-003-SEMARNAT-1997 (DOF, 96-98). Se recomienda agregar un tratamiento aerobio que permitan remover la carga orgánica restante y, además, utilizar humedales artificiales como punto final de depuración de contaminantes (Durán-Domínguez-de-Bazúa, 2011).

ANEXOS

Anexo 1. Metodologías específicas y curvas de calibración

A1.1. Temperatura

La temperatura de las corrientes de vinaza se midió siguiendo la metodología descrita en el manual de usuario del equipo multiparamétrico y la norma mexicana NMX-AA-007-SCFI-2013 (DOF, 2013). Las etapas se describen en la Figura A1-1

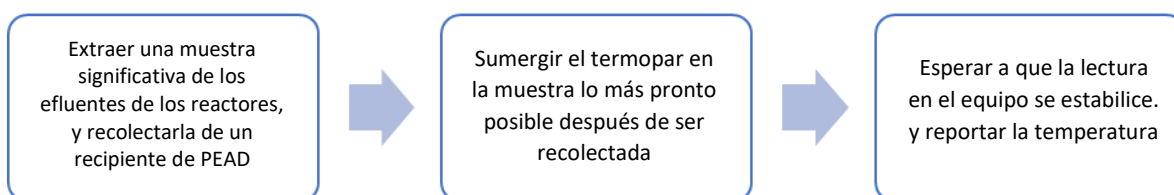


Figura A1-1. Diagrama de bloques para la medición de la temperatura

A1.2. Determinación de pH

La medición del pH se realizó utilizando un potenciómetro (pH-metro) Hanna modelo Hi-4221. El procedimiento se describe en la Figura A1-2.

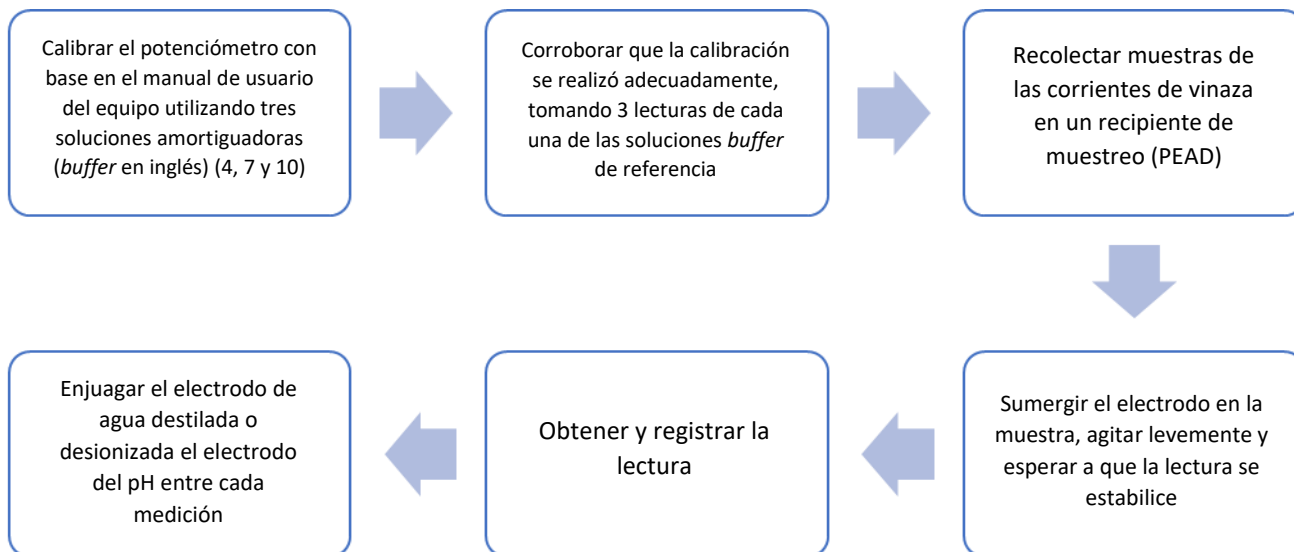


Figura A1-2. Diagrama de bloques para la medición de pH

A1.3. Alcalinidad y factor de alcalinidad

La alcalinidad se determinó utilizando la metodología descrita en la norma mexicana NMX-AA-036-SCFI, 2001 (DOF, 2001c), adaptada con la presentada por Jenkins y col. (1991). La norma mexicana establece que la valoración de alcalinidad se haga a través de titulaciones con ácido sulfúrico hasta el vire de la fenolftaleína y naranja de metilo; sin embargo, debido al color y a la turbidez que presentan las vinazas, no es posible observar los cambios de coloración. Por esta razón las titulaciones se realizan hasta alcanzar valores de pH específicos probados (5.75 y 4.3) como lo establecen Jenkins y col. (1991).

El ácido sulfurico utilizado se preparó de acuerdo con el diagrama A1-3.

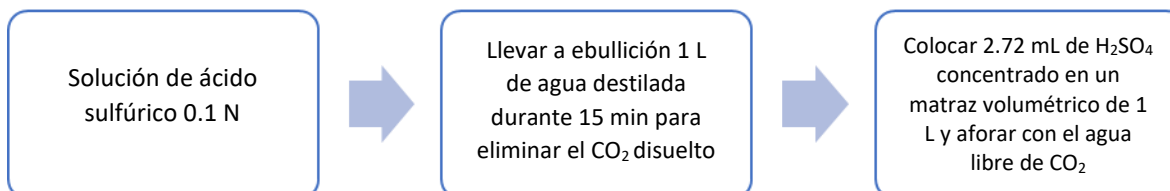


Figura A1-3. Diagrama de bloques para la preparación de ácido sulfúrico 0.1 N

La metodología para determinar la alcalinidad y el factor de alcalinidad de las muestras se presenta en la Figura A1-4.

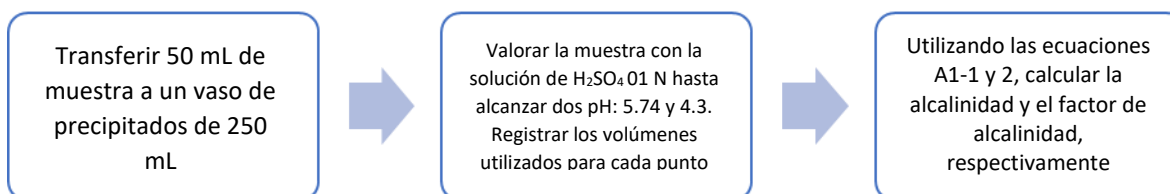


Figura A1-4. Diagrama de bloques para la medición de alcalinidad y factor de alcalinidad

$$\text{Alcalinidad} = \frac{V_{\text{pH } 4.3} \times N_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times 50000 \left(\frac{\text{mg CaCO}_3}{\text{eq}} \right)}{V_m} \quad \text{Ecuación A1-1}$$

$$\alpha = \frac{V_{\text{pH } 4.3} - V_{\text{pH } 5.75}}{V_{\text{pH } 4.3}} \quad \text{Ecuación A1-2}$$

Donde

α Es el factor de alcalinidad

$V_{\text{pH } 5.75}$ Es el volumen necesario de ácido sulfúrico para llevar la muestra de vinaza a un pH de 5.75

$V_{\text{pH } 4.3}$ Es el volumen necesario de ácido sulfúrico para llevar la muestra de vinaza hasta un pH de 4.3

$N_{\text{H}_2\text{SO}_4}$ Es la normalidad de la disolución de ácido sulfúrico (0.1 N)

V_m Es el volumen de la muestra de vinaza (50 mL)

A1.4. Ácidos grasos volátiles (AGV)

Empleando la cromatografía de gases con detector de ionización de flama (CG-DIF) fue posible identificar seis ácidos grasos importantes: ácido acético, ácido propiónico, ácido isobutírico, ácido butírico, ácido isovalérico (3-metil-butanoico), y ácido valérico. Los tiempos de retención registrados para cada compuesto se presentan en la Tabla A1-1:

Tabla A1-1. Tiempos de retención de los AGV

Ácidos grasos volátiles	Tiempo de retención (min)
Acético	1.96
Propiónico	2.83
Isobutírico	3.13
Butírico	3.79
Isovalérico (2-metil butílico)	4.21
Valérico	4.96

El procedimiento para la cuantificación de los ácidos grasos volátiles se presenta en la Figura A1-5.

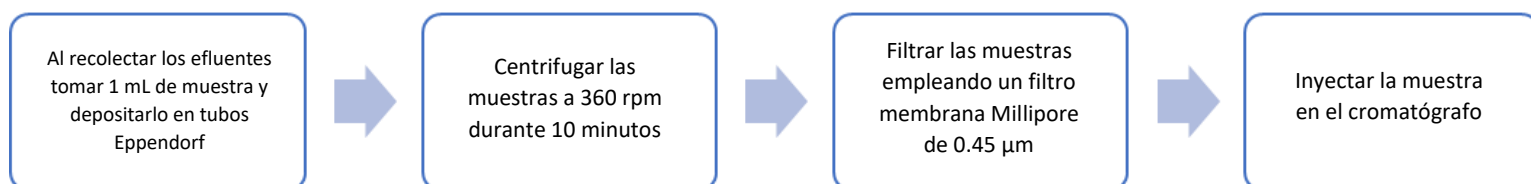


Figura A1-5. Diagrama de bloques para cuantificación de AGV

A1.4.1. Ácido acético

Tabla A1-2. Datos de la curva de calibración del ácido acético

Muestra	Concentración (ppm)	Altura
1	20	7.809
2	40	16.435
3	50	28.182
4	60	35.991
5	90	63.116

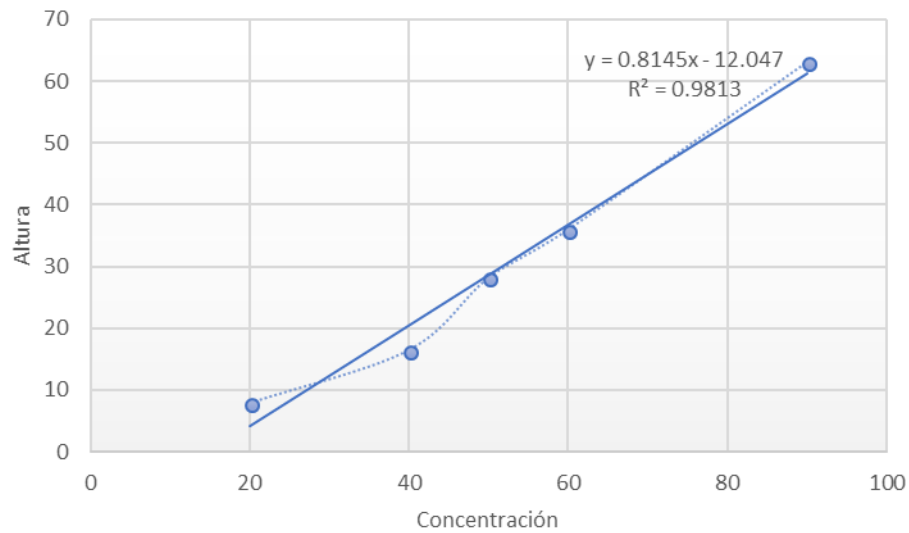


Figura A1-6. Curva de calibración del ácido acético

A1.4.2. Ácido propiónico

Tabla A1-3. Datos de la curva de calibración del ácido propiónico

Muestra	Concentración (ppm)	Altura
1	20	13.25
2	40	34.134
3	50	50.406
4	60	63.592
5	90	98.539

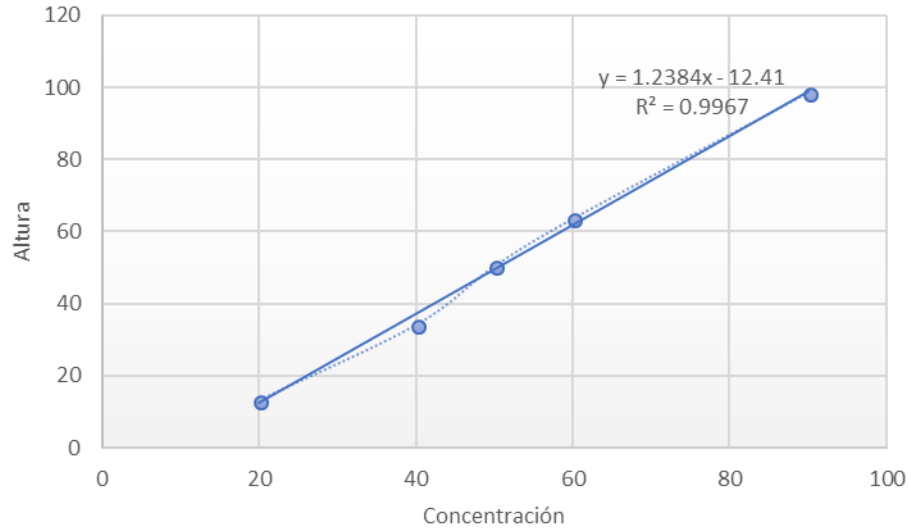


Figura A1-7. Curva de calibración del ácido propiónico

A1.4.3. Ácido isobutírico

Tabla A1-4. Datos de la curva de calibración del ácido isobutírico

Muestra	Concentración (ppm)	Altura
1	20	16.39
2	40	44.508
3	50	61.298
4	60	79.735
5	90	125.695

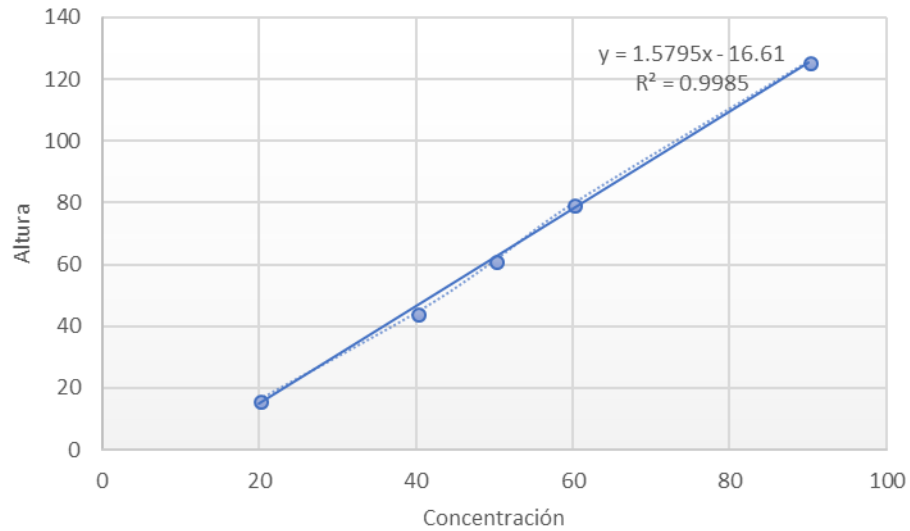


Figura A1-8. Curva de calibración del ácido isobutírico

A1.4.4. Ácido butírico

Tabla A1-5. Datos de la curva de calibración del ácido butírico

Muestra	Concentración (ppm)	Altura
1	20	20.626
2	40	44.519
3	50	66.313
4	60	81.226
5	90	125.679

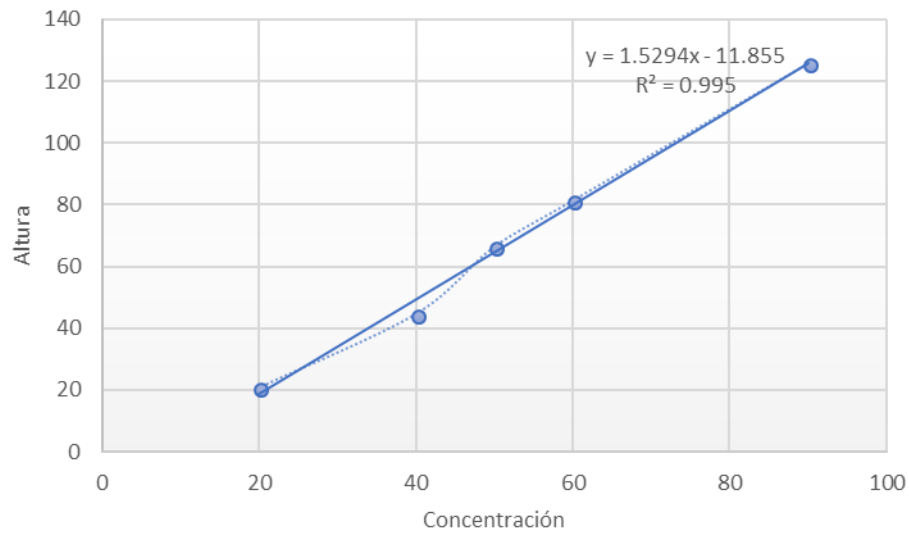


Figura A1-9. Curva de calibración del ácido butírico

A1.4.5. Ácido isovalérico

Tabla A1-6. Datos de la curva de calibración del ácido isovalérico

Muestra	Concentración ppm	Altura
1	20	20.626
2	40	55.159
3	50	76.54
4	60	94.098
5	90	145.318

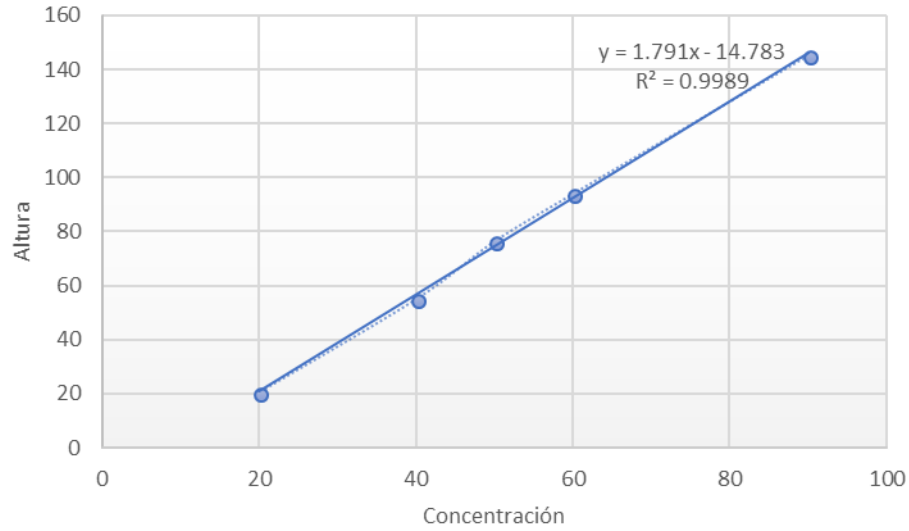


Figura A1-10. Curva de calibración del ácido isovalérico

A1.4.6. Ácido valérico

Tabla A1-7. Datos de la curva de calibración del ácido valérico

Muestra	Concentración (ppm)	Altura
1	20	19.592
2	40	54.491
3	50	73.864
4	60	91.232
5	90	143.571

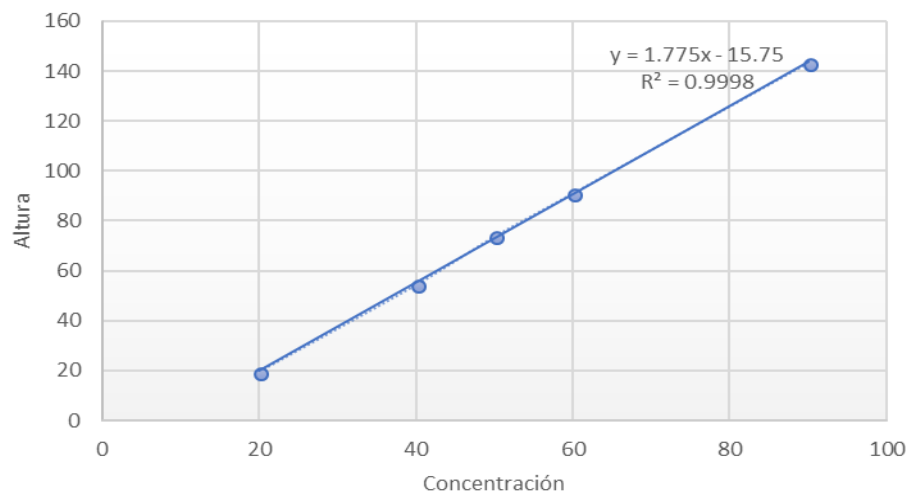


Figura A1-11. Curva de calibración del ácido valérico

A1.5. Medición del biogás

Para cuantificar el biogás producto de la degradación anaerobia se utilizó una metodología semejante a la de Villalobos-Juvenal (2015), cuyo fundamento es el desplazamiento de líquidos.

Primeramente, se llena un recipiente con una solución compuesta por cloruro de sodio, ácido clorhídrico y rojo de metilo, de forma que el biogás que sale del reactor burbujea esta solución, y al irse incrementando la presión en el recipiente, la solución es desplazada. El desplazamiento del líquido se mide con una probeta y el volumen registrado es proporcional al volumen del biogás generado en un tiempo específico. El sistema se muestra en la Figura A3-3 (Anexo 3).

La preparación de la solución de desplazamiento se detalla en la Figura A1-12:

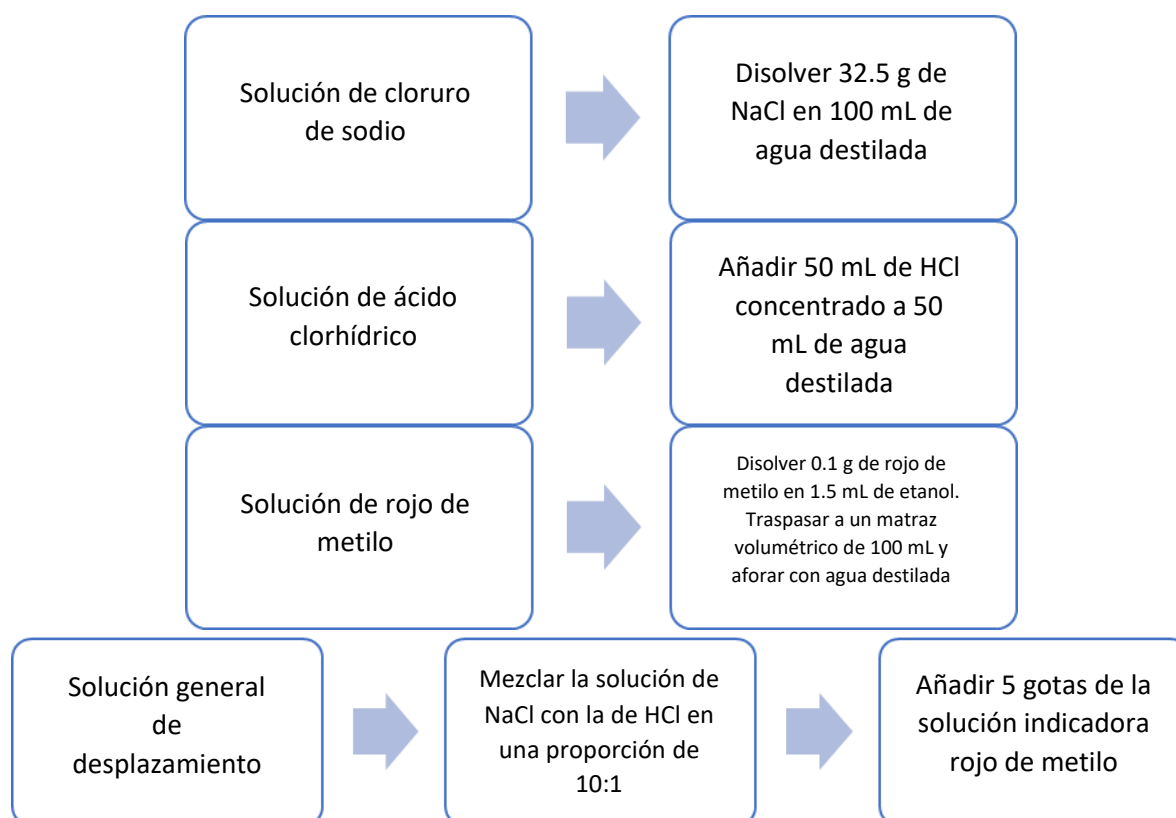


Figura A1-12. Diagrama de bloques para la preparación de la solución de desplazamiento

El procedimiento para la cuantificación del biogás de detalla en la Figura A1-13.

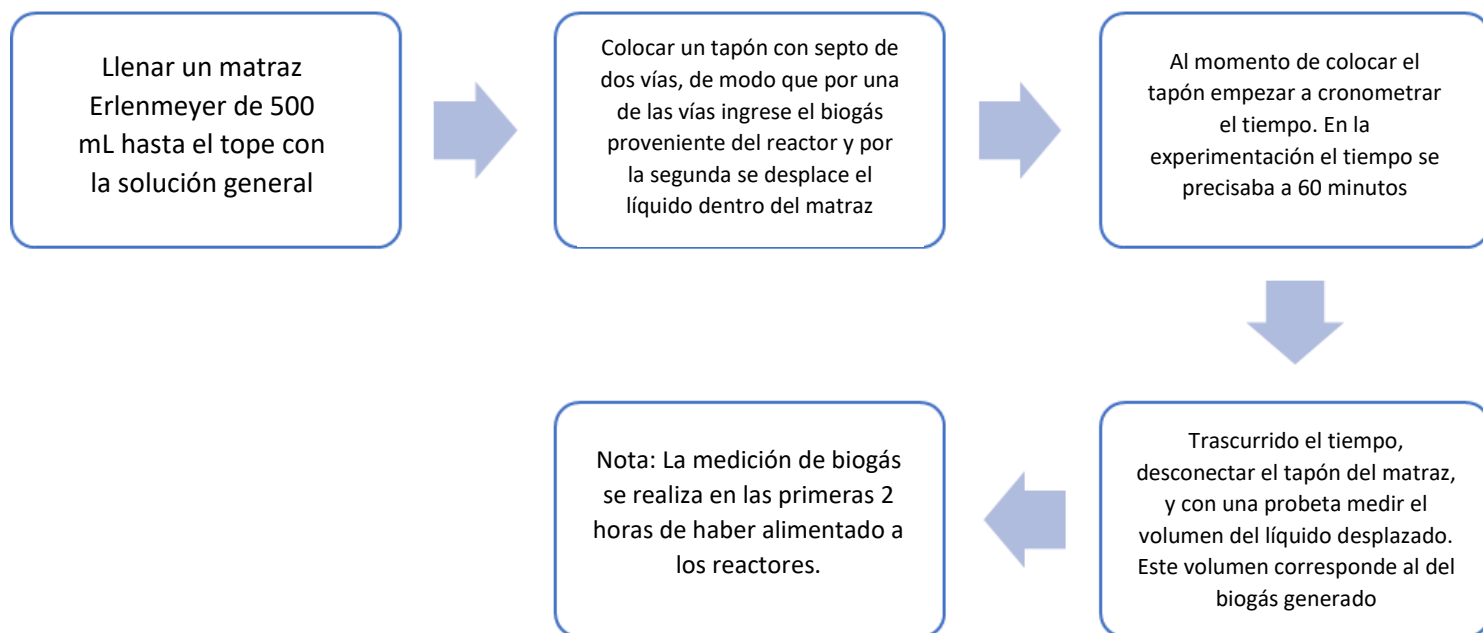


Figura A1-13. Diagrama de bloques para la cuantificación del biogás

A1.6. Conductividad eléctrica

La medición de conductividad eléctrica en los influentes y efluentes de los RALLFA se realizó utilizando un electrodo específico de un potenciómetro Hanna modelo Hi-4221 siguiendo el instructivo para el usuario. El procedimiento se muestra en la Figura A1-14.

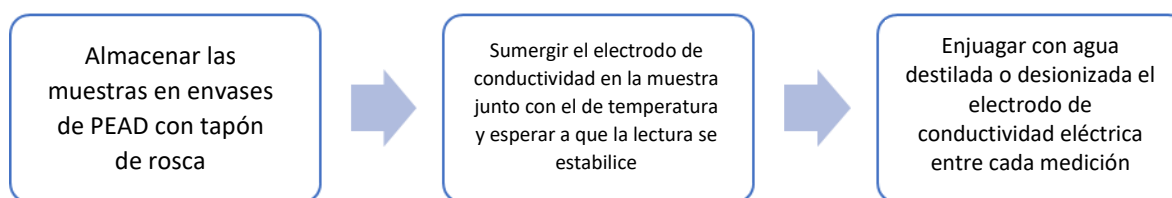


Figura A1-14. Diagrama de bloques para la medición de la CE

A1.7. Demanda bioquímica de oxígeno (DBO₅)

La DBO a los 5 días se cuantificó empleando la NMX-AA-030/2-SCFI-2001 (DOF, 2001a) con la adaptación presentada por Rincón-Acelas (2008). Los reactivos preparados y el procedimiento se muestran en el diagrama de la Figura A1-15. El equipo utilizado se denomina HACH y se presenta en la Figura A3-2 (Anexo 3).

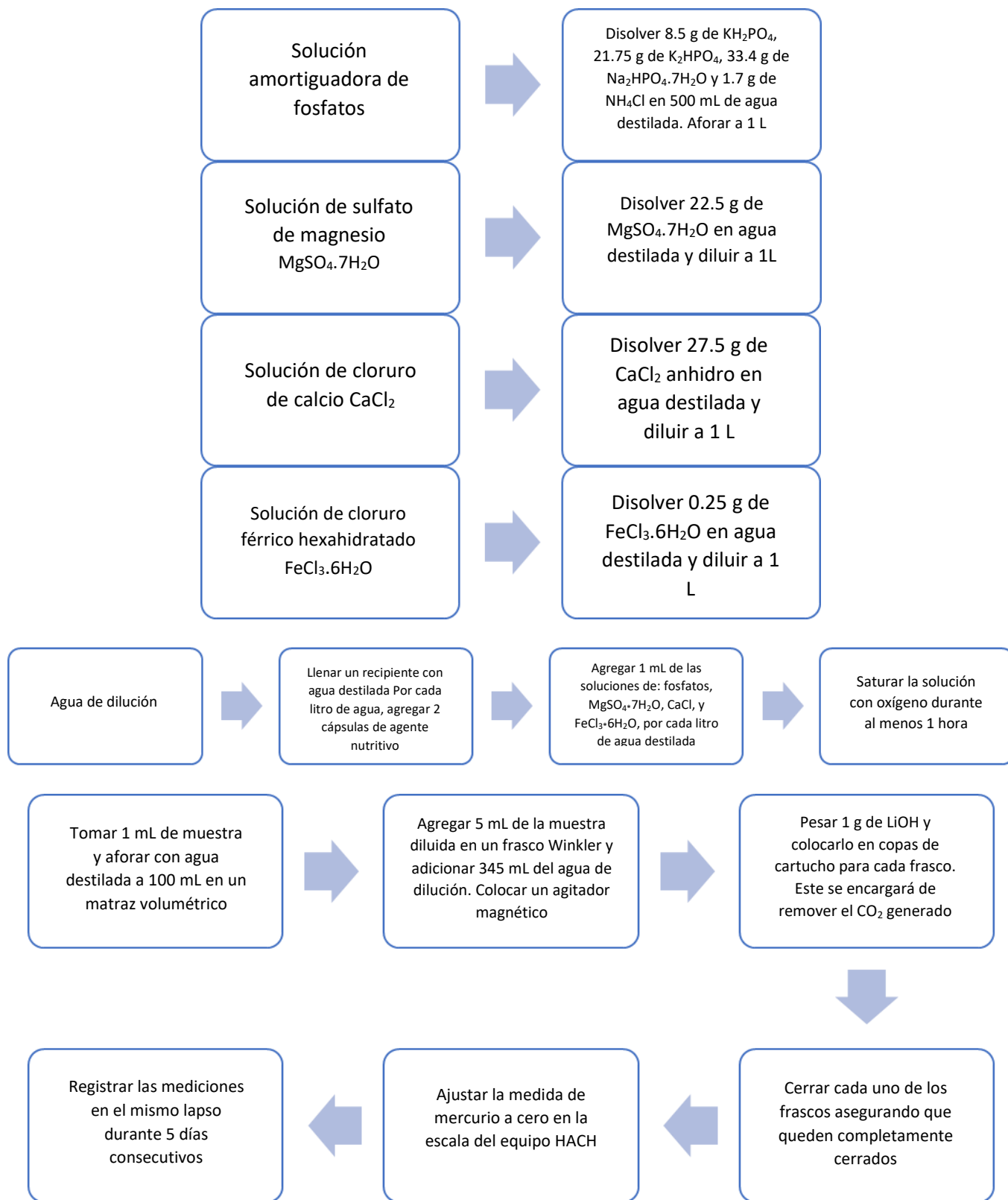


Figura A1-15. Diagrama de bloques para la determinación de la DBO₅

La DBO_5 se puede calcular mediante las Ecuaciones A1-3, 4, y 5. Donde F_s es la fracción volumétrica entre el agua de dilución y el volumen total (350mL), y F_m es la fracción volumétrica entre la muestra y el volumen total. La suma de las dos fracciones es igual a la unidad.

$$DBO_5 = \frac{DBO_{5Muestra} - (DBO_{5Blanco} \cdot F_s)}{F_m} \quad \text{Ecuación A1-3}$$

$$F_s = \frac{V_{\text{Agua de dilución}}}{V_{\text{Total}}} \quad \text{Ecuación A1-4}$$

$$F_m = \frac{V_{\text{Muestra}}}{V_{\text{Total}}} \quad \text{Ecuación A1-5}$$

A1.8. Demanda química de oxígeno (DQO)

La DQO se realizó utilizando el método de refluo cerrado descrito en la NMX-AA-030/2-SCFI-2011 (DOF, 2011). Para ello se prepararon dos soluciones denominadas solución de digestión A y B, cuyo método de preparación se presenta en la Figura A1-16. En la Figura A3-1 (Anexo 3) se muestra la imagen de las distintas coloraciones que presentó la curva de calibración.

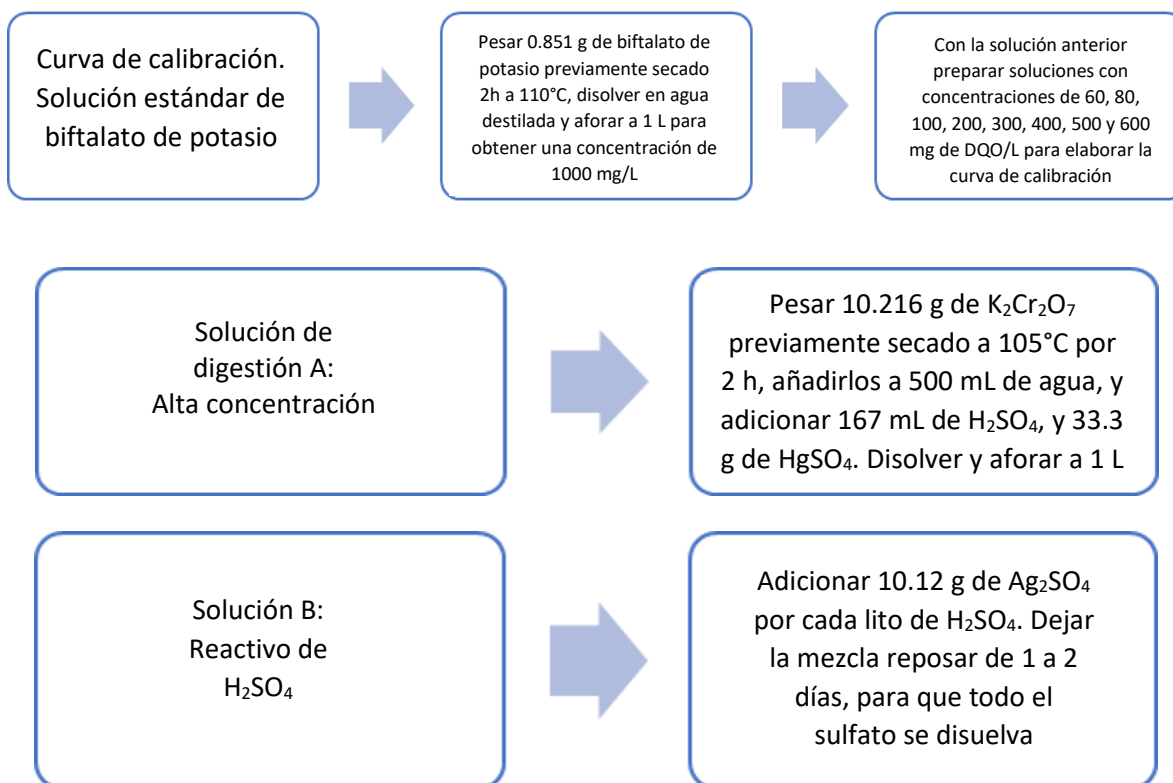


Figura A1-16. Preparación de reactivos para la determinación de la DQO

El procedimiento para determinar DQO se presenta en el diagrama de la Figura A1-17.

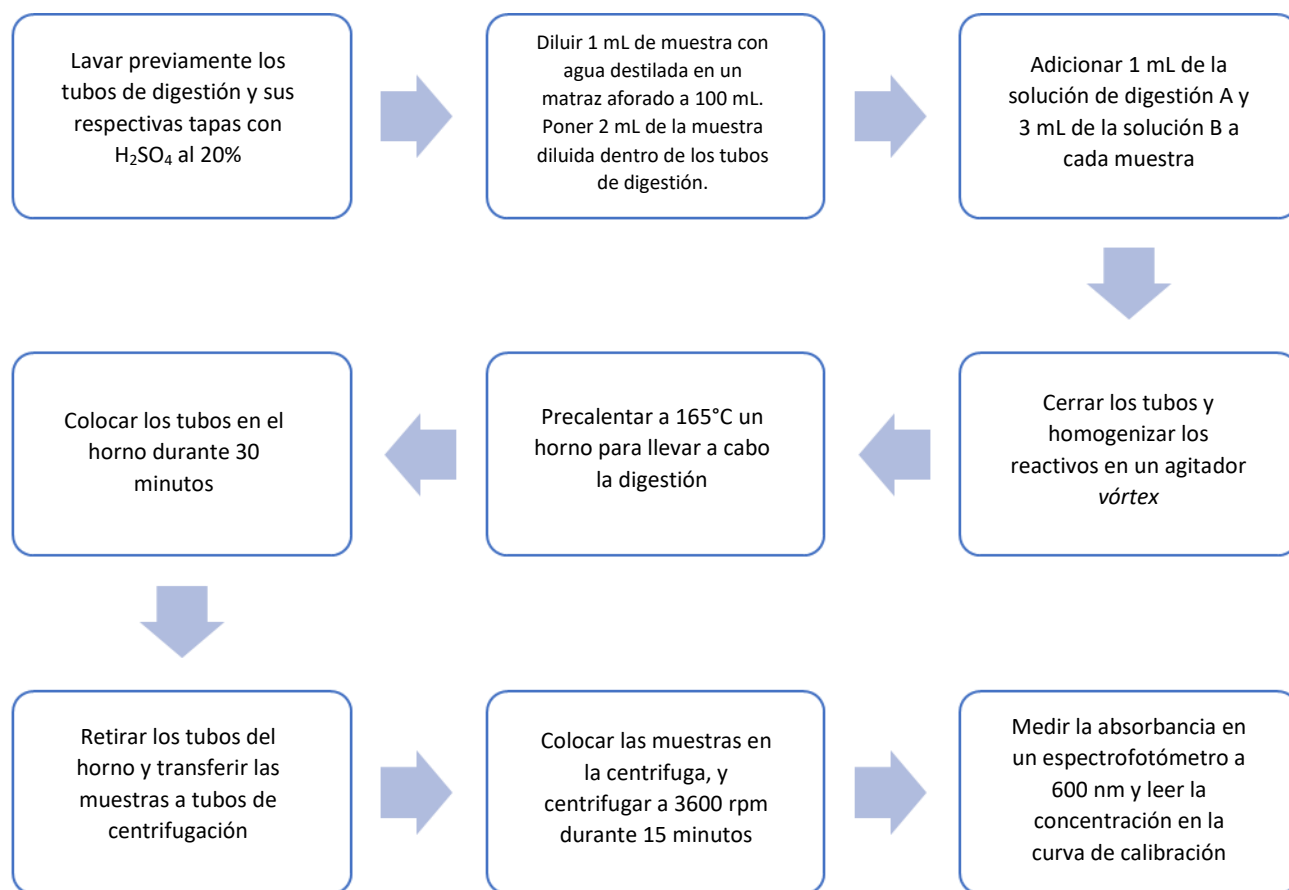


Figura A1-17. Diagrama de bloques para la determinación de la DQO

Los datos de absorbancia obtenidos al leer una serie de patrones de concentración conocida de biftalato de potasio, para cuantificar la demanda química de oxígeno por medio de refluo cerrado, se presentan en la Tabla A1-8.

Tabla A1-8. Datos de la curva de calibración de la DQO

Concentración mg DQO/L	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia promedio
100	0.028	0.036	0.032
250	0.087	0.082	0.0845
500	0.155	0.166	0.1605
750	0.246	0.24	0.243
1000	0.299	0.304	0.3015

La curva de calibración se muestra en la Figura A1-18

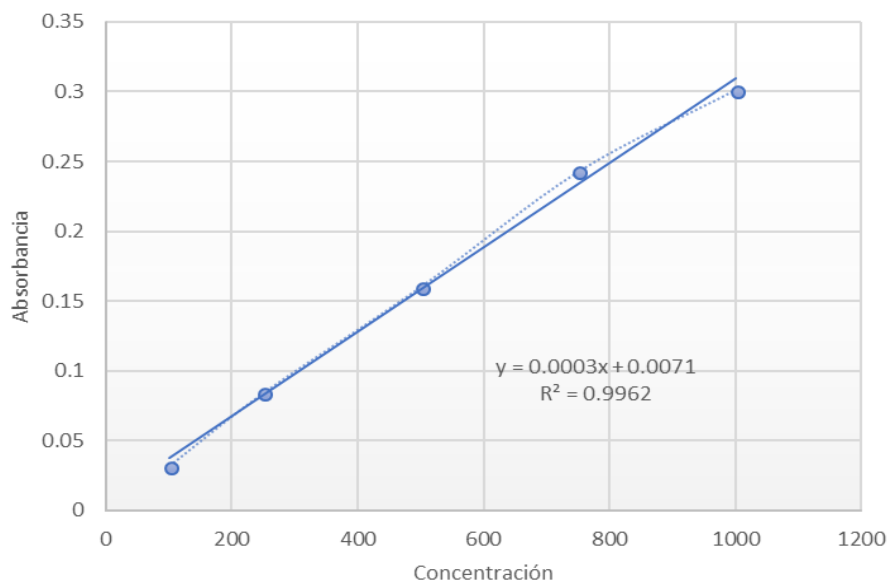


Figura A1-18. Curva de calibración de la demanda química de oxígeno

A1.9. Sólidos

A1.9.1. Sólidos totales ST

La determinación de sólidos totales, sólidos totales volátiles, sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles se realizó con base en la NMX-AA-034-SCFI-2015 (DOF, 2015). Con el procedimiento desarrollado la Figura A1-19 y mediante la Ecuación A1-6, se puede evaluar la concentración de los sólidos totales. En la Figura A3-4 (Anexo 3) se muestran los sólidos totales que quedan en las cápsulas de porcelana después del secado en el horno.

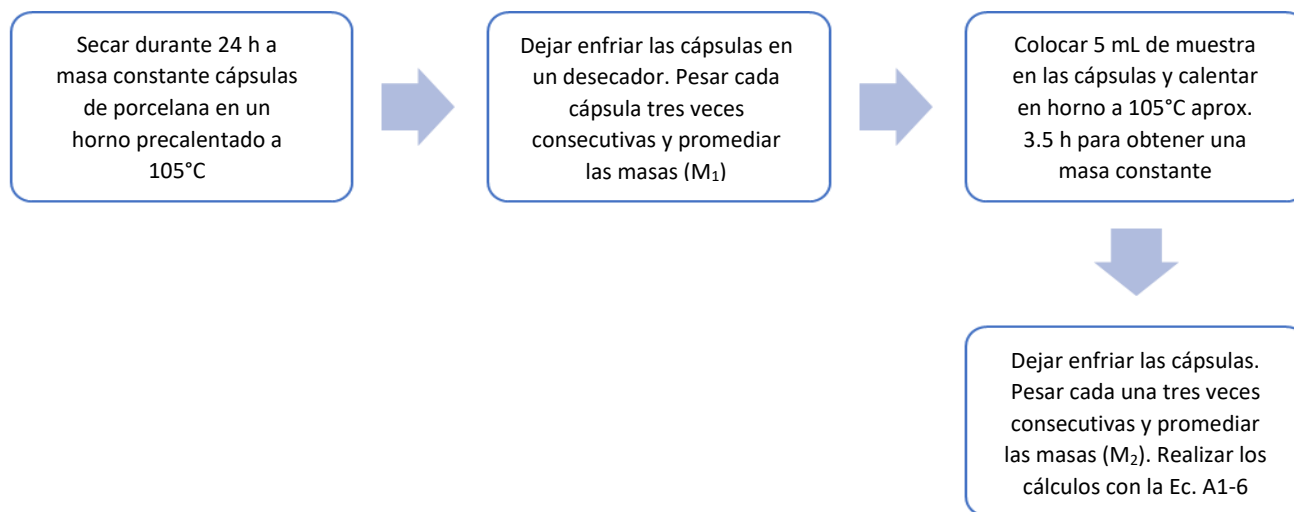


Figura A1-19. Diagrama de bloques para la determinación de sólidos totales

$$\text{mg/L de sólidos totales} = \frac{M_2 \text{ en mg} - M_1 \text{ en mg}}{\text{mL de muestra}} \times 1000 \quad \text{Ecuación A1-6}$$

A1.9.2 Sólidos totales volátiles STV

En la Figura A1-20. se especifica el diagrama de bloques para la determinación de sólidos totales volátiles y mediante la Ecuación A1-7 se puede evaluar su concentración. En la Figura A3-5 (Anexo 3) se muestran los sólidos totales volátiles y sólidos suspendidos volátiles al salir de la mufla.

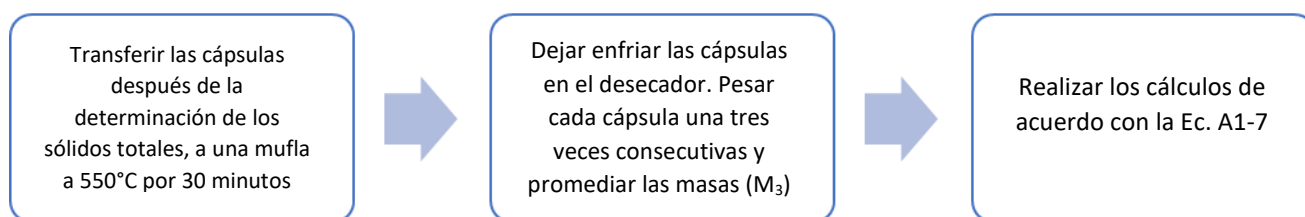


Figura A1-20. Diagrama de bloques para la determinación de sólidos totales volátiles

$$\text{mg/L de sólidos totales volátiles} = \frac{M_3 \text{ en mg} - M_1 \text{ en mg}}{\text{mL de muestra}} \times 1000 \quad \text{Ecuación A1-7}$$

A1.9.3 Sólidos suspendidos totales SST

En la Figura A1-21 se presenta la metodología para la cuantificación de los sólidos suspendidos totales y en la Figura A3-6 (Anexo 3) se muestran estos sólidos al salir del horno.

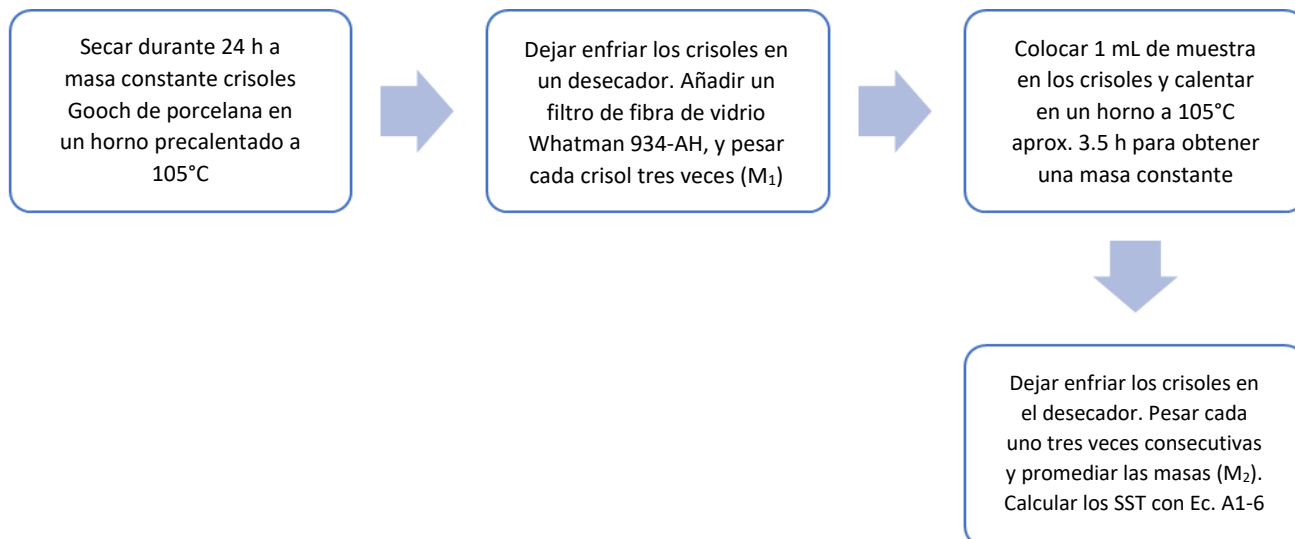


Figura A1-21. Diagrama de bloques para la cuantificación de sólidos suspendidos totales

A1.9.4 Sólidos suspendidos volátiles SSV

En la Figura A1-22 se muestra el diagrama de bloques para la cuantificación de sólidos suspendidos volátiles. Las imágenes de los sólidos totales volátiles al salir de la mufla se muestran en la Figura A3-5 (Anexo 3).

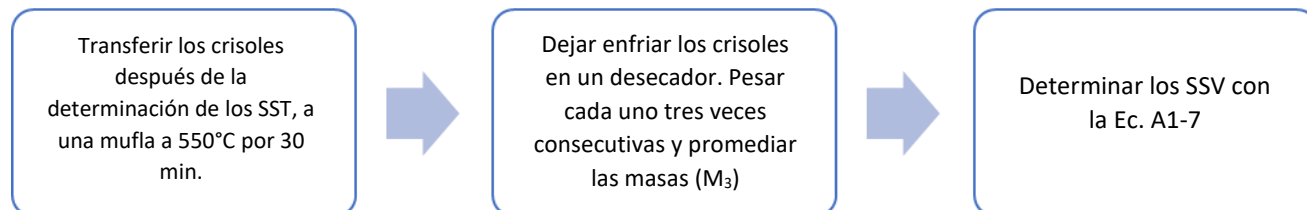


Figura A1-22. Diagrama de bloques para la cuantificación de sólidos suspendidos volátiles

A1.10. Fósforo total y ortofosfatos

La determinación de fósforo se realizó a partir del método de cloruro estanoso presente en NMX-AA-029-SCFI-2001 (DOF, 2001b). Los reactivos preparados y la metodología se muestran en la Figura A1-23.

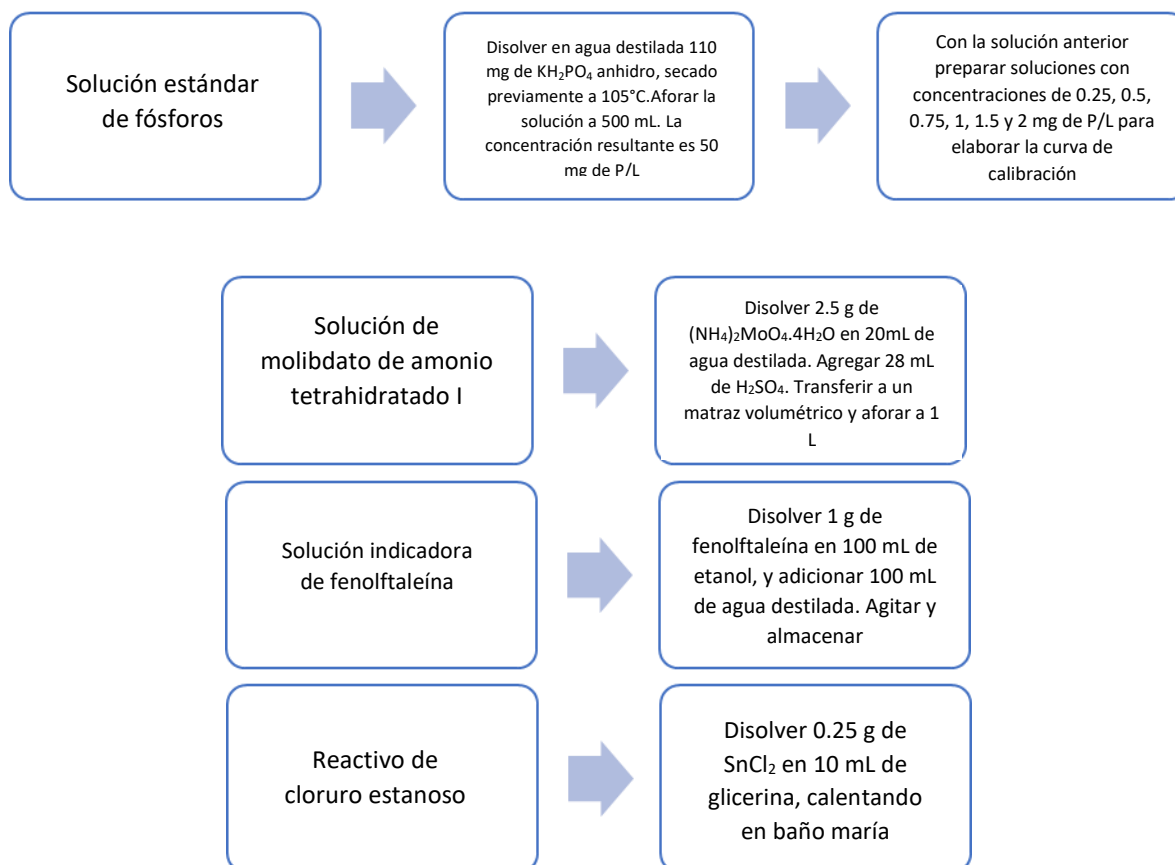


Figura A1-23. Diagrama de bloques para la cuantificación de fósforo total y ortofostatos

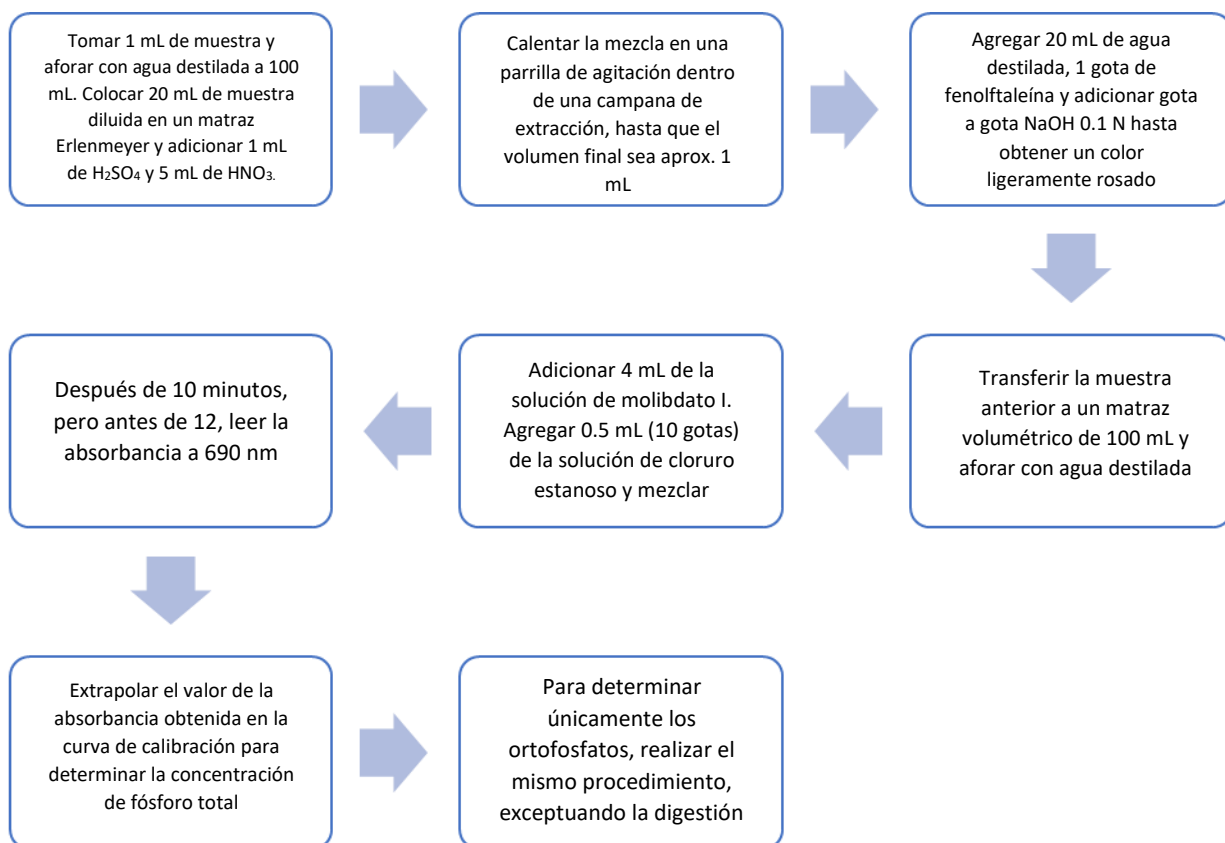


Figura A1-23. Diagrama de bloques para la cuantificación de fósforo total y ortofostatos (cont.)

A1.10.1 Fósforo total

Para elaborar la curva de calibración de fosforo total se utilizaron una serie de estándares elaborados con fosfato monopotásico KH_2PO_4 anhidro. Las absorbancias obtenidas para los estándares de concentración conocida se muestran en la Tabla A1-9. Para curva de calibración se prepararon muestras con diferentes concentraciones (Figura A3-7, Anexo 3).

Tabla A1-9. Datos de la curva de calibración de fósforo total

Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio
0	0
0.25	0.1
0.5	0.192
0.75	0.3
1	0.385
1.5	0.596
2	0.771

La curva de calibración se presenta en la Figura A1-24

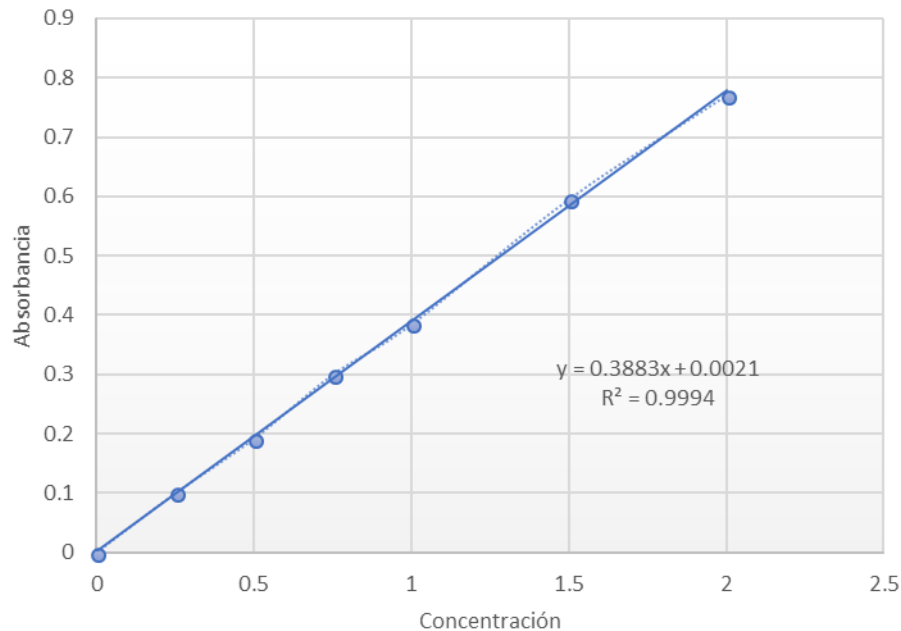


Figura A1-24. Curva de calibración de fósforo total

A1.10.2 Ortofosfatos

La metodología para cuantificar los ortofosfatos es muy semejante a la cuantificación de fósforo total, exceptuando únicamente la etapa de digestión. De igual manera la curva de calibración se obtuvo a partir de la lectura de absorbancia de soluciones estándar de fosfato monopotásico anhidro a concentraciones conocidas. Los datos obtenidos se presentan en la Tabla A1-10

Tabla A1-10. Datos de la curva de calibración de ortofosfatos

Concentración (mg/L)	Absorbancia		
	Replica 1	Réplica 2	Promedio
0.1	0.095	0.095	0.095
0.2	0.164	0.164	0.164
0.3	0.269	0.268	0.2685
0.4	0.342	0.342	0.342
0.5	0.412	0.402	0.407
0.6	0.5104	0.504	0.5072
1	0.735	0.752	0.7435
1.5	1.094	1.052	1.073
2	1.343	1.321	1.332
5	2.765	2.731	2.748

La curva de calibración de ortofosfatos se presenta en la Figura A1-25.

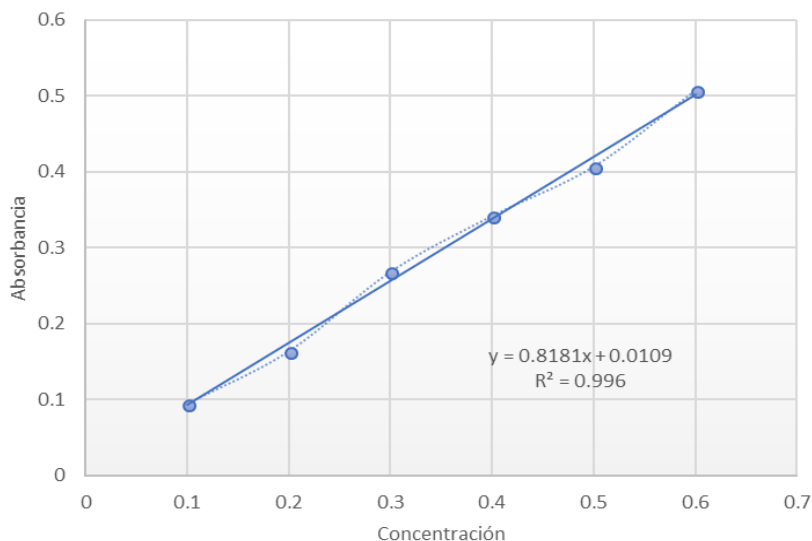


Figura A1-25. Curva de calibración de ortofosfatos

A1.11. Sulfatos

La cuantificación de sulfatos se realizó mediante la NMX-AA-074-SCFI-2014 (DOF, 2014). Se prepararon los reactivos que se presentan en la Figura A1-26. En la Figura A3-8 (Anexo 3) se presenta la determinación de sulfatos en los influentes y efluentes de los reactores tipo RALLFA en estudio.

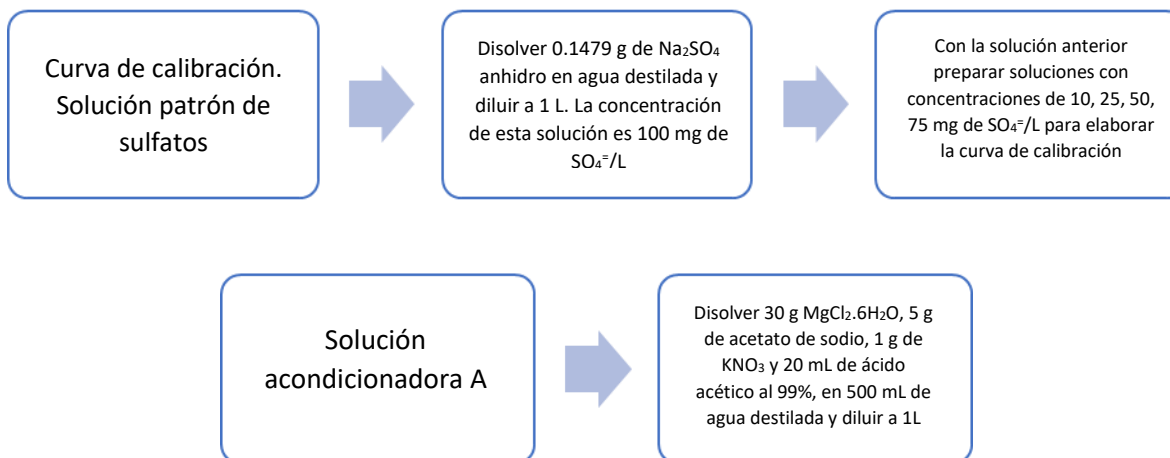


Figura A1-26. Preparación de reactivos para la determinación de sulfatos

El procedimiento se desarrolló siguiendo el diagrama de bloques de la Figura A1-27.

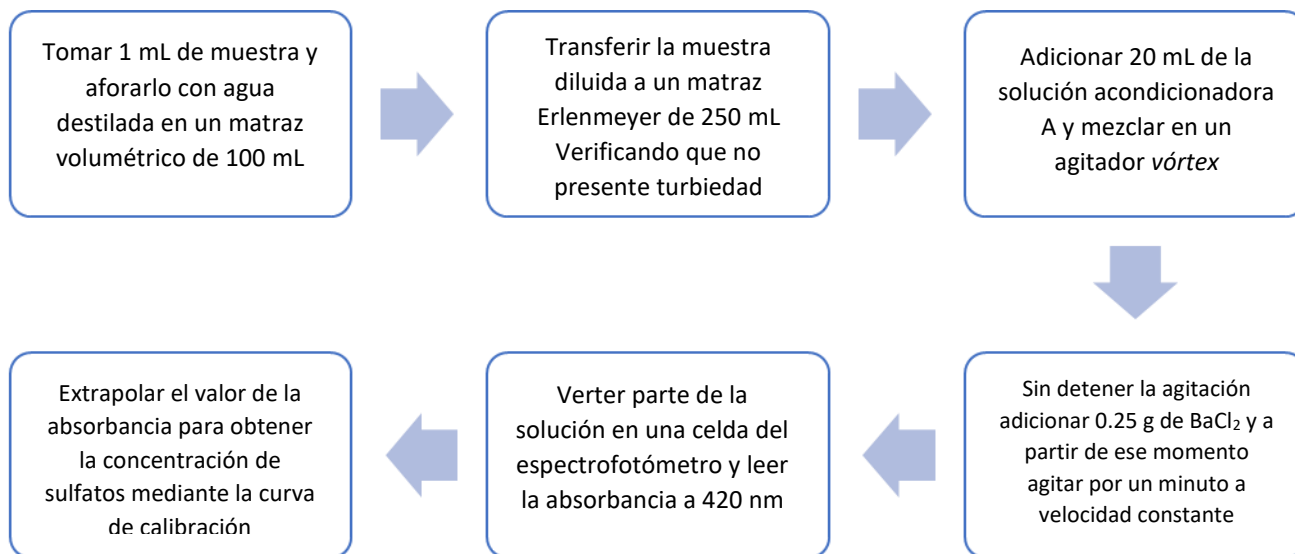


Figura A1-27. Diagrama de bloques para la determinación de sulfatos

Para la elaboración de la curva de calibración de sulfatos se utilizó una solución estándar de sulfato de sodio anhidro. A partir de esta se realizaron diversas diluciones para obtener las concentraciones que se presentan en la Tabla A1-11. En la Figura A1-28 se muestra la curva de calibración obtenida.

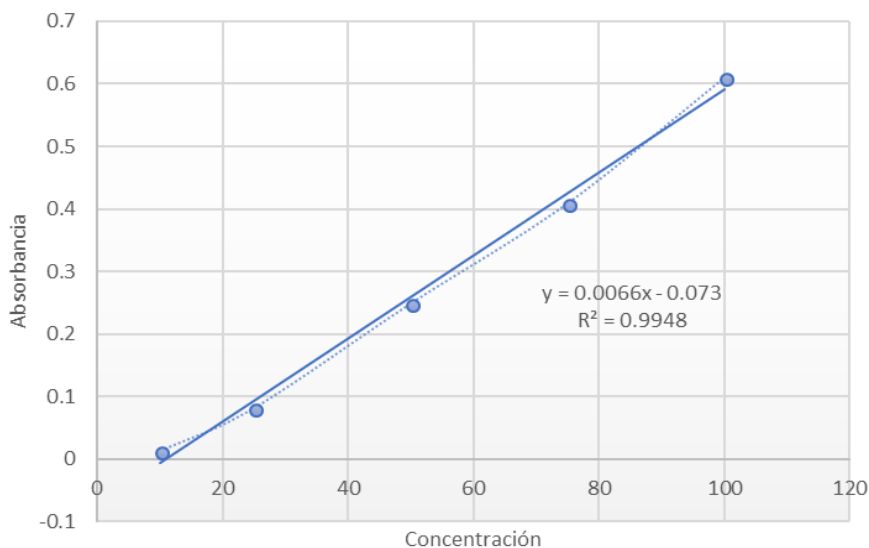


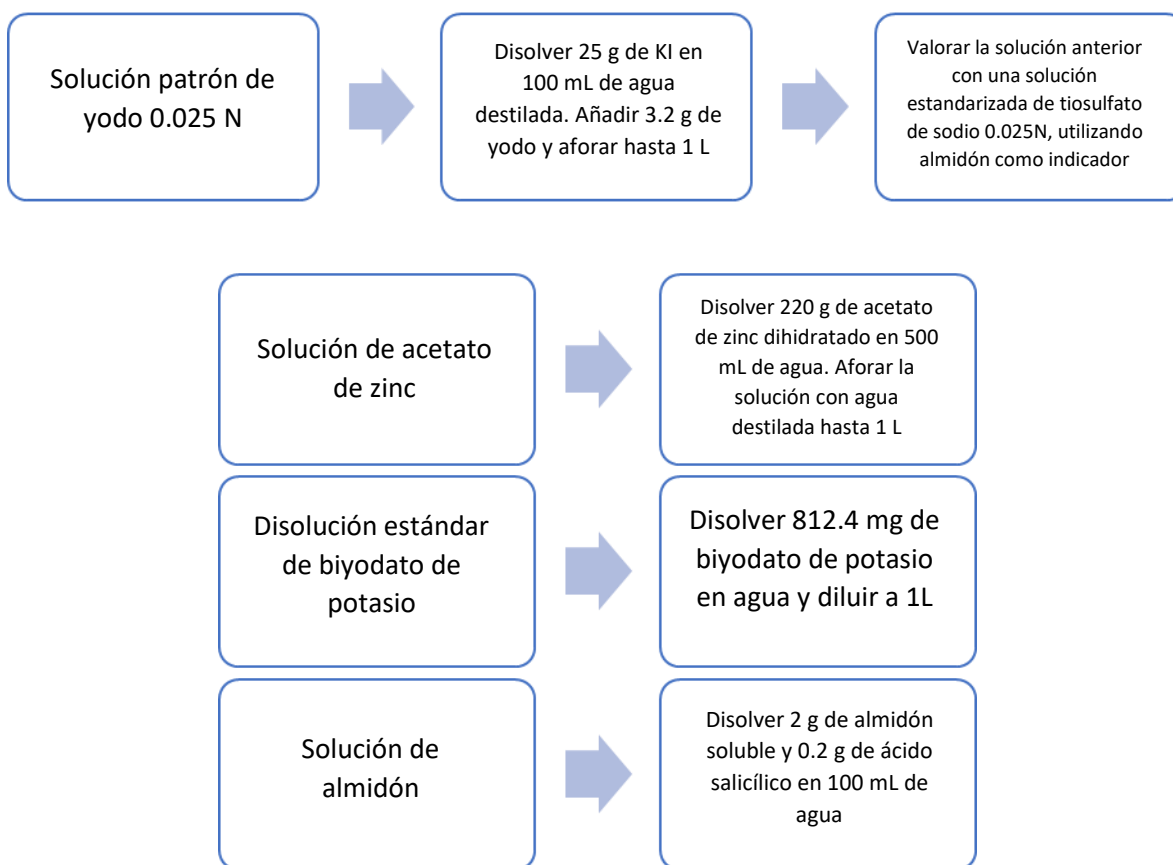
Figura A1-28. Curva de calibración de sulfatos

Tabla A1-11. Datos de la curva de calibración de sulfatos

Concentración (mg/L)	Absorbancia
10	0.013
25	0.082
50	0.249
75	0.409
100	0.61

A1.12. Sulfuros

La determinación de sulfuros se realizó mediante la técnica yodométrica presente en PROY-NMX-AA-084-SCFI-2005 (DOF, 2005) y realizada en investigaciones precedentes por Rincón-Acelas (2008). Los reactivos preparados se presentan en el diagrama de bloques de la Figura A1-29.

**Figura A1-29.** Preparación de reactivos utilizados para la determinación de sulfuros

El procedimiento para la determinación de sulfuros se presenta en la Figura A1-30 y la ecuación A1-8 se utiliza para determinar la concentración del analito de interés.

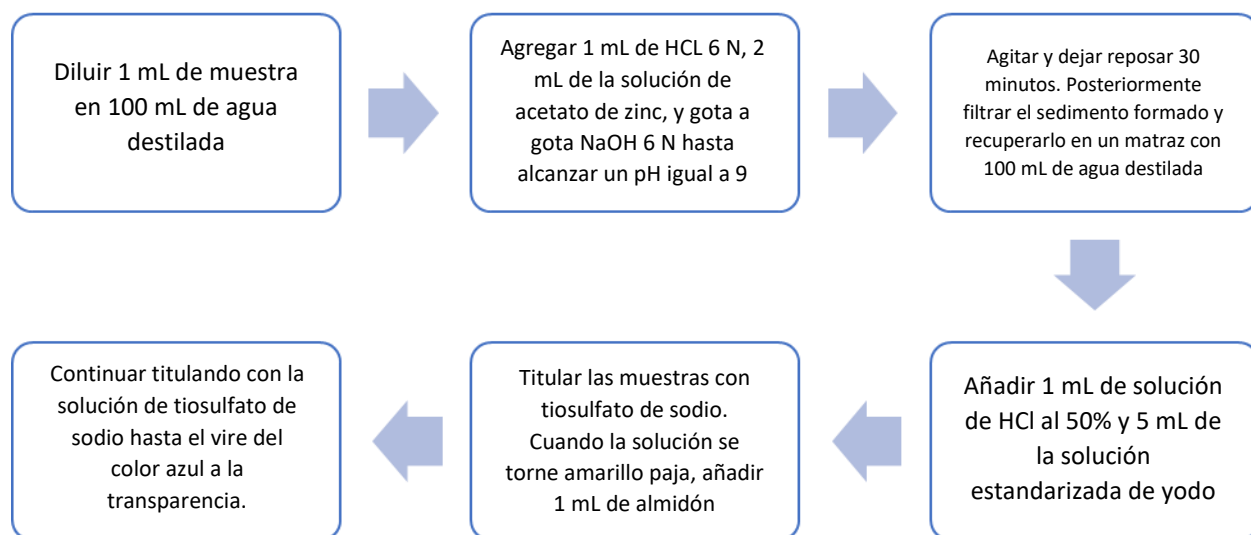


Figura A1-30. Diagrama de bloques para la determinación de sulfuros

Con el volumen total de tiosulfato añadido, determinar la concentración de sulfuro en la muestra con la ecuación A1-5. En la Figura A3.9 (Anexo 3) se muestra la coloración azul al añadir el almidón a la muestra con yodo, después de haber alcanzado el color amarillo paja con el tiosulfato de sodio.

$$\text{mg S}^{2-} / \text{L} = \frac{[(V_{\text{Sol. de Yodo}} \times N_{\text{Sol. de Yodo}}) - (V_{\text{Tiosulfato de Sodio}} \times N_{\text{Tiosulfato de Sodio}})] \times 16000}{\text{mL de la muestra}} \quad \text{Ecuación A1-8}$$

Anexo 2. Datos experimentales y análisis estadísticos

A2.1. Temperatura

Tabla A2-1. Datos experimentales de temperatura (°C)

Mes	VC	VD	R 45°C	R 55°C	VD65	R 65°C
Mayo	19.14±2.43	20.01±1.30	44.60±0.94	50.50±0.51	-	64.50±0.69
Junio	17.92±2.30	20.64±1.13	43.81±1.17	53.81±1.38	-	64.06±1.18
Julio	17.96±1.17	20.89±0.96	44.58±1.10	54.58±1.14	-	64.63±1.21
Agosto	20.24±1.85	20.58±1.73	45.73±1.32	54.32±1.36	-	63.27±1.52
Septiembre	18.68±2.54	18.68±2.06	45.85±1.34	52.85±1.50	20.14±1.97	62.69±2.93
Octubre	17.25±2.51	18.86±1.54	45.88±1.17	53.29±1.57	19.38±1.39	62.88±1.80
Noviembre	16.72±4.19	18.36±3.19	45.50±1.09	54.29±0.61	19.01±2.80	64.86±0.53
Diciembre	13.39±2.92	15.18±2.62	45.41±0.80	53.41±0.71	16.14±2.50	63.71±1.31
Enero	14.48±3.01	15.27±2.22	45.00±0.71	53.41±1.23	15.16±1.79	63.29±1.33
Febrero	17.36±3.61	18.56±3.18	45.17±0.51	53.94±1.00	19.02±2.44	63.94±1.48
Marzo	20.01±3.06	20.76±1.75	44.94±0.44	54.53±0.99	21.41±1.50	64.75±0.58
Abril	19.86±3.80	21.35±1.99	44.63±0.50	54.16±1.01	21.69±1.70	64.16±1.01
Mayo	18.05±3.14	19.58±1.57	45.17±0.83	53.33±0.65	19.22±1.60	64.00±1.60
Junio	19.54±2.92	19.54±2.92	45.20±0.79	53.10±1.29	19.67±3.11	64.10±0.88
Julio	18.92±3.60	17.93±2.50	44.88±0.64	54.63±0.52	18.20±2.00	64.63±1.30

A2.2. pH

Tabla A2-2. Datos experimentales de pH

Mes	VC	VD	R45	R55	VD65	R65
Mayo	4.68±0.15	4.81±0.11	7.64±0.20	7.91±0.20	-	8.10±0.14
Junio	4.54±0.18	4.75±0.08	7.53±0.22	7.35±0.12	-	6.81±0.45
Julio	4.72±0.23	4.93±0.18	7.69±0.14	7.76±0.20	-	7.67±0.21
Agosto	4.59±0.08	4.70±0.11	7.74±0.13	7.85±0.12	-	7.69±0.23
Septiembre	4.83±0.14	4.91±0.15	7.64±0.23	7.83±0.18	4.95±0.14	7.49±0.48

Octubre	4.71±0.09	4.77±0.06	7.60±0.17	7.75±0.12	4.86±0.08	7.35±0.38
Noviembre	4.75±0.10	4.80±0.10	7.58±0.16	7.77±0.11	4.85±0.10	7.35±0.38
Diciembre	4.72±0.19	4.80±0.07	7.72±0.14	7.72±0.14	4.85±0.14	7.42±0.28
Enero	4.64±0.07	4.66±0.09	7.76±0.14	7.74±0.13	4.91±0.16	7.41±0.24
Febrero	4.90±0.15	4.70±0.14	7.98±0.27	8.10±0.23	5.03±0.14	7.62±0.42
Marzo	4.89±0.14	4.94±0.20	8.02±0.24	8.16±0.20	5.04±0.25	7.87±0.44
Abril	4.52±0.05	4.57±0.04	7.73±0.13	7.81±0.17	4.66±0.05	7.57±0.22
Mayo	4.79±0.20	4.80±0.19	7.89±0.19	7.94±0.21	4.82±0.23	7.70±0.36
Junio	4.57±0.03	4.57±0.10	7.64±0.17	7.64±0.25	4.58±0.24	7.70±0.26
Julio	4.64±0.09	4.64±0.09	7.57±0.17	7.69±0.22	4.88±0.15	7.50±0.39

A2.3. Conductividad eléctrica

Tabla A2-3. Datos experimentales de conductividad eléctrica (mS/cm)

Mes	VC	VD	R 45°C	R 55°C	VD65	R 65°C
Junio	19.82±0.43	12.09±1.20	12.62±0.65	12.50±1.01	-	12.44±1.12
Julio	19.97±0.53	11.15±0.98	11.96±0.41	12.27±0.70	-	11.84±0.65
Agosto	19.69±0.66	10.81±0.72	11.11±0.75	11.20±0.60	-	10.20±1.44
Septiembre	19.90±0.33	9.68±1.43	11.84±0.60	10.94±0.66	7.53±1.37	8.90±0.45
Octubre	20.00±0.32	10.88±1.04	11.09±0.29	11.35±0.29	6.98±1.15	7.75±0.27
Noviembre	20.10±0.22	11.33±0.53	11.63±0.44	11.46±0.49	7.10±0.76	7.59±0.27
Diciembre	19.88±0.70	11.17±0.36	11.78±0.33	11.75±0.26	6.85±0.61	7.77±0.27
Enero	20.34±0.36	11.14±0.83	11.54±0.28	11.46±0.35	6.32±0.43	7.27±0.23
Febrero	20.26±0.17	11.23±0.59	11.54±0.36	11.27±0.26	6.81±0.75	7.29±0.74
Marzo	20.50±0.56	11.20±0.85	10.76±0.28	11.34±0.24	6.55±0.41	6.85±0.30
Abril	20.31±0.22	11.31±0.25	11.64±0.28	11.74±0.23	6.55±0.27	6.87±0.30
Mayo	20.21±0.47	11.12±1.17	11.75±0.63	11.74±0.33	7.12±0.56	7.73±0.80
Junio	20.18±0.51	10.83±1.05	11.62±0.27	11.52±0.59	7.27±1.00	7.81±0.74
Julio	19.84±0.60	13.03±0.80	11.61±0.22	11.54±0.39	6.64±0.40	7.94±0.32

A2.4. Alcalinidad

Tabla A2-4. Datos experimentales de alcalinidad (mg CaCO₃)

Mes	VC	VD	R 45°C	R 55°C	VD65	R 65°C
Junio	1239±159	664±109	4500±367	4210±434	-	4126±453
Julio	1223±154	686±142	4777±549	4672±540	-	4701±497
Agosto	1163±190	812±264	4860±320	4630±335	-	4015±380
Septiembre	2114±388	1067±242	5046±467	4684±227	908±170	2913±250
Octubre	1705±171	929±107	4578±122	4606±125	632±88	2860±207
Noviembre	1895±256	1146±84	4826±276	4857±275	739±52	2810±221
Diciembre	1954±293	1106±149	5034±155	4792±218	691±65	2876±153
Enero	1704±277	976±162	5156±215	4945±154	676±101	2905±200
Febrero	1964±263	1309±184	5127±359	4874±448	1010±196	3278±167
Marzo	1960±303	892±154	5238±576	5185±555	1030±70	3290±61
Abril	1351±342	733±125	5586±198	5144±165	606±278	2704±118
Mayo	1340±127	940±85	5650±184	5165±120	591±29	2945±106
Junio	1259±189	690±155	5285±341	5034±360	570±95	3006±341
Julio	1356±264	612±236	5194±182	4932±154	534±120	3156±258

A2.5. Factor de alcalinidad

Tabla A2-5. Datos experimentales de factor de alcalinidad

Mes	R 45°C	R 55°C	R 65°C
Junio	0.37±0.04	0.40±0.03	0.57±0.06
Julio	0.33±0.03	0.36±0.04	0.45±0.03
Agosto	0.28±0.05	0.27±0.04	0.48±0.07
Septiembre	0.33±0.04	0.29±0.04	0.49±0.05
Octubre	0.33±0.04	0.32±0.03	0.56±0.07
Noviembre	0.32±0.06	0.32±0.02	0.55±0.07
Diciembre	0.31±0.03	0.30±0.04	0.48±0.04
Enero	0.32±0.03	0.33±0.04	0.53±0.07

Mes	R 45°C	R 55°C	R 65°C
Febrero	0.28±0.04	0.27±0.05	0.56±0.06
Marzo	0.26±0.04	0.25±0.04	0.45±0.06
Abril	0.33±0.04	0.36±0.04	0.52±0.06
Mayo	0.23±0.01	0.27±0.01	0.45±0.04
Junio	0.32±0.01	0.33±0.03	0.46±0.06
Julio	0.29±0.04	0.31±0.04	0.48±0.07

A2.6. Demanda química de oxígeno

Tabla A2-6. Datos experimentales de demanda química de oxígeno (mg/L)

Mes	VC	VD	R 45°C	R 55°C	VD65	R 65°C
Septiembre	57633±6000	32967±3200	16300±1000	13633±1200	19967±3200	2967±1700
Octubre	74189±5300	34967±3480	13633±1155	13522±2009	18744±5966	9411±2411
Noviembre	73411±5933	34189±3507	13800±1505	12325±1590	18633±4495	9522±1807
Diciembre	72633±6566	33411±3533	13967±1856	13522±1171	18522±3015	9633±1202
Enero	66800±7406	34717±2485	14133±1972	14967±1764	20800±3512	7383±2573
Febrero	67092±7557	35425±6459	15383±2158	18008±3184	18776±6582	9110±4004
Marzo	67700±7166	34755±7626	12367±3050	14239±5176	16027±6062	9367±3154
Abril	62200±6500	29467±4574	14152±2996	15448±4217	16448±5583	8596±1457

A2.7. Sulfatos

Tabla A2-7. Datos experimentales de sulfatos (mg/L)

Mes	VC	VD	R 45°C	R 55°C	VD65	R 65°C
Octubre	10265±539	4902±330	4000±185	3955±121	2250±168	2409±193
Noviembre	11530±420	5515±492	4106±116	3803±193	2258±184	2606±118
Diciembre	11000±1007	4985±750	3402±110	3500±186	2432±196	2545±164
Enero	11083±525	5167±600	3553±118	3644±204	3000±142	2568±96
Febrero	11125±604	4684±409	3649±220	3661±244	2530±377	2552±119

Mes	VC	VD	R 45°C	R 55°C	VD65	R 65°C
Marzo	10740±512	5039±184	3770±178	3802±117	2605±225	2508±159
Abril	10745±399	4778±313	3836±106	3644±115	2540±139	2423±80

A2.8. Sulfuros

Tabla A2-8. Datos experimentales de sulfuros (mg/L)

Mes	VC	VD	R 45°C	R 55°C	VD65	R 65°C
Feb S1	91±86	49±89	215±53	174±48	29±66	132±41
Feb S2	164±94	122±100	169±64	200±75	81±49	148±46
Feb S3	243±79	181±79	195±42	215±21	153±83	174±36
Mar S1	278±43	215±76	215±43	174±18	153±56	112±62
Mar S2	231±7	143±73	288±44	247±15	70±29	132±88
Mar S3	304±171	283±104	371±71	371±119	247±120	309±153
Mar S4	195±125	278±62	340±70	319±94	257±69	402±98
Abr S1	174±121	298±82	361±57	340±80	382±73	444±92
Abr S2	247±79	164±21	221±69	210±69	91±17	117±43
Abr S3	189±71	96±60	210±43	236±42	96±26	106±31
Abr S4	382±220	160±86	229±24	271±29	91±42	105±24

A2.9. Biogás

Tabla A2-9. Datos experimentales de la producción de biogás (mL/h)

Mes	R45°C	R55°C	R65°C
Abr S1	253± 31	210± 38	127± 36
Abr S2	200± 26	176± 16	84± 5
Abr S3	235± 23	211±31	86± 15
Abr S4	213± 22	189± 23	79± 13
May S1	196± 17	179± 13	70± 3
May S2	178± 40	193± 71	78± 14

Mes	R45°C	R55°C	R65°C
May S3	177± 32	167± 36	68± 4
May S4	207± 15	196± 12	69± 6

A2.10. Demanda bioquímica de oxígeno

Tabla A2-10. Datos de demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días

Muestra	VC	VD	R45°C	R55°C	VD65	R65°C
Conjunto 1	-	-	4667.00	4317.00	4510.00	3757.00
Conjunto 2	7480.00	6080.00	-	3630.00	4446.67	3827.44
Conjunto 3	6260.00	5560.00	4948.00	3460.00	-	4260.00
Conjunto 3	-	6900.00	5150.00	3050.00	5500.00	4560.00
Promedio	6870.00	6180.00	4921.67	3614.25	4818.89	4101.11
Desv. Est.	862.67	675.57	242.57	527.98	590.71	378.21

A2.11. Ácidos grasos volátiles

Tabla A2-11. Datos de ácidos grasos volátiles (mg/L)

Mes	Ácido acético mg/L			Ácido propiónico mg/L		
	R 45°C	R 55°C	R 65°C	R 45°C	R 55°C	R 65°C
Feb S1	24.61	28.01	43.73	40.58	23.09	20.49
Feb S2	38.83	46.68	18.48	24.48	21.64	24.06
Feb S3	27.04	39.63	31.86	17.42	20.71	21.51
Mar S1	25.99	24.96	17.00	20.40	35.34	13.12
Mar S2	-	24.52	47.97	29.58	25.70	30.33
Mar S3	54.00	30.65	27.05	45.97	-	-
Mar S4	35.95	42.00	-	-	10.02	-
Abr S1	28.18	67.46	27.92	10.02	47.93	-
Abr S2	19.95	36.69	-	52.25	35.27	47.09
Abr S3	23.45	-	-	31.98	38.83	41.13

Mes	Ácido isobutírico mg/L			Ácido butírico mg/L		
	R 45°C	R 55°C	R 65°C	R 45°C	R 55°C	R 65°C
Feb S1	44.14	25.67	24.40	28.89	22.59	32.92
Feb S2	18.00	21.77	51.00	15.99	12.75	21.62
Feb S3	23.54	25.85	16.80	13.00	14.27	10.81
Mar S1	16.62	13.24	14.82	24.34	15.29	14.45
Mar S2	24.23	20.74	26.03	24.45	16.22	34.77
Mar S3	24.23	36.54	-	22.51	19.63	
Mar S4	22.06	10.52	18.05	21.39	7.75	24.62
Abr S1	10.52	-	-	15.18	-	18.46
Abr S2	-	29.63	-	18.70	14.75	14.41
Abr S3	18.04	-	-	-	13.86	-

Mes	Ácido isovalérico mg/L			Ácido valérico mg/L		
	R 45°C	R 55°C	R 65°C	R 45°C	R 55°C	R 65°C
Feb S1	15.72	19.09	19.56	12.07	15.13	22.29
Feb S2	14.77	11.06	13.92	18.60	13.55	16.70
Feb S3	12.16	15.96	10.91	12.42	14.53	13.95
Mar S1	12.90	13.69	10.82	10.60	15.45	18.07
Mar S2	21.70	42.81	29.00	-	16.00	-
Mar S3	17.86	38.70	17.11	18.10	14.95	11.78
Mar S4	-	16.83	-	-	8.87	16.30
Abr S1	8.25	15.54	-	8.87	34.78	30.56
Abr S2	22.83	25.10	32.79	25.45	16.51	39.99
Abr S3	13.68	16.28	-	15.30	-	-

A2.11.1. Cromatogramas de AGV

En la Figura A2-1 se presentan tres cromatogramas de ácidos grasos volátiles para cada uno de los reactores. El área bajo la curva se integró y se determinó la altura de cada pico, y utilizando las curvas de calibración (Anexo A4.4.) se pudo obtener la concentración para cada AGV.

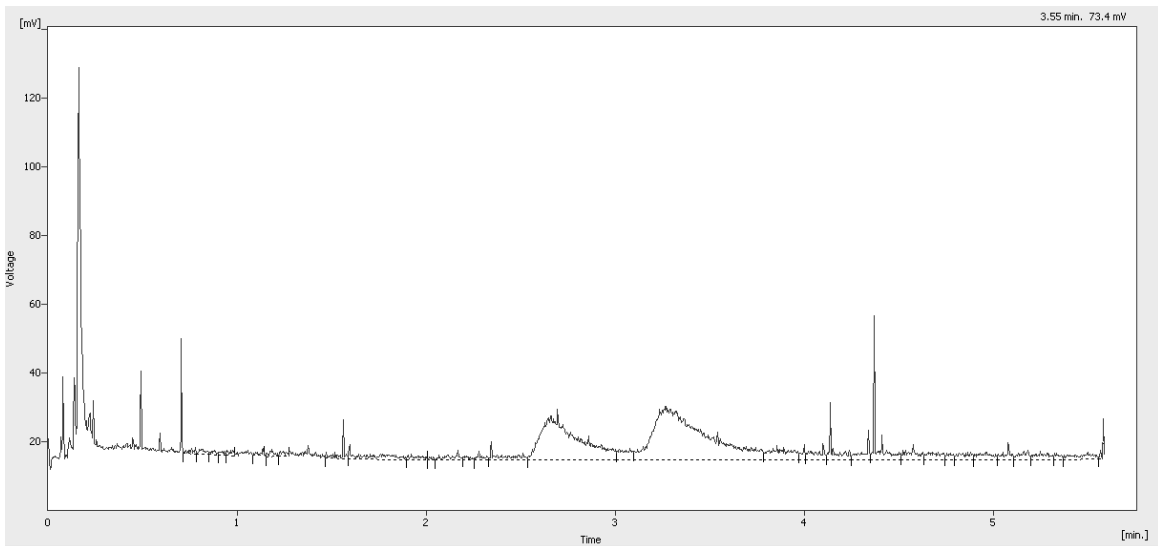
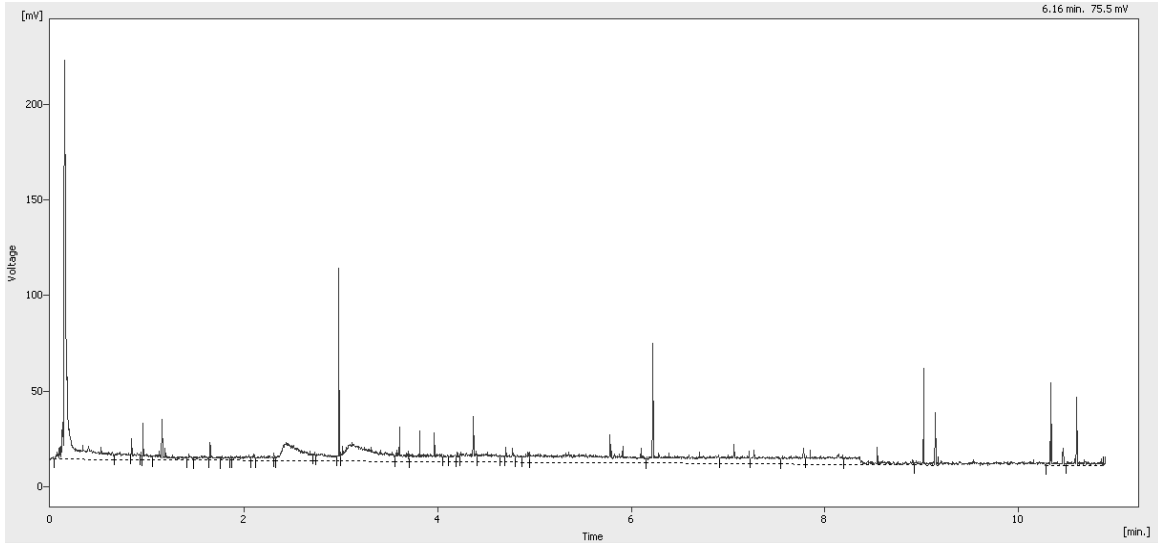


Figura A2-1. Cromatogramas de AGV para cada uno de los reactores: 45, 55 y 65°C

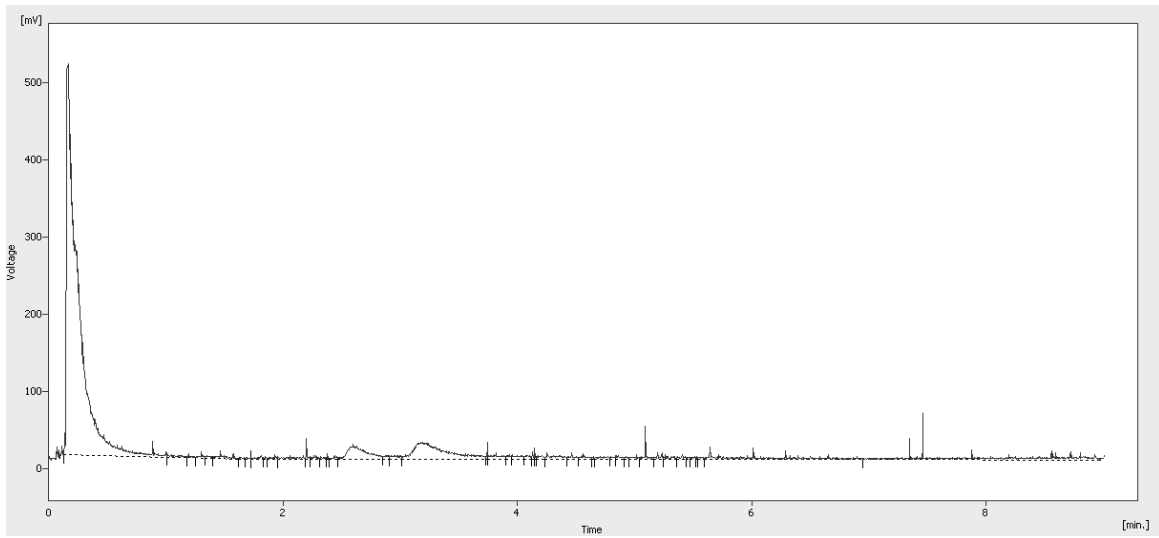


Figura A2-1. Cromatogramas de AGV para cada uno de los rectores: 45, 55 y 65°C (cont.)

A2.12. Polifenoles

Tabla A2-12. Datos de absorbancia de polifenoles a 765 nm

VC	VD	R45°C	R55°C	VD65	R65°C
0.0745	0.03	0.03	0.0265	0.024	0.019
0.0855	0.0305	0.029	0.027	0.015	0.0155
0.067	0.03	0.034	0.026	0.018	0.017
0.068	0.024	0.026	0.0225	0.0155	0.0155
0.0745	0.031	0.0295	0.0255	0.018	0.0175
0.061	0.0245	0.0275	0.0225	0.0165	0.0125
0.065	0.03	0.031	0.0285	0.0175	0.017
0.069	0.0315	0.035	0.0325	0.0175	0.0155
0.074	0.0295	0.0265	0.0295	0.0205	0.018
0.075	0.0295	0.0235	0.029	0.0145	0.0125
0.0715	0.0215	0.024	0.0195	0.014	0.012

Tabla A2-13. Datos de concentración de polifenoles (mg. eq. AG/L)

VC	VD	R45°C	R55°C	VD65	R65°C
8666.7	3722.2	3722.2	3333.3	3055.6	2500
9888.9	3777.8	3611.1	3388.9	2055.6	2111.1
7833.3	3722.2	4166.7	3277.8	2388.9	2277.8
7944.4	3055.6	3277.8	2888.9	2111.	2111.1
8666.7	3833.3	3666.7	3222.2	2388.9	2333.3
7166.7	3111.1	3444.4	2888.9	2222.2	1777.8
7611.1	3722.2	3833.3	3555.6	2333.3	2277.8
8055.6	3888.9	4277.8	4000	2333.3	2111.1
8611.1	3666.7	3333.3	3666.7	2666.7	2388.9
8722.2	3666.7	3000	3611.1	2000	1777.8
8333.3	2777.8	3055.6	2555.6	1944.4	1722.2

Tabla A2-14. Datos de las isoterma de adsorción

Concentración (mg/L)	q experimental	q Langmuir	q Freundlich	q D-R
254.54	12.17	13.42	13.54	9.56
527.27	24.64	26.40	25.65	38.18
709.10	39.24	34.34	33.27	46.10
936.37	48.08	43.57	42.47	50.92
1663.6	67.42	68.80	70.34	55.80
2300	84.50	86.67	93.48	56.94

Tabla A2-15. Datos de la correlación número de etapas y masa de carbón activado

Relación a=L/M	Masa de carbón activado (g)	Número de etapas
7.142	7	3
10	5	4
16.67	3	5
25	2	6
33.33	1.5	8
50	1	10
66.67	0.75	12
100	0.5	17

A2.12.1. Linealidad del sistema de medición

En el análisis químico, la linealidad de la curva de calibración es un requisito fundamental. Generalmente no se cuantifica, pero se puede justificar mediante la pendiente (m), la ordenada al origen (b) y el coeficiente de determinación (r^2), tomando como criterio de aceptación $r^2 > 0.98$. Para tener una buena exactitud y confiabilidad estadística, se utiliza el método de mínimos cuadrados para encontrar los parámetros de la curva de calibración. Este método se fundamenta en que la suma de los cuadrados de las distancias verticales entre cada punto experimental y la recta de calibrado tiende a cero. De este método se han derivado expresiones matemáticas que permiten calcular la pendiente, la ordenada al origen y el coeficiente de determinación, las cuales corresponden a las ecuaciones A1-1, 2 y 3, respectivamente (Dosal y Villanueva, 2008).

Pendiente

$$m = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad \text{Ecuación A-1}$$

Ordenada al origen

$$b = \frac{\sum y - m \sum x}{n} \quad \text{Ecuación A-2}$$

Coficiente de regresión

$$r^2 = \frac{[(n \sum xy) - (\sum x \sum y)]^2}{[n \sum x^2 - (\sum x)^2][n \sum y^2 - (\sum y)^2]} \quad \text{Ecuación A-3}$$

La curva de calibración para la cuantificación de polifenoles se replicó cinco veces, cada una por duplicado. Los resultados de absorbancia obtenidos se presentan en la Tabla A2-15.

Tabla A2-16. Absorbancias de ácido gálico. Curvas de calibración

Concentración (mg/L)	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 4	Curva 5
5	0.001	0.002	0.002	0.001	0.006
10	0.004	0.003	0.008	0.004	0.008
15	0.01	0.011	0.013	0.014	0.014
25	0.018	0.019	0.031	0.024	0.036
35	0.026	0.027	0.045	0.033	0.049
50	0.039	0.041	0.055	0.052	0.071

Los datos de absorbancia se promediaron para cada curva de calibración, y a su vez, se obtuvo un promedio global para cada concentración específica de ácido gálico. Los resultados se presentan en la Tabla A2-16.

Tabla A2-17. Datos de la curva de calibración de ácido gálico

Concentración (mg/L)	Absorbancia a 765 nm
5	0.0033
10	0.0076
15	0.0133
25	0.026
35	0.0356
50	0.0506

A partir de los datos de absorbancia (variable y) obtenidos en función de la concentración ácido gálico (variable x) fue posible obtener las siguientes expresiones matemáticas empleando una hoja de cálculo de Excel.

Suma del producto concentración y absorbancia $\sum xy = 4.718$ Ecuación A1-4

Suma de las concentraciones $\sum x = 140$ Ecuación A1-5

Suma del cuadrado de las concentraciones $\sum x^2 = 4700$ Ecuación A1-6

Suma de las absorbancias $\sum y = 0.1364$ Ecuación A1-7

Suma del cuadrado de las absorbancias $\sum y^2 = 0.004749$ Ecuación A1-8

Sustituyendo estos valores en las ecuaciones A1-4 a 8, se determina el valor de la pendiente, la ordenada al origen y el coeficiente de determinación.

$$m = \frac{6 \times 4.718 - 140 \times 0.1364}{6 \times 4700 - (140)^2} = 0.001071$$

$$b = \frac{0.1364 - 0.001071 \times 140}{6} = -0.0023$$

$$r^2 = \frac{[(6 \times 4.718) - (140 \times 0.1364)]^2}{[6 \times 4700 - (140)^2][6 \times 0.004749 - (0.1364)^2]} = 0.997$$

Dichos valores son semejantes a los que se obtienen directamente de la regresión en Excel, tal como se observa en la curva de calibración (Figura A2-16).

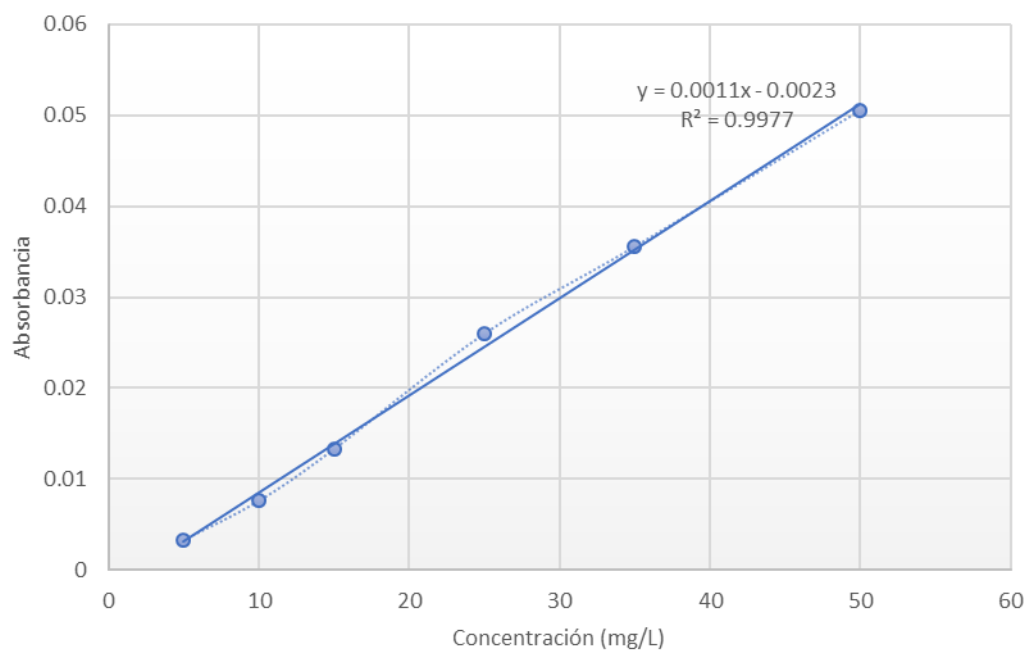


Figura A2-2. Curva de calibración de ácido gálico (polifenoles)

Análisis estadísticos

A2.13. Análisis estadístico para los datos de temperatura

En la Figura A2-3 se muestra el análisis de varianza para los datos de temperatura. Los reactores presentan diferencias significativas en sus temperaturas, lo que indica que efectivamente operan a temperaturas diferentes. En el caso de la vinaza cruda y las vinazas de alimentación (VD y VD65) no existen diferencias significativas en su temperatura.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
R45°C	160	A
R55°C	164	B
R65°C	157	C
VD65	138	D
VD	160	D
VC	134	D

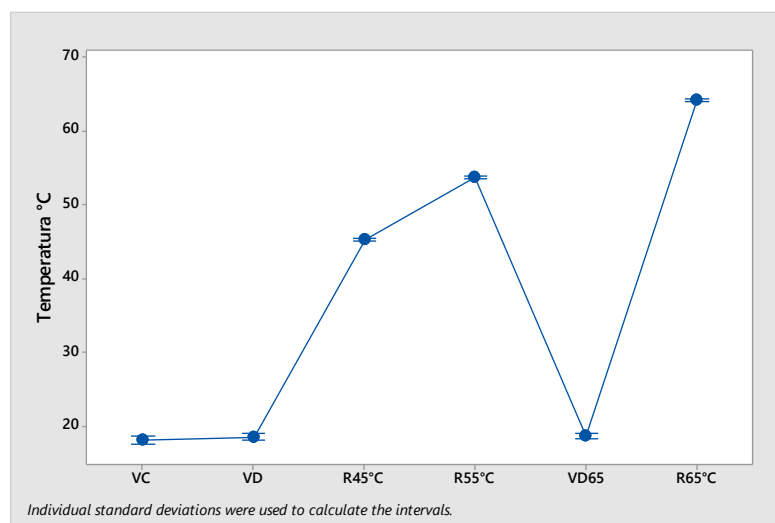


Figura A2-3. Análisis de varianza para los datos de temperatura

A2.14. Análisis estadístico para los datos de pH

En la Figura A2-4 se presenta el análisis de varianza para los datos de pH. Para cada reactor existen diferencias significativas en el pH de su efluente. El reactor de 55°C presentó los mayores valores de pH, mientras que la vinaza cruda fue quien presentó los valores más bajos. En el caso de la vinaza cruda y la vinaza diluida, no existen diferencias significativas en los valores de pH, no obstante, para la vinaza diluida del reactor de 65°C, estas diferencias si son significativas.

A2.15. Análisis estadístico para los datos de conductividad eléctrica

En la Figura A2-5 se encuentra el análisis de varianza de los datos de conductividad eléctrica. Para los tres reactores existen diferencias significativas en la conductividad de los efluentes en comparación con sus respectivos influentes. La CE de los reactores de 45 y 55°C es semejante y no existen diferencias significativas entre ellos. La vinaza cruda posee los valores más elevados de conductividad eléctrica, mientras que la vinaza diluida del reactor de 65°C presenta los más bajos.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
R45°C	139	A
R55°C	141	B
R65°C	156	C
VD65	132	D
VD	128	E
VC	142	E

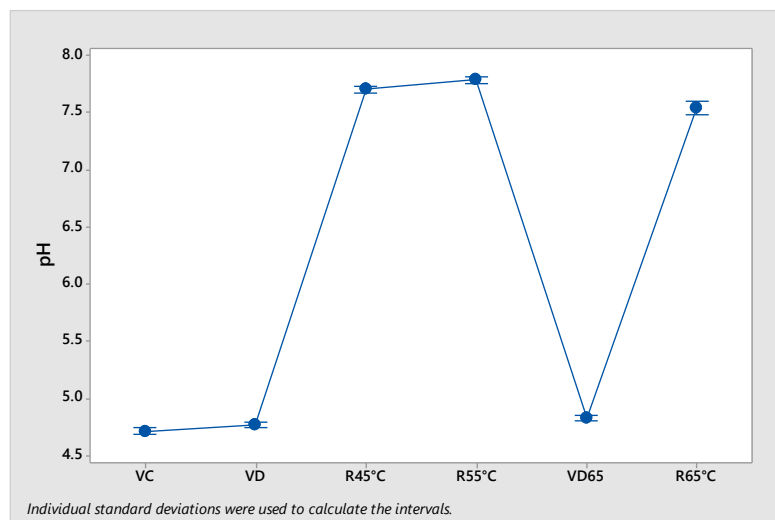


Figura A2-4. Análisis de varianza para los datos de pH

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
VC	144	A
R45°C	158	B
R55°C	160	B
VD	112	C
R65°C	155	D
VD65	149	E

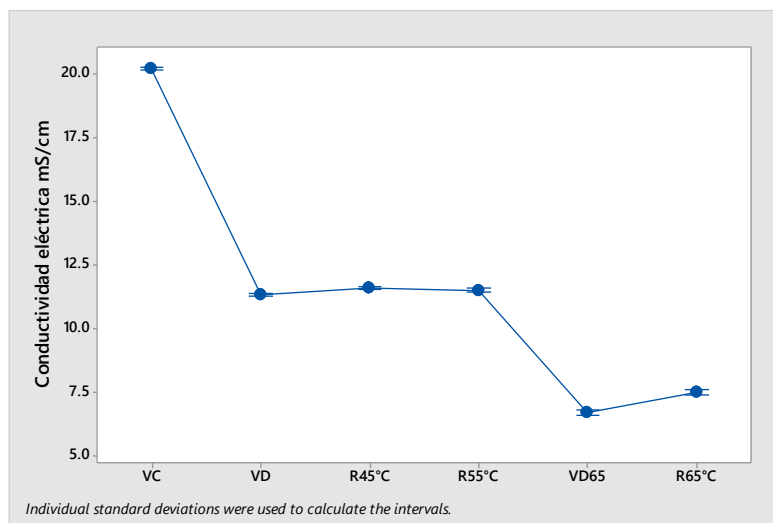


Figura A2-5. Análisis de varianza para los datos de conductividad eléctrica

A2.16. Análisis estadístico para los datos de alcalinidad

En la Figura A2-6 se presenta el análisis de varianza para los datos de alcalinidad. Al comparar los tres reactores, existen diferencias significativas en sus valores de alcalinidad, de igual forma sucede al comparar los efluentes con sus respectivos influentes. De este modo la transformación anaerobia aumenta la capacidad de amortiguamiento de los efluentes, posiblemente debido a los iones carbonato y bicarbonato que se producen en el tratamiento anaerobio.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
R45°C	139	A
R55°C	133	B
R65°C	107	C
VC	118	D
VD	112	E
VD65	119	F

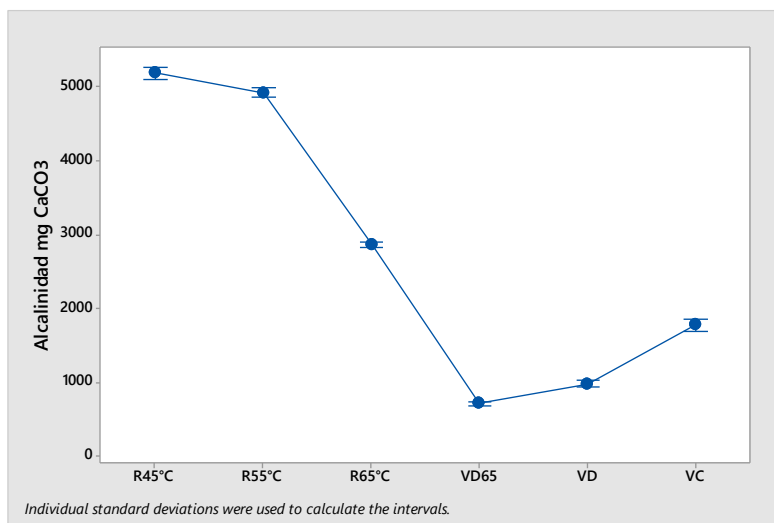


Figura A2-6. Análisis de varianza para los datos de alcalinidad

A2.17. Análisis estadístico para los datos del factor de alcalinidad

En la Figura A2-7 se muestra el análisis de varianza para los datos del factor de alcalinidad. Se observa que en el caso de los reactores de 45 y 55°C no existen diferencias significativas entre ellos, sin embargo, en el caso del reactor de 65°C si existen diferencias significativas presentando valores muy altos para el factor de alcalinidad.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
R65°C	129	A
R45°C	120	B
R55°C	136	B

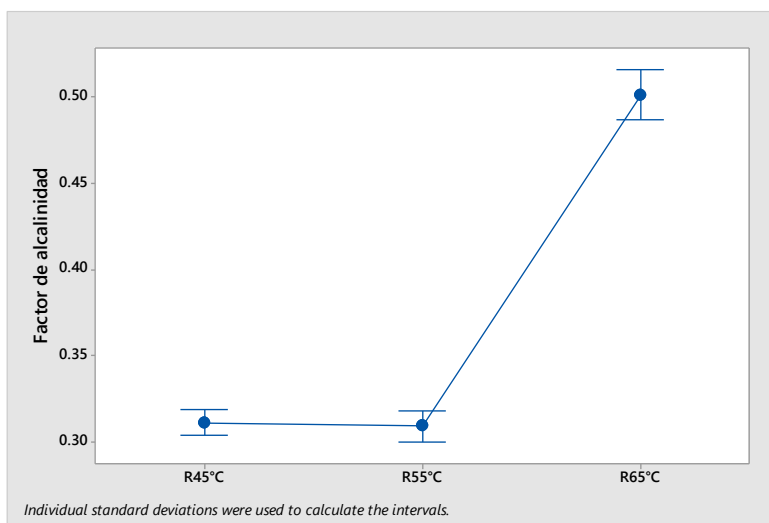


Figura A2-7. Análisis de varianza para los datos de factor de alcalinidad

A2.18. Análisis estadístico para los datos de DQO

En la Figura A2-8 se encuentra el análisis de varianza para los datos de DQO. En ellos se observa que si existen diferencias significativas en los valores de DQO de los efluentes comparados con los de sus respectivos influentes. La vinaza cruda es quién posee los valores más altos de DQO, mientras que el reactor

de 55°C es quién posee los valores más bajos. En el caso de los reactores de 45 y 55°C, la DQO de sus efluentes es muy similar y no presentan diferencias significativas entre ellos.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
VC	39	A
VD	36	B
VD65	38	C
R55°C	39	C D
R45°C	38	D
R65°C	36	E

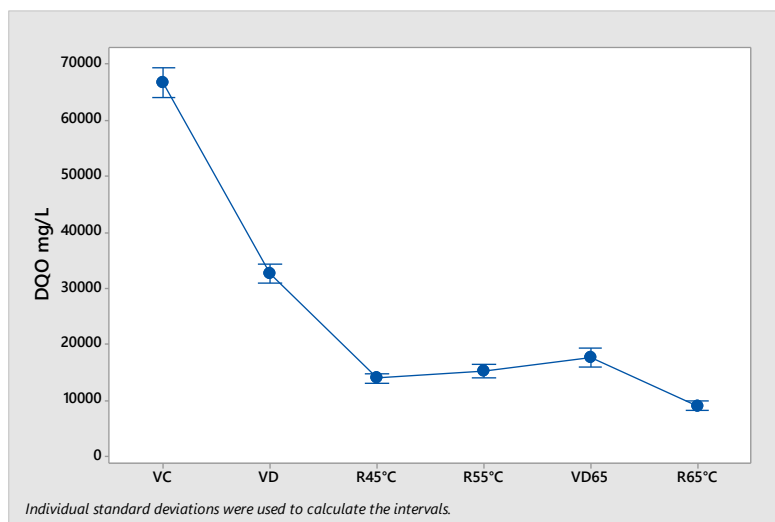


Figura A2-8. Análisis de varianza para los datos de DQO

A2.19. Análisis estadístico para los datos de sulfatos

En la Figura A2-9 se encuentra el análisis de varianza para los datos de sulfatos. Para el caso de los reactores de 45 y 55°C, presentan valores semejantes de sulfatos en sus efluentes, y no existen diferencias significativas entre ellos, pero sí existen al compararlos con la vinaza diluida de alimentación. La vinaza cruda presenta los valores más altos de sulfatos, mientras que el efluente del reactor de 65°C presenta los más bajos.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
VC	37	A
VD	37	B
R45°C	36	C
R55°C	35	C
VD65	32	D
R65°C	34	D

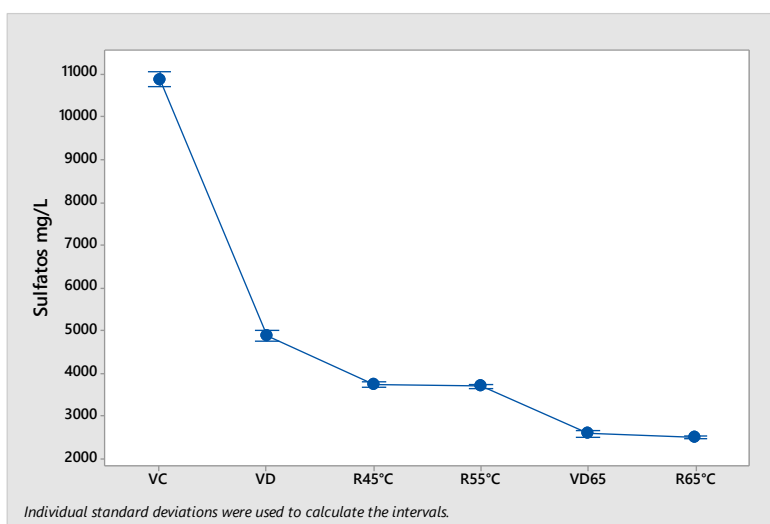


Figura A2-9. Análisis de varianza para los datos de sulfatos

A2.20. Análisis estadístico para los datos de sulfuros

En la Figura A2-10 se encuentra el análisis de varianza para los datos de sulfuros. En ellos se observa que los tres reactores presentan diferencias significativas al comparar la concentración de sulfuros en los efluentes y en sus respectivos influentes. La concentración de sulfuros en los reactores de 45 y 55°C es semejante y no existen diferencias significativas entre ellos.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
R55°C	28	A
R45°C	28	A
VC	26	A B
VD	28	B C
R65°C	24	C
VD65	20	D

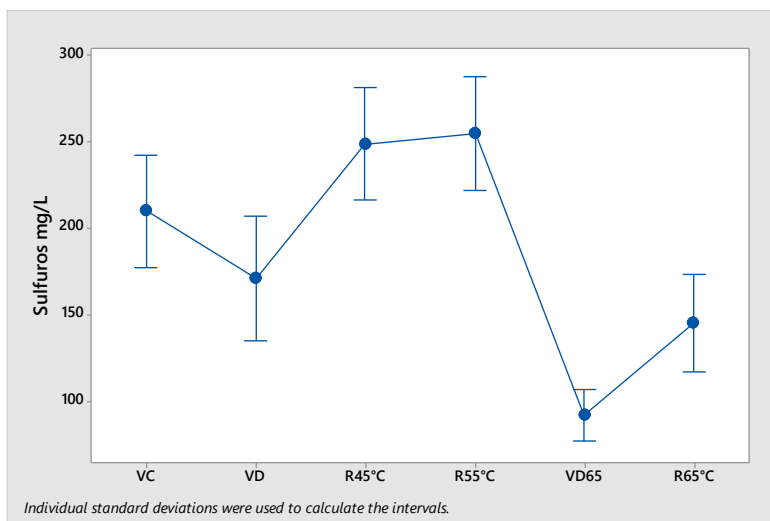


Figura A2-10. Análisis de varianza para los datos de sulfuros

A2.21. Análisis estadístico para los datos de la producción de biogás

En la Figura A2-11 se muestra el análisis de varianza para los datos de la producción de biogás. En el caso de los reactores de 45 y 55°C no existen diferencias significativas en su producción, por lo tanto, se puede suponer que producen la misma cantidad de biogás. En el caso del reactor de 65°C la producción es menor por lo que sí existen diferencias significativas al compararlo con los otros dos reactores.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
R45°C	25	A
R55°C	25	A
R65°C	23	B

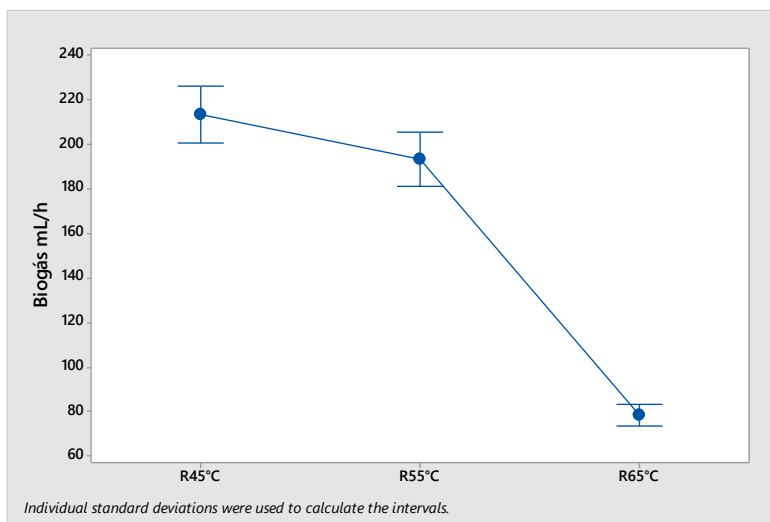


Figura A2-11. Análisis de varianza para los datos de biogás

A2.22. Análisis estadístico para los datos de fósforo total

En la Figura A2-12 se encuentra el análisis estadístico para los datos de fósforo total. Prácticamente no existen diferencias significativas en la concentración de fósforo de los efluentes ni de los influentes.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
VC	3	A
R55°C	3	A
R45°C	3	A
VD	3	A
R65°C	3	A
VD65	3	A

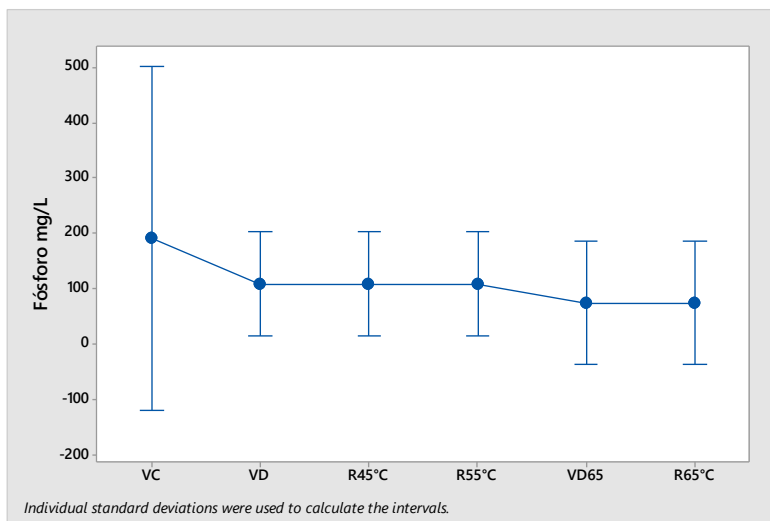


Figura A2-12. Análisis de varianza para los datos de fósforo total

A2.23. Análisis estadístico para los datos de ortofosfatos

En la Figura A2-13 se presenta el análisis de varianza para los datos de concentración de ortofosfatos. Se observa que no existen diferencias significativas en la concentración de ortofosfatos en los efluentes comparándolos con su respectivos influentes. Por lo tanto, no existe remoción de ortofosfatos en la transformación bioquímica anaerobia llevada a cabo en los reactores tipo RALLFA.

Grouping Information Using the Games-Howell Method and 95% Confidence

Factor	N	Grouping
VC	6	A
VD	5	B
R55°C	6	B C
R45°C	5	B C D
VD65	6	C D
R65°C	6	D

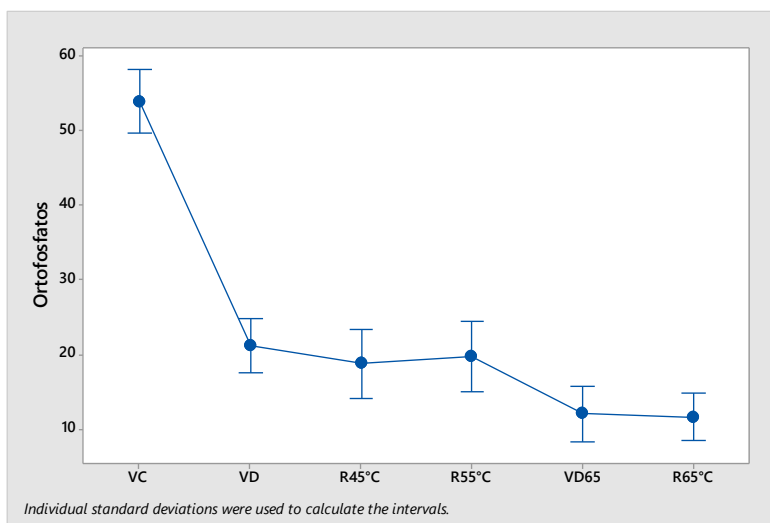


Figura A2-13. Análisis de varianza para los datos de ortofosfatos

Anexo 3. Acervo fotográfico

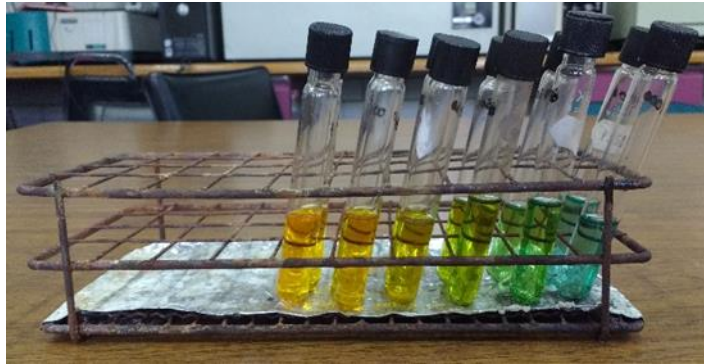


Figura A3-1. Determinación de la curva de calibración de la DQO



Figura A3-2. Equipo HACH para la determinación de la DBO_5



Figura A3-3. Sistema de cuantificación de biogás



Figura A3-4. Sólidos totales

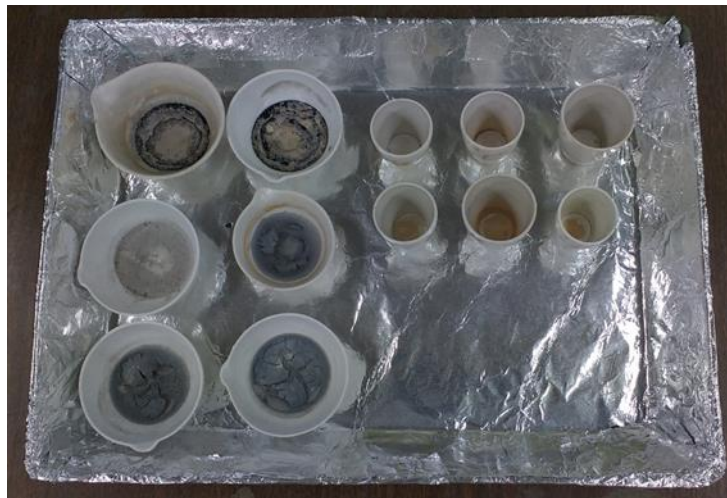


Figura A3-5. Sólidos totales volátiles y sólidos suspendidos volátiles



Figura A3-6. Sólidos suspendidos totales



Figura A3-7. Muestras de la curva de calibración de fósforo



Figura A3-8. Determinación de sulfatos en los influentes y efluentes de vinaza

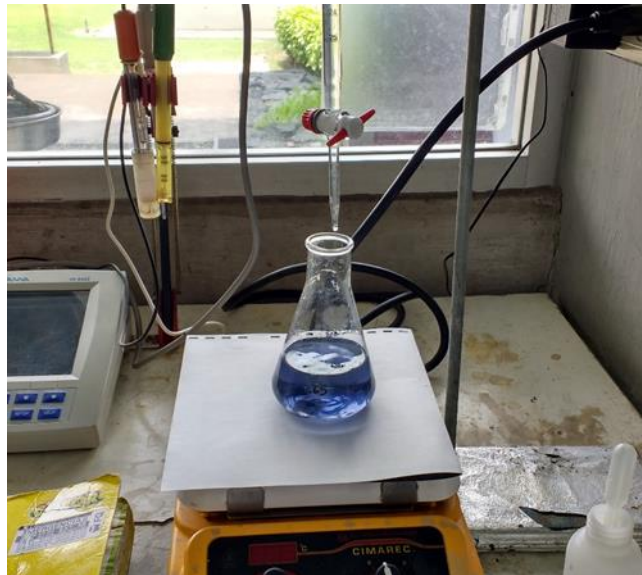


Figura A3-9. Titulación, prueba de sulfuros



Figura A3-10. Mantenimiento preventivo y correctivo en el reactor de 65°C



Figura A3-11. Adsorción de polifenoles con carbón activado



Figura A3-12. Cambio de coloración de los efluentes después de remover los polifenoles

Anexo 4. Disposición controlada de los residuos producidos en esta investigación

En el desarrollo de la investigación se generaron diversos residuos que pueden afectar el agua, suelo, aire, y a los seres vivos que habitan en dichos ecosistemas. La mayoría de los residuos generados provienen de técnicas analíticas, las cuales se presentan a continuación:

A4.1. Demanda química de oxígeno

El mayor inconveniente que presenta esta técnica es que produce residuos con alto contenido de plata, mercurio y cromo hexavalente. Estos compuestos son altamente tóxicos y costosos. La plata es uno de los elementos más nocivos para la comunidad microbiana y los invertebrados que viven en los ecosistemas acuáticos. En suelos se ha observado que la presencia de nanopartículas de plata reduce los indicadores de actividad enzimática sensiblemente (Jain y Pradeep, 2005). El mercurio inorgánico es altamente tóxico. Es mortal si se ingiere o inhalada, y además puede ser absorbido a través de la piel. Su presencia en aguas residuales afecta a los organismos acuáticos y genera efectos nocivos duraderos en el ecosistema. El mercurio es bioacumulado y se distribuye en los organismos a través de la cadena trófica (Cheremisinoff y Habib, 1972). Por su parte, el cromo hexavalente es un agente cancerígeno, y en los humanos puede causar daños en el hígado, problemas reproductivos y trastornos gastro-intestinales. El cromo presente en suelo puede ser lixiviado y contaminar mantos acuíferos (Oliveira, 2012).

En el desarrollo del proyecto de investigación, mensualmente se produjeron 1 L de residuos de DQO. Estos residuos se recolectaron y almacenaron en envases de plástico debidamente etiquetados. Posteriormente se entregaron durante las colectas de residuos a la Facultad de Química de la UNAM, quién se encargó de disponer de ellos.

A4.2. Sulfatos

En un principio la presencia de sulfatos, por sí misma en aguas residuales es inofensiva, no obstante, puede acarrear graves perjuicios si son vertidos en receptores, principalmente contaminados por materia orgánica, propiciándose la reducción de sulfatos a sulfuros, ocasionando perjuicios al medio receptor tales como olores, corrosión y toxicidad. Los residuos provenientes de esta técnica contienen compuestos tales como cloruro de bario, cloruro de magnesio, nitrato de potasio y nitrato de sodio. El cloruro de bario tiene efectos sobre el sistema nervioso central y el sistema muscular, dando lugar a arritmias y parálisis cardíacas. Es muy soluble en agua, y al entrar en ecosistemas acuáticos con presencia de sulfatos o carbonatos, reacciona formando compuestos poco biodegradables como el sulfato de bario y el carbonato de bario. Estos compuestos pueden ser encontrados tanto en aguas como en suelos (Adams, 2014). El cloruro de magnesio es un compuesto iónico que se disocia en el agua en forma de iones magnesio y cloruro. Estos iones son nutrientes esenciales importantes para el crecimiento normal de las plantas, sin embargo, en concentraciones elevadas pueden ser perjudiciales para el desarrollo de estas, debido a que impiden que la planta pueda acumular correctamente los nutrientes de suelo y el agua (Li, y col., 2004). Los nitratos de potasio y sodio son una fuente soluble de nutrientes esenciales muy importantes para las plantas, no obstante, en concentraciones elevadas en cuerpos de agua favorecen la eutrofización. Los residuos de provenientes de la determinación de sulfatos, al igual que sucedió con los de DQO, se almacenaron en recipientes debidamente etiquetados, y posteriormente se entregaron en las colectas de residuos a la Facultad de Química. La Facultad se encargó de evaluar el tratamiento o disposición final de estos residuos.

A4.3. Sulfuros

Los efluentes producidos por medio de esta técnica contienen yoduro de potasio, tiosulfato de sodio y azufre. Los residuos de yoduro de potasio están exentos de tolerancia máxima permitida en las descargas cuando se utilizan de acuerdo con las buenas prácticas de fabricación, sobre todo en la industria farmacéutica, pero existe la posibilidad de que en el ambiente este compuesto pueda degradarse a otros más persistentes (Heberer, 2002). El tiosulfato de sodio puede descomponerse por la acción del calor a temperaturas mayores de 45°C y en presencia de nitritos existe riesgo de explosión. En ambientes ácidos puede producir la formación de sustancias peligrosas como los óxidos de azufre (Kelly y col., 1997). El azufre elemental en ecosistemas acuáticos resulta perjudicial para muchos organismos, tales como peces, bacterias, y especies vegetales (Pardos y col. 1999).

Los residuos generados a partir esta técnica se neutralizaron con hidróxido de sodio, se depositaron en un envase de plástico etiquetados, y posteriormente pasan a manos de la facultad de química en las colectas de residuos.

A4.4. Fósforo y ortofosfatos

Los residuos provenientes de esta técnica contienen principalmente cloruro estanoso y molibdato de amonio. El cloruro estanoso es absorbido fácilmente por los leucocitos humanos y puede causar daño al ADN, sin embargo, es utilizado como conservante químico en medicamentos y alimentos (Dantas, y col., 1999). El molibdato de amonio es un agente cancerígeno, y su presencia en cuerpos de agua perjudica a los organismos acuáticos (Abbott, 1977).

Los residuos provenientes de esta técnica se almacenaron en un envase de plástico etiquetados, y en las colectas de residuos se entregaron a la Facultad de Química.

A4.5. Biogás

El biogás producido en los reactores tipo RALLFA puede ser almacenado en recipientes de 20 L. El biogás al salir de los reactores pasa a una solución de cloruro de sodio en la que el dióxido de carbono se disuelve, posteriormente el efluente compuesto en su mayoría por metano pasa al recipiente de almacenamiento donde desplaza una solución líquida que permite cuantificar su volumen. Una vez llenado el recipiente, el metano se puede llevar a combustión en presencia del oxígeno del aire. Durante la combustión el metano se transforma en dióxido de carbono y agua, liberados a la atmósfera.

A4.6. Polifenoles

Los residuos provenientes de esta técnica contienen reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual puede contaminar el agua de acuerdo con su hoja de seguridad. También puede corroer las tuberías metálicas por lo que no debe ser vertido en las trajas. Estos residuos se almacenaron en envases de PEAD etiquetados y se entregaron a la Facultad de Química en las colectas de residuos.

Bibliografía

- Abalos, M., Bayona, J. M., Pawliszyn, J. 2000. Development of a headspace solid-phase microextraction procedure for the determination of free volatile fatty acids in waste waters. *Journal of Chromatography A*. 873(1):107-115.
- Abbott, O. J. 1977. The toxicity of ammonium molybdate to marine invertebrates. *Marine Pollution Bulletin*. 8(9):204-205.
- Adams, A. 2014. Analysis of Water Pollution in Gumel Local Government Area, Jigawa State, Nigeria. *Analysis*. 4(12):7-11.
- Addy, K., Green, L., Herron, E. 2004. pH and alkalinity. University of Rhode Island. Obtenido de: cels.uri.edu/docslink/ww/water-quality-factsheets/pH&alkalinity.pdf
- Adorno, M. A. T., Hirasawa, J. S., Varesche, M. B. A. 2014. Development and validation of two methods to quantify volatile acids (C2-C6) by GC/FID: headspace (automatic and manual) and liquid-liquid extraction (LLE). *American Journal of Analytical Chemistry*. 5(7):406-414.
- Ammary, B. Y. 2004. Nutrients requirements in biological industrial wastewater treatment. *African Journal of Biotechnology*. 3(4):236-238.
- Anónimo. 2017. Tesis de la Universidad de Sonora, Sonora, México. Consultado en abril del 2017. Obtenido de: tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/22284/Capitulo2.pdf
- Arimi, M. M., Zhang, Y., Götz, G., Kiriamiti, K., Geißen, S. U. 2014. Antimicrobial colorants in molasses distillery wastewater and their removal technologies. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 87(1):34-43.
- Arnáiz, C., Isac, L., Lebrato, J. 2000. Determinación de la biomasa en procesos biológicos. *Tecnología del agua. Artículos Técnicos*. 205:45-52.
- Baldiris, L. F., López, E., Castillo, J., Caicedo, L. D. 2012. Biodegradación de la vinaza de caña de azúcar con cepas de los hongos *Schizophyllum commune* y *Trichoderma viride*. *Ingenium*. 6(14):39-46.
- Bautista-Zúñiga, F., Reyna-Trujillo, T. J., Villers-Ruiz, L., Durán-de Bazúa, C., Rivas-Solórzano, H., Villatoro-Reséndiz, J., Krishnan-Padma, R. 2000. Mejoramiento de suelos agrícolas usando aguas residuales agroindustriales. Caso vinazas crudas y tratadas. Pub. UNAM-UAdY. 188 págs. Apéndice 5, 9 pp. Obtenido de: www.researchgate.net/publication/236954593_Mejoramiento_de_suelos_agricolas_usando_aguas_residuales_agroindustriales_Caso_vinazas_crudas_y_tratadas
- Bazúa, C. D. de, Cabrero, M. A., Poggi, H. M. 1991. Vinasses biological treatment, anaerobic-aerobic experiments. Laboratory and pilot plant tests. Part 1. *Bioresource Technol.* 35:87-93.
- Bazúa-Rueda, E. R., Bernal-González, M., Durán-de-Bazúa, C., Enríquez-Poy, M., Espinosa-Aquino, B., García-Gómez, R. S., Manahan, S. E., Ramírez-Burgos, L. I., Solís-Fuentes, J. A., Zedillo-Ponce-de-León, L. E. 2015. Red Internacional de Ciencias Ambientales. Una opción para proyectos interdisciplinarios: Producción termofílica de metano a partir de subproductos de destilación. Homenaje al Ing. Luis Eduardo Zedillo Ponce de León. *Revista ATAM*. 28(1):21-30. ISSN 2007-610X

Bernal-González, M., Poblano-Flores, A., Toscano-Pérez, D., Durán-de-Bazúa, C. 2012. Ahorro de energía: Uso de reactores anaerobios termofílicos para la obtención de metano a partir de vinazas de ingenios azucareros-alcoholeros. Efecto de la temperatura en el desempeño de las biocomunidades anaerobias. *Tecnología, Ciencia, Educación (IMIQ)*. 27(2): 75-88.

Buck, R. P., Rondinini, S., Covington, A. K., Baucke, F. G. K., Brett, C. M. A., Camões, M. F., Milton, M. J. T., Mussini, T., Nauman, R., Pratt, K. W., Spitzer, P., Wilson, G. S. 2002. Measurement of pH. Definition, standards, and procedures (IUPAC Recommendations 2002). *Pure and Applied Chemistry*. 74(11):2169-2200.

Caqueret, V. 2006. Conception d'un procédé multi-étapes d'obtention de la bétaine à partir de la filière bioéthanol (Doctoral dissertation, Orléans). Abstract. Obtenido de: www.theses.fr/2006ORLE2027

Caqueret, V., Bostyn, S., Cagnon, B., Fauduet, H. 2008. Purification of sugar beet vinasse-adsorption of polyphenolic and dark colored compounds on different commercial activated carbons. *Bioresource Technology*. 99(13):5814-5821.

Caqueret, V., Cagnon, B., Bostyn, S., Fauduet, H. 2012. Removal of dark coloured and polyphenolic compounds of sugar beet vinasse by adsorption onto activated carbons: Application to a crosscurrent adsorption process. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. 90(2):403-411.

Castro-González, A. 2004. Efecto de la temperatura en la actividad metanogénica y sulfatorreductora de consorcios microbianos en condiciones anaerobias. Tesis de Doctorado. Facultad de Química, UNAM. México, DF, México.

Castro-González, A., Enríquez-Poy, M., Durán-de-Bazúa, C. 2001. Design, construction, and starting-up of an anaerobic reactor for the stabilisation, handling, and disposal of excess biological sludge generated in a wastewater treatment plant. *Anaerobe (Biotechnology)*. 7(3):143-149.

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

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

Castro-González, A., Pliego-Bravo, Y., Durán-de-Bazúa, C. 1997. Tratamiento anaerobio de lodos de purga de una planta de lodos activados. *Tecnología, Ciencia, Educación (IMIQ)*. 12(1-2):10-25.

Cavinato, C. 2011. Anaerobic digestion fundamentals. I. Summer school on biogas technology for sustainable second-generation biofuel production. Obtenido de: www.valorgas.soton.ac.uk/Pub_docs/JyU%20SS%202011/CC%201.pdf

Chaux, D., Durán-de-Bazúa, C., Cordovés, M. 1997. Towards a cleaner and more profitable sugar industry. Pub. UNIDO. An information package on waste minimization and pollution abatement in the cane sugar industry. Libro derivado del Informe Final de Proyecto US/INT/91/217/15-01-2, ONUDI-GEPLACEA-UNAM. De este libro se produjeron dos volúmenes para difusión con la industria azucarera del mundo: Eds. Sergio Miranda-da-Cruz y Ralph Luken. United Nations Industrial Development Organization. Vol. 1, 82 pp. y Vol. 2, 40 pp. Viena, Austria.

Cheremisinoff, P. N., Habib, Y. H. 1972. Cadmium, chromium, lead, mercury: a plenary account for water pollution. Part I-Occurrence, toxicity and detection. *Water and Sewage Works*. 119:73-86.

CNIIAA. 2016. Cifras para la zafra 2014-2015. Cámara Nacional de las Industrias Azucarera y Alcohólica. Ciudad de México, México.

Cooney, D. O., Nagerl, A., Hines, A. L. 1983. Solvent regeneration of activated carbon. *Water Research*. 17(4):403-410.

Dantas, F. J., Moraes, M. O., de Mattos, J. C., Bezerra, R. J., Carvalho, E. F., Bernardo Filho, M., de Araujo, A. C. 1999. Stannous chloride mediates single strand breaks in plasmid DNA through reactive oxygen species formation. *Toxicology Letters*. 110(3):129-136.

de Aquino, S. F., Chernicharo C. A. 2005. Build up of volatile fatty acids (VFA) in anaerobic reactors under stress conditions: causes and control strategies. *Engenharia Sanitária e Ambiental*. 10(2):152-161.

Delgadillo-González, O. 2014. Seminario de Caramelización. Facultad de Química, UNAM, Ciudad de México, México. Obtenido de: depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Seminario-Caramelizacion_27353.pdf

Detor-Méndez, V. I., Hernández-Segoviano, E. 2012. Comportamiento de cuatro reactores anaerobios de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA) bajo diferentes temperaturas de operación 35, 45, 55 y 65°C. Tesis profesional. UNAM, FESC. Pp. 1-99. Cuautitlán, México.

DOF. 2016. NMX-AA-008-SCFI-2016. Análisis de agua - Medición del pH en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba, pp. 1-21. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2015. NMX-AA-034-SCFI-2015. Análisis de agua - Medición de sólidos y sales disueltas en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. Norma de análisis de agua, pp. 1-20. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2014. NMX-AA-074-SCFI-2014. Análisis de agua - Medición del ion sulfato en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. Norma de análisis de agua, pp. 1-13. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2013. NMX-AA-007-SCFI-2013. Medición de la temperatura en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. Norma Mexicana de Análisis de Agua. Pp. 1-23. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2011. NMX-AA-030/2-SCFI-2011. Determinación de la demanda química de oxígeno en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba: Tubo sellado a pequeña escala. Norma Mexicana de Análisis de Agua, pp. 1-41. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2009. Modificación del inciso 0, el encabezado de la Tabla 13, el último párrafo del Anexo B y el apartado Signo decimal de la Tabla 21 de la Norma Oficial Mexicana NOM-008-SCFI-2002. El signo decimal debe ser una coma sobre la línea (,) o un punto sobre la línea (.). Si la magnitud de un número es menor que la unidad, el signo decimal debe ser precedido por un cero. Sistema general de unidades de medida. Secretaría de Economía. Jueves 24 de septiembre de 2009 DIARIO OFICIAL (Primera Sección). Poder Ejecutivo Federal. Diario Oficial de la Federación. Ciudad de México. México.

DOF. 2005. PROY-NMX-AA-084-SCFI-2005. Análisis de agua - Determinación de sulfuros en aguas naturales y residuales - Método de prueba. Norma de análisis de agua, pp. 1-19. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2001a. NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis de agua. Determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO₅) y residuales tratadas. Método de prueba. Norma de análisis de agua, pp. 1-86. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2001b. NMX-AA-029-SCFI-2001. Análisis de aguas - Determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas - Método de prueba. Norma de análisis de agua, pp. 1-21. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 2001c. NMX-AA-036-SCFI-2001. Análisis de agua. Determinación de acidez y alcalinidad en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Método de prueba. Norma Mexicana de Análisis de Agua, pp. 1-22. Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

DOF. 1996-98. Normas oficiales mexicanas sobre los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales: en aguas y bienes nacionales (NOM-001-SEMARNAT-1996, 06/ENE/97), a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal (NOM-002-SEMARNAT-1996, 03/JUN/98), tratadas que se reutilicen en servicios al público (NOM-003-SEMARNAT-1997). Dirección General de Normas, Poder Ejecutivo Federal. Estados Unidos Mexicanos.

Dosal, M. A., Villanueva, M. 2008. Introducción a la Metrología Química: Curvas de calibración en los métodos analíticos. Antología De Química Analítica Experimental. Pp. 18-25.

Duarte-Almeida, J. M., Novoa, A. V., Linares, A. F., Lajolo, F. M., Genovese, M. I. 2006. Antioxidant activity of phenolics compounds from sugar cane (*Saccharum officinarum* L.) juice. *Plant Foods for Human Nutrition*. 61(4):187-192.

Duda-Chodak, A., Tarko, T., Satora, P., Sroka, P. 2015. Interaction of dietary compounds, especially polyphenols, with the intestinal microbiota: A review. *European Journal of Nutrition*. 54(3):325-341.

Durán-de-Bazúa, M. C. 1994. Libro para cursos sobre Tratamiento Biológico de Aguas Residuales de la Industria Química y de Proceso (40 horas). Pub. Programa de Ingeniería Química Ambiental y de Química Ambiental, Facultad de Química, UNAM. Quinta edición. Junio. México D.F., México

Durán-Domínguez-de-Bazúa, M. C. 2011. Artificial Wetlands: Pre-Columbian Inheritance for the Depuration of Polluted Water. Applications to the Sugarcane and Ethyl Alcohol Industry / Humedales artificiales: Herencia prehispánica para la depuración de aguas contaminadas. Aplicaciones a la industria azucarera-alcoholera. *Sugar Journal*. 74(7):10-21. <http://www.SugarJournal.com>.

Encarta, E. 2009. Biblioteca Premium. Microsoft® Encarta, 1993-2008.

España-Gamboa, E., Mijangos-Cortes, J., Barahona-Perez, L., Dominguez-Maldonado, J., Hernández-Zarate, G., Alzate-Gaviria, L. 2011. Vinasses: characterization and treatments. *Waste Management & Research*. 29(12):1235-1250.

España-Gamboa, E., Vicent, T., Font, X., Dominguez-Maldonado, J., Canto-Canché, B., Alzate-Gaviria, L. 2017. Pretreatment of vinasse from the sugar refinery industry under non-sterile conditions by *Trametes versicolor* in a fluidized bed bioreactor and its effect when coupled to an UASB reactor. *Journal of Biological Engineering*. 11(1):1-11.

- FAO. 1997. Renewable biological systems for alternative sustainable energy production. Osaka, Japón. (Diciembre 11 de 2018). Obtenido de: www.fao.org/docrep/w7241e/w7241e0f.htm
- FAO. 2011. Manual de biogás. Global Environment Facility. Santiago de Chile, Chile. (Abril 15 de 2017). Obtenido de: www.minenergia.cl/biogaslechero/wp-content/uploads/2015/12/as400s.pdf
- FAO. 2013. Wastewater characteristics and effluent quality parameters. Natural Resources Management and Environment Department. (Abril 2 de 2017). Obtenido de: www.fao.org/docrep/t0551e/t0551e03.html.
- Fernandes, F. H., Batista, R. S. D. A., Medeiros, F. D. D., Santos, F. S., Medeiros, A. C. 2015. Development of a rapid and simple HPLC-UV method for determination of gallic acid in *Schinopsis brasiliensis*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 25(3):208-211.
- Fischer, U. A., Carle, R., Kammerer, D. R. 2011. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum*) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MS n. Food Chemistry. 127(2):807-821.
- García, C., Gortáres, P., Drogui, P. 2011. Tratamientos biológicos y de oxidación avanzada combinados para una solución a la biotecnología ambiental. Ideas CONCYTEG. 71:585-605.
- García, I. G., Venceslada, J. B., Peña, P. J., Gómez, E. R. 1997. Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*. Water Research. 31(8):2005-2011.
- Geankoplis, C. J. 2006. Procesos de transporte y principios de procesos de separación. Grupo Patria Cultural. Ciudad de México, México.
- Godshall, M. A. 1996. Recent progress in sugar colorants. In Proceedings of the 1996 Conference on Sugar Processing Research. Pp. 262-305. Sugar Processing Research Institute. Nueva Orleans, LA, EE.UU.
- Harada, H., Uemura, S., Momono, K. 1994. Interaction between sulfate-reducing bacteria and methane-producing bacteria in UASB reactors fed with low strength wastes containing different levels of sulfate. Water Research. 28(2):355-367.
- Hardman, W. E. 2014. Diet components can suppress inflammation and reduce cancer risk. Nutrition research and practice. 8(3):233-240.
- Harriott, P., McCabe, W. L., Smith, J. C. 1991. Operaciones unitarias en ingeniería química. McGraw-Hill. Nueva York, EE. UU.
- Heberer, T. 2002. Occurrence, fate, and removal of pharmaceutical residues in the aquatic environment: a review of recent research data. Toxicology Letters. 131(1):5-17.
- Hernández, F. J., Valencia, A., Toledo, J. 2013. El sector cañero en Nayarit desde una perspectiva organizacional y ambiental. Universidad Autónoma de Nayarit. Tepic, Nayarit, México. Obtenido de: www.eumed.net/libros-gratis/2013a/1333/1333.pdf
- Hill, D. T., Cobb, S. A., Bolte, J. P. 1987. Using volatile fatty acid relationships to predict anaerobic digester failure. T. Asabe. 30(1):496-501.
- Howarth, R. W., Santoro, R., Ingraffea, A. 2011. Methane and the greenhouse-gas footprint of natural gas from shale formations. Climatic Change. 106(4):679-690.

- Jain, P., Pradeep, T. 2005. Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter. *Biotechnology and Bioengineering*. 90(1):59-63.
- Jenkins, S. R., Morgan, J. M., Zhang, X. 1991. Measuring the usable carbonate alkalinity of operating anaerobic digesters. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*. 63(1):28-34.
- Jiménez, A. M., Borja, R., Martín, A., Raposo, F. 2006. Kinetic analysis of the anaerobic digestion of untreated vinasses and vinasses previously treated with *Penicillium decumbens*. *Journal of Environmental Management*. 80(4):303-310.
- Kaksonen, A. H., Plumb, J. J., Robertson, W. J., Spring, S., Schumann, P., Franzmann, P. D., Puhakka, J. A. 2006. Novel thermophilic sulfate-reducing bacteria from a geothermally active underground mine in Japan. *Applied and Environmental Microbiology*. 72(5):3759-3762.
- Kelly, D. P., Shergill, J. K., Lu, W. P., Wood, A. P. 1997. Oxidative metabolism of inorganic sulfur compounds by bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 71(1):95-107.
- Körbahti, B. K., Tanyolaç, A. 2003. Continuous electrochemical treatment of phenolic wastewater in a tubular reactor. *Water Research*. 37(7):1505-1514.
- Koschorreck, M. 2008. Microbial sulphate reduction at a low pH. *FEMS Microbiology Ecology*. 64(3):329-342.
- Leeuwenhoek, A. 1995. Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Journal of Microbiology*. 67(1):3-28.
- Lens, P. N. L., Visser, A., Janssen, A. J. H., Pol, L. H., Lettinga, G. 1998. Biotechnological treatment of sulfate-rich wastewaters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 28(1):41-88.
- Li, H. Y., Li, T. Y., Teng, M. Y., Xu, Q. L., Zhang, S., Jin, Y. M., Zuo, J. L. 2014. Syntheses, photoluminescence and electroluminescence of four heteroleptic iridium complexes with 2-(5-phenyl-1, 3, 4-oxadiazol-2-yl)-phenol derivatives as ancillary ligands. *Journal of Materials Chemistry C*. 2(6):1116-1124.
- Lima, A. O., Rodríguez, R. 2014. Use of sugar cane vinasse as substrate for biosurfactant production using *Bacillus subtilis* PC. *Chemical Engineering Transactions*. 37(2):673-678.
- López-López, A., León-Becerril, E., Rosales-Contreras, M. E., Villegas-García, E. 2015. Influence of alkalinity and VFAs on the performance of an UASB reactor with recirculation for the treatment of Tequila vinasses. *Environmental Technology*. 36(19):2468-2476.
- Manyi-Loh, C. E., Mamphweli, S. N., Meyer, E. L., Okoh, A. I., Makaka, G., Simon, M. 2013. Microbial anaerobic digestion (bio-digesters) as an approach to the decontamination of animal wastes in pollution control and the generation of renewable energy. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 10(9):4390-4417.
- Marín, L., Miguélez, E. M., Villar, C. J., Lombó, F. 2015. Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMed Research International*. 2015:1-18.
- Marsal, A., Maldonado, F., Cuadros, S., Bautista, M. E., Manich, A. M. 2012. Adsorption isotherm, thermodynamic and kinetics studies of polyphenols onto tannery shavings. *Chemical Engineering Journal*. 183:21-29.

Mata-Alvarez, J. 2002. Biomethanization of the organic fraction of municipal solid wastes. IWA publishing. Barcelona, España.

Melamane, X. L., Strong, P. J., Burgess, J. E. 2007. Treatment of wine distillery wastewater: A review with emphasis on anaerobic membrane reactors. *South African Journal for Enology and Viticulture*. 28(1):25-36.

MNCN. 2010. Determinación colorimétrica de fenoles en agua por el método de a 4aminoantipirina. (Mayo 18 de 2017). Obtenido de:
www.mncn.csic.es/docs/repositorio//es_ES//investigacion/cromatografia/fenoles_por_colorimetria.pdf

Michelena-Álvarez, G. L. 2018. Alternativas en el tratamiento de vinazas de destilerías de alcohol. Conferencia magistral. UNAM, Facultad de Química. Ciudad de México, México.

Morales-Téllez, M., Ayala-Tirado, R. C., Solís-Fuentes, J. A. 2012. Agroindustrial residues to produce activated carbon, a potentially useful project for energy savings. Instituto de Ciencias Básicas, Universidad Veracruzana, México; María del Carmen Durán-Domínguez-de-Bazúa, Facultad de Química, UNAM, México. VII Minisimposium Internacional sobre Remoción de Contaminantes de Agua, Atmósfera y Suelo. Septiembre 12-15, 2012. Xalapa de Enríquez, Veracruz, México.

Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., de la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., Álvarez-Parrilla, E. 2017. Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 20(2):23-28.

Muyzer, G., Stams, A. J. 2008. The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria. *Nature Reviews Microbiology*. 6(6):441-454.

Myers, D. V., Howell, J. C. 1992. Characterization and specifications of caramel colours: An overview. *Food and Chemical Toxicology*. 30(5):359-363.

Nakamura, K., Ishiyama, K., Sheng, H., Ikai, H., Kanno, T., Niwano, Y. 2015. Bactericidal activity and mechanism of photoirradiated polyphenols against gram-positive and-negative bacteria. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(35):7707-7713.

Nasr, F. A., Badr, N. M., Doma, H. S. 2006. Flavour industry wastewater management case study. *Environmentalist*. 26(1):31-39.

Oliveira, H. 2012. Chromium as an environmental pollutant: insights on induced plant toxicity. *Journal of Botany*. 2012:1-8.

Ostrem, K., Themelis, N. J. 2004. Greening waste: Anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes. Earth Engineering Center Columbia University. Pp. 6-9.

Padilla-Gasca, E., López-López, A., Gallardo-Valdez, J. 2011. Evaluation of stability factors in the anaerobic treatment of slaughterhouse wastewater. *J. Bioremed. Biodegrad.* 2(1):1000114. Obtenido de: sistemanodalsinaloa.gob.mx/archivoscomprobatorios/_10_articulosrevistasarbitrajes/45.pdf

Pandiyan T., De Bazúa, C. D., Ilangovan, K., Noyola, A. 1999a. ¹³C NMR Studies on vinasses effluent treated with iron. *Water Research*. 33(1):189-195. Obtenido de: agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=GB1997058520

- Pandiyan, T., Ríos-Enríquez, M.A., Bernès, S., Durán-de-Bazúa, C. 1999b. Coenzyme M studies with nickel(II) compounds. Synthesis, structure, spectra, and redox behaviors. *Polyhedron*. 18(26):3383-3390.
- Pardos, M., Benninghoff, C., Thomas, R. L., Khim-Heang, S. 1999. Confirmation of elemental sulfur toxicity in the Microtox® assay during organic extracts assessment of freshwater sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 18(2):188-193.
- Parnaudeau, V., Condom, N., Oliver, R., Cazevieuille, P., Recous, S. 2008. Vinasse organic matter quality and mineralization potential, as influenced by raw material, fermentation and concentration processes. *Bioresource Technology*. 99(6):1553-1562.
- Paula, D. R., Foresti, E. 2009. Sulfide toxicity kinetics of a UASB reactor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 26(4):669-675.
- Pereira, E. L., Campos, C. M. M., Moterani, F. 2009. Effects of pH, acidity and alkalinity on the microbiota activity of an anaerobic sludge blanket reactor (UASB) treating pigmanure effluents. *Ambiente e Agua-An Interdisciplinary Journal of Applied Science*. 4(3):157-168.
- Real Tech Water. 2017. Chemical Oxygen Demand. Obtenido de: realtechwater.com/chemical-oxygen-demand/
- Rincón-Acelas, I. R. 2008. Cinética de la degradación anaerobia termofílica de vinazas de caña. Tesis de Maestría en Ingeniería. UNAM. Ciudad de México, México.
- Robles, V., Villalobos, F. 2010. Vinazas mezcaleras: Un problema de contaminación ambiental. Obtenido de: www.utm.mx/~mtello/Extensos/extenso080109.pdf
- Robles-González, V., Galíndez-Mayer, J., Rinderknecht-Seijas, N., Poggi-Varaldo, H. M. 2012. Treatment of *mezcal* vinasses: A review. *Journal of Biotechnology*. 157(4):524-546.
- Rodríguez, J., Casas, J., Mohedano, A., Zazo, J., Pliego, G., Blasco, S. 2010. Aplicación del proceso Fenton a la depuración de efluentes industriales y contaminantes emergentes. *Tecnologías de tratamiento de agua para su reutilización. Consolider Tratagua*. 12(1):5-20.
- SAGARPA. 2015. Secretaria de Agricultura, Ganadera, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (Abril 20 de 2015). Obtenido de www.sagarpa.gob.mx
- Sam, K. K. 2012. Ethyl alcohol or ethanol production from molasses by fermentation. *Inclusive Science Engineering*. (Marzo 18 de 2017). Obtenido de: www.inclusive-science-engineering.com/ethyl-alcohol-or-ethanol-production-from-molasses-by-fermentation/
- Shah, H., Ali, M. S., Al-Malki, F., Guizani, N., Fletcher, P., Singh, V. 2016. Identification by SEM and screening of antibacterial and antioxidant activity of *Pteropyrum Scoparium* Jaub & Spach Leaves using green solvent extracts. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 16(3):203-208.
- Seehone, W., Chulalaksananukul, W., Ruangchainikom, C., Chavalparit, O. 2016. Inhibition of hydrogen sulfide on UASB treating synthetic wastewater by sodium molybdate. *International Society for Engineering Research and Development Conference*. Pp. 27-29. Obtenido de: www.worldresearchlibrary.org/up_proc/pdf/222-145983220327-29.pdf
- Shin, H. S., Youn, J. H., Kim, S. H. 2004. Hydrogen production from food waste in anaerobic mesophilic and thermophilic acidogenesis. *International Journal of Hydrogen Energy*. 29(13):1355-1363.

- SIAP. 2017. La caña de azúcar en México. (Abril 22 de 2017). Obtenido de: siaprendes.siap.gob.mx/contenidos/3/03-cana-azucar/contexto-3.html
- Silva, C. F., Arcuri, S. L., Campos, C. R., Vilela, D. M., Alves, J. G., Schwan, R. F. 2011. Using the residue of spirit production and bio-ethanol for protein production by yeasts. *Waste Management*. 31(1):108-114.
- Thummes, K., Schäfer, J., Kämpfer, P., Jäckel, U. 2007. Thermophilic methanogenic Archaea in compost material: Occurrence, persistence and possible mechanisms for their distribution to other environments. *Systematic and Applied Microbiology*. 30(8):634-643.
- USDA. 2016. Sugar: World Markets and Trade. (Noviembre 15 de 2016). Obtenido de: apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/sugar.pdf
- Velasco, A., Ramírez, M., Volke-Sepúlveda, T., González-Sánchez, A., Revah, S. 2008. Evaluation of feed COD/sulfate ratio as a control criterion for the biological hydrogen sulfide production and lead precipitation. *Journal of Hazardous Materials*. 151(2-3):407-413.
- Villalobos-Juvenal, G. E. 2015. Implementación de un medidor volumétrico de biogás rico en metano a nivel de laboratorio en tres reactores de lecho de lodos de flujo ascendente (RALLFA) operando a 45, 55 y 65°C. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química. UNAM. Ciudad de México, México.
- Waterhouse, A. L. 2002. Determination of total phenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 6:11.11-11.18. Obtenido de: doi.org/10.1002/0471142913.fai0101s06
- Wilkie, A. C., Riedesel, K. J., Owens, J. M. 2000. Stillage characterization and anaerobic treatment of ethanol stillage from conventional and cellulosic feedstocks. *Biomass and Bioenergy*. 19(2):63-102.
- Williams, R. T., Crawford, R. L. 1985. Methanogenic bacteria, including an acid-tolerant strain, from peatlands. *Applied and Environmental Microbiology*. 50(6):1542-1544.
- Zhao, M., Yan, Q., Ruan, W., Miao, H., Ren, H., Xu, Y. 2010. Effects of butyric acid stress on anaerobic sludge for hydrogen production from kitchen wastes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 85(6):866-871.