



Universidad Tecnológica de la Mixteca

Disminución de la materia orgánica biodegradable presente en vinazas mezcaleras mediante digestión anaerobia

Tesis para obtener el título de
INGENIERO EN ALIMENTOS

Presenta: Fidel Villalobos Castillejos

Director de tesis: M. C. Vania Shuhua Robles González

Asesor externo: Dr. Héctor Poggi Varaldo

Huajuapán de León, Oaxaca, Octubre 2009

Este trabajo se realizó en las instalaciones de los laboratorios de Ciencias Químico Biológicas e Hidrología de la Universidad Tecnológica de la Mixteca.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por mantenerme siempre a flote y ser mi guía en este camino llamado vida.

Mamá, por brindarme tu amor incondicional, Papá, por ser mi ejemplo de superación, ambos me han llenado de alegría, confianza, fe, sorpresas, y demás cosas que han hecho de mi vida algo extraordinario, los quiero, que privilegio ser su hijo.

Guiehdani, gracias por ser la hermana mayor que siempre me cuida y mima, por dejarme aprender de ti y por el orgullo que me da ser el hermano de una excelente mujer y profesionista.

Tía Tencha y abuelitos, lo que soy es gracias a ustedes, toda mi vida está impregnada de bellos momentos a su lado, gracias por tantas enseñanzas de vida.

Al M. en C. Vania S. Robles González, por guiarme en este proyecto, compartiendo sus conocimientos y experiencias, fomentando en mí el entusiasmo por la investigación. Al Dr. Héctor Poggi, por el asesoramiento durante la realización de la tesis.

A mis sinodales, por sus recomendaciones y apoyo otorgado en la presentación de la tesis.

A mis profesores, en especial a los del Instituto de Agroindustrias por ser parte de mi formación personal y profesional. Al Dr. Raúl Salas, por sus consejos y ser ejemplo de un profesionista dedicado. Gracias por la fe y confianza que mantuvo en nosotros.

Lucy, Pavis, Diana, Ana, por ser mis amigas y compartir tantos momentos agradables en el transcurso de la carrera. Mayra, por tu amistad y por contar siempre con tu apoyo durante la experimentación. Gina, por tantos momentos divertidos, y tantas horas de buena plática.

Vero, por tu cariño, confianza y apoyo, diez años son apenas el comienzo de nuestra historia. George, Lervis, Candy, Laura, Mario, Dennys y demás. Gracias por su amistad.

A las Ing. Irma, Ing. Balbina, Maestra Brenda Licon, al Biólogo Ulises, Maestra Gris, Sarita, Judith, y a quienes me han brindado conocimientos, apoyo o amistad.

RESUMEN

Se realizó un estudio a muestras de vinazas colectadas de las mezcaleras oaxaqueñas Benevá, Fandango y una artesanal, determinando la composición fisicoquímica y el porcentaje de materia orgánica biodegradable, posteriormente fueron sometidas a un sistema de tratamiento anaerobio a nivel matraz a diferentes velocidades de carga orgánica. En términos generales contienen concentraciones altas de materia orgánica (DBO, 22 000-32 000, y DQO, 54 033-122 856 mg O₂/L), pH bajos (3.5-3.8), concentración alta de fenoles (478-541 mg ácido gálico/L), color café debido a la presencia de melanoidinas, 15 -58 mg/L de azúcares totales, 308-842 mg SO₄, 290-1705 mg PO₄, 660-5561 mg N/L, conductividad de 2.6 a 4.2 mS/cm, alta cantidad de sólidos suspendidos totales (700-17800 mg/L), 3.0 - 6.4 % de cenizas, minerales (Na, 7.8-31.8 mg/L; K, 31.3-77.9 mg/L; Mg, 17.3-103.7 mg/L; Ca, 62.2-124.4 mg/L; Fe, 3.9-6.8 mg/L) y minerales suspendidos (Na, 47.5-85.2 mg/L; K, 495.1-565.7 mg/L; Mg, 154.7-883.5; Ca, 816.8-1088.7; Fe, 19.6-29.5 mg/L). El porcentaje de materia orgánica biodegradable encontrado fue entre 70 y 82%. Se monitoreó el comportamiento del tratamiento anaerobio empleando diferentes velocidades de carga orgánica (732, 952, 1392, 1832 y 2272 mg O₂/L-día), hasta alcanzar un porcentaje constante de eficiencia de remoción de contaminantes, medida como DQO, obteniéndose una eficiencia de remoción máxima de 80-82% al aplicar una velocidad de carga orgánica de 952 mg O₂/L-día.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
Agradecimientos	III
Resumen	IV
Índice general	V
Índice de tablas	VII
Índice de figuras	VIII
Lista de abreviaturas y unidades	IX
1. Introducción	1
2. Análisis de fundamentos	4
2.1 Definiciones básicas	4
2.2 Vinazas	5
2.3 Materia orgánica biodegradable	7
2.4 Métodos de tratamiento de vinazas	8
2.4.1 Tratamientos fisicoquímicos	9
2.4.2 Tratamientos biológicos	10
2.5 Sistemas propuestos para incrementar la eficiencia de los tratamientos de vinazas	15
3. Hipótesis	16
4. Objetivos	16
4.1 Objetivo general	16
4.2 Objetivos específicos	16
5. Metodología	17
5.1 Caracterización fisicoquímica de las vinazas mezcaleras	18
5.2 Determinación de la materia orgánica biodegradable aerobiamente	20
5.3 Obtención del DAI empleando ARS	23
5.4 Tratamiento anaerobio de las vinazas mezcaleras a nivel matraz empleando diferentes velocidades de carga orgánica	25
6. Resultados y discusión	28
6.1 Caracterización fisicoquímica de las vinazas mezcaleras	28

6.2 Determinación de la materia orgánica no biodegradable aerobiamente	34
6.3 Obtención del DAI empleando ARS	42
6.4 Tratamiento anaerobio de las vinazas mezcaleras a nivel matraz empleando diferentes velocidades de carga orgánica	44
7. Conclusiones	52
8. Perspectivas	53
9. Referencias	54
9.1 Otras fuentes consultadas	56
Apéndices	57

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Características principales de las vinazas	6
Tabla 2. Tratamientos principales empleados en vinazas	9
Tabla 3. Tratamientos propuestos para vinazas	15
Tabla 4. Características del equipo empleado	17
Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos evaluados	19
Tabla 6. Características de operación del RAE	21
Tabla 7. Composición del ARS para el RAE	21
Tabla 8. Seguimiento de parámetros para el RAE	21
Tabla 9. Condiciones de operación del RAE con vinazas diluidas al 5%(V/V)	22
Tabla 10. Condiciones de operación del DAI	24
Tabla 11. Composición del ARS para el DAI	24
Tabla 12. Seguimiento y análisis para el DAI	25
Tabla 13. Relación de ARS/ARI	26
Tabla 14. Condiciones de operación de los matraces	27
Tabla 15. Seguimiento y análisis para los matraces	27
Tabla 16. Caracterización fisicoquímica de las vinazas mecaleras	28
Tabla 17. Tabla comparativa de minerales en vinazas	30
Tabla 18. Promedio de DQO de acuerdo al giro industrial	32
Tabla 19. Datos de la cinética aerobia en vinazas Benevá	38
Tabla 20. Datos de la cinética aerobia en vinazas Fandango	39
Tabla 21. Datos de la cinética aerobia en vinazas artesanal	41
Tabla 22. Tabla comparativa de Mo	41
Tabla 23. Tabla comparativa de eficiencia de remoción en los DAV	50

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Fases de fermentación anaerobia	12
Figura 2. Plan general de trabajo	18
Figura 3. Dinámica de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida empleando ARS	35
Figura 4. Dinámica de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida empleando VB diluidas al 5% (V/V)	36
Figura 5. Dinámica de remoción de materia orgánica en cultivo por lote de biomasa suspendida, empleando VB diluidas al 7% (V/V)	37
Figura 6. Dinámica de remoción de materia orgánica en cultivo por lote de biomasa suspendida, empleando VF diluidas al 10% (V/V)	38
Figura 7. Dinámica de remoción de materia orgánica en cultivo por lote de biomasa suspendida, empleando VA diluidas al 9% (V/V)	40
Figura 8. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida, empleando ARS	42
Figura 9. Monitoreo del coeficiente alfa en DAI	43
Figura 10. Monitoreo del pH en DAI	43
Figura 11. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida empleando 5% de vinazas	45
Figura 12. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida empleando 10% de vinazas	46
Figura 13. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida empleando 20% de vinazas	47
Figura 14. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida empleando 30% de vinazas	48
Figura 15. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida empleando 40% de vinazas	49

LISTA DE ABREVIATURAS Y UNIDADES

DQO	Demanda Química de Oxígeno
DBO	Demanda Bioquímica de Oxígeno
mS/cm	Mili Siemens/centímetro (Unidad de de conductividad eléctrica)
PUC	Proteína Unicelular
EC	Electrocoagulación
EF	Electrofenton
VA	Vinazas de la mezcalera Artesanal
VB	Vinazas de la mezcalera Benevá
VF	Vinazas de la mezcalera Fandango
DAI	Digestor Anaerobio Inoculador
RAE	Reactor Aerobio
TRH	Tiempo de Retención Hidráulica
V_{op}	Volumen de operación
Q	Flujo de alimentación
ARI	Agua Residual Industrial
ARS	Agua Residual Sintética
Mo	Materia orgánica
DAV	Digestor Anaerobio con Vinazas
B_v	Velocidad de carga orgánica
Ms	Metales suspendidos
DQO_0	Demanda Química de Oxígeno inicial
DQO_v	Demanda Química de Oxígeno de las vinazas

1. INTRODUCCIÓN

La producción nacional de mezcal en el año 2007 fue de 6 millones de litros, dato reportado por el Consejo Mexicano Regulador de la Calidad del Mezcal A.C. (COMERCAM), de los cuales el 65% es aportado por el estado de Oaxaca, representando una importante derrama económica para el estado, convirtiendo a la Industria Mezcalera en la principal actividad industrial en Oaxaca.

El Mezcal es definido por la NOM-070-SCFI-1994 como la bebida alcohólica regional obtenida por destilación y rectificación de mostos preparados directa y originalmente con los azúcares extraídos de las cabezas maduras de los agaves, previamente hidrolizadas o cocidas, y sometidas a fermentación alcohólica con levaduras, cultivadas o no, siendo susceptible de ser enriquecido.

Para la obtención del mezcal, es necesaria la realización de cuatro procesos principales, el cocimiento de las piñas, macerado, fermentación y destilación, en este último proceso, se lleva a cabo la separación del alcohol del mosto fermentado, obteniéndose de 6-15 L de líquidos remanentes por cada litro de alcohol obtenido (Jiménez, 2005; Preeti, 2006).

Los líquidos remanentes de la industria mezcalera, también denominados vinazas, están constituidos por diferentes compuestos orgánicos tales como ácido acético, ácido láctico, glicerol, fenoles, polifenoles, melanoidinas, sulfatos y fosfatos.

Duarte *et al.*, (1997) señalan que la composición de las vinazas varía con respecto a la materia prima y al proceso empleado para la obtención del alcohol, sin embargo, dentro de sus características principales se encuentran: ácidas, con un pH en intervalo de 3-5, contenido alto de materia orgánica, expresado como DBO de 35 000-50 000 mg O₂/L, y DQO de 100 000-150 000 mg O₂/L.

Las vinazas provocan un cambio serio en el ecosistema cuando son descargadas en suelos o en mantos acuíferos, por lo que es considerado un problema ambiental. Por lo anterior, es necesaria la aplicación de un tratamiento a las vinazas. Existen diferentes métodos, clasificados en fisicoquímicos, que incluyen el uso de electrolitos, ozono, luz ultravioleta, etc., y biológicos, los cuales se pueden subdividir en aerobios y anaerobios.

El objetivo principal de los tratamientos fisicoquímicos es la oxidación de los compuestos orgánicos contaminantes, mediante el empleo de sustancias químicas, que convierten a estos tratamientos en efectivos y rápidos, sin embargo, poseen las desventajas de ser caros y de emplear químicos que pueden provocar interferencias con las vinazas y generar otros contaminantes (Benítez, *et al.*, 2003).

Dentro de los tratamientos biológicos, el aerobio es poco utilizado para vinazas debido a su elevado contenido de material orgánico, asociado con la producción de lodos y por lo tanto, con dificultades de operación. Sin embargo, se ha estudiado el tratamiento de las vinazas en condiciones aerobias empleando algunos géneros de hongos como *Penicillium decumbens*, *Aspergillus terreus* y *Geotrichum candidum*, con la finalidad de remover compuestos fenólicos, los cuales en concentraciones altas, inhiben la acción de bacterias anaerobias (Jiménez *et al.*, 2003; García *et al.*, 1997).

La digestión anaerobia es recomendada para el tratamiento de las vinazas, debido a que soportan cargas orgánicas altas, poseen requerimientos bajos de energía y nutrientes, existe poca producción de lodos y las bacterias anaerobias son capaces de transformar la materia orgánica en metano, que se usa como fuente de energía en algunas destilerías. Se ha reportado que los procesos anaerobios presentan eficiencias de remoción de materia orgánica biodegradable del 70 al 91% en vinazas de diferentes orígenes (Durán-de Bazúa *et al.*, 1990; Lalov *et al.*, 2001).

A pesar de que han realizado investigaciones sobre la caracterización y tratamiento de vinazas, éstas se han efectuado en vinazas provenientes de la industria azucarera o tequilera, y como es mencionado anteriormente, la composición de las vinazas varía de acuerdo al origen de la materia prima, motivo por el cual es importante el estudio de las vinazas mezcaleras. Por lo anterior se realizó la caracterización fisicoquímica y determinación de materia orgánica biodegradable en vinazas mezcaleras. Se continuó con la obtención de un inóculo anaerobio capaz de emplear a las vinazas mezcaleras como fuente de carbono y energía, así mismo, se monitoreó el comportamiento del tratamiento anaerobio empleando diferentes velocidades de carga orgánica, hasta alcanzar un porcentaje constante de eficiencia de remoción de contaminantes, medida como DQO.

2. ANÁLISIS DE FUNDAMENTOS

2.1 Definiciones básicas

- Demanda Química de Oxígeno (DQO): Medida de los equivalentes de O_2 de los materiales presentes en la muestra, los cuales se someten a oxidación por medio de un oxidante químico fuerte (Ramalho, 1993).
- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO): Medida de los equivalentes de O_2 requeridos para la degradación bioquímica de la materia orgánica presente en la muestra (Ramalho, 1993).
- Coeficiente alfa: Parámetro que relaciona la alcalinidad intermedia con la alcalinidad parcial del medio, así cuando el valor del coeficiente alfa es menor a 0.5, indica que el reactor tiene buen régimen y que la capacidad buffer del sistema es adecuado (Método Estándar 403).
- Materia Orgánica Biodegradable: Material orgánico contenido en aguas residuales que pueden ser eliminadas por la acción de microorganismos (Ramalho, 1993).

- Velocidad de dilución (D): Es una variable de control, la cual se define como la relación entre el flujo de alimentación (F) y el volumen del cultivo (V), de acuerdo con la relación: $D=F/V$ (Nielsen, Villadsen y Lidén, 2003).
- Tiempo de Residencia Hidráulica (TRH): Corresponde al inverso del valor de la velocidad de dilución $TRH=D^{-1}$ (Nielsen, Villadsen y Lidén, 2003).
- Estado de equilibrio dinámico: En un sistema continuo, se presenta cuando la relación dc/dt es igual a cero, donde “c” representa las concentraciones de componentes del sistema, sean reactantes o productos (Galíndez y Ruíz, 1994).
- Velocidad de carga orgánica (B_v): Cantidad de materia orgánica generalmente medida como DQO aplicada a un proceso de tratamiento dado (Ramalho, 1993).

2.2 Vinazas

Existe un número importante de pequeñas y medianas industrias que producen etanol a partir de la fermentación de distintas materias primas (caña, uva, agave). Dichas industrias producen cantidades considerables de líquidos residuales, o también denominados como vinazas. La producción de vinazas en una destilería tradicional se encuentra entre 6-15 L de vinazas por litro de etanol obtenido. Las características de las vinazas varían considerablemente de acuerdo a la materia prima empleada, la localización y el tipo de proceso de fermentación adoptado (Pant y Adholeya, 2006), sin embargo, en la tabla 1 se muestran de manera general las principales características de las vinazas.

Tabla 1. Características principales de las vinazas (Jiménez, *et al.* 2006)

Característica	Intervalo
pH	Ácido (3-5)
Contenido de materia orgánica	Alto (DQO 100 000-150 000 mg O ₂ /L, DBO 35 000-50 000 mg O ₂ /L)
Compuesto por los ácidos acético y láctico, glicerol *	
Contenido en sales	Alto (40 mS/cm)
Color	Pardo, por la presencia de melanoidinas
Compuestos fenólicos	450-469 mg de ácido gálico/L

*Concentraciones no reportadas.

En la tabla 1, podemos observar la presencia de un contenido alto de materia orgánica en las vinazas, las cuales al ser descargadas al medio ambiente pueden provocar problemas ambientales graves.

Cuando las vinazas son descargadas en suelos, los sólidos suspendidos que contienen provocan que exista una menor permeabilidad, lo anterior debido a la obstrucción de los poros del suelo, evitando el paso normal de líquidos a través de él, favoreciendo fermentaciones anaerobias que generan olores desagradables (García *et al.*, 1997).

Kannabiran y Pragasam, (1993) reportan que la descarga de vinazas en suelos provoca la inhibición del proceso de germinación, lo anterior debido a una reducción en la alcalinidad en el suelo, causando una deficiencia de manganeso que no es recomendable en los cultivos.

La disposición de las vinazas en mantos acuíferos provoca el bloqueo de la luz solar debido a que son altamente coloridas, reduciendo la oxigenación generada por la fotosíntesis de plantas marinas, ocasionando la muerte de la vida acuática debido al vínculo que existe entre la vida acuática y su metabolismo, con el consumo de oxígeno disuelto. Otro factor que favorece la disminución del oxígeno disuelto en el agua, es la temperatura alta con la que son descargadas las vinazas, calentando el agua y disminuyendo la solubilidad del oxígeno en el agua (FitzGibbon *et al.*, 1998).

Mahimaraja y Bolan, (2004), señalan que la presencia de materia orgánica putrescible en las vinazas, provoca olores desagradables cuando son descargadas en ríos o canales.

Debido a la gran variedad de contaminantes presentes en las vinazas es necesario realizar un tratamiento antes de que éstas sean vertidas a cuerpos de agua o suelo. El propósito de dicho tratamiento es la eliminación de toda la materia orgánica biodegradable posible para disminuir la cantidad de contaminantes en el efluente y poder ser descargadas.

2.3 Materia orgánica biodegradable

La materia orgánica biodegradable en un efluente es todo lo que puede ser atacado y reducido por la acción de microorganismos. En las vinazas, está compuesta por restos de azúcares, sólidos suspendidos totales, ácido láctico, ácido acético, glicerol, entre otros compuestos (Duarte *et al.*, 1997).

La cantidad de materia orgánica biodegradable es medida empleando los valores de DQO y DBO, los cuales representan la cantidad de oxígeno que se requiere para oxidar toda la materia orgánica y oxidable presente en un efluente. Por lo anterior, representa un parámetro de la contaminación orgánica de un efluente. Sin embargo, existe una fracción en el efluente que no es posible oxidar por métodos biológicos, tal como una digestión aerobia, a dicha fracción se le conoce como materia orgánica no biodegradable.

2.4 Métodos de tratamiento de vinazas

La gran mayoría de estos tratamientos comprenden tratamientos fisicoquímicos y biológicos, evaporación-condensación con o sin combustión (Sheehan y Greenfield, 1980; Rao, 1972; Madejón, *et al.*, 2001; Gemtos *et al.*, 1999; Durán-de-Bazúa y Cabrero, 1991).

En la mayoría de los procesos bacterianos empleados, siempre queda una importante fracción recalcitrante de materia orgánica sin degradar (Preeti *et al.*, 2007), por lo que se han realizado experimentaciones con el uso de métodos alternos, dentro de los procesos fisicoquímicos encontramos los siguientes: adsorción, coagulación-floculación, electrocoagulación y tratamientos electroquímicos (Yavuz, 2007; Manisankar *et al.*, 2004; Vlyssides *et al.*, 1997). Actualmente, el diseño de trenes de tratamiento han resultado efectivos para una degradación mayor de los contaminantes, en los cuales se integran dos o más tratamientos tales como la incorporación de ozono para oxidar la fracción recalcitrante, tratamientos anaerobios para la disminución de la carga orgánica y tratamientos aerobios para eliminación de color, entre otras combinaciones de sistemas de tratamiento.

En la tabla 2, se muestran los principales tipos de tratamientos empleados en vinazas.

Tabla 2. Tratamientos principales empleados en vinazas

Tipo de tratamiento	
	Floculación
	Electrocoagulación
Fisicoquímico	Electrofenton
	Ozonación
Biológico	Aerobio
	Anaerobio

2.4.1 Tratamientos fisicoquímicos. Los tratamientos fisicoquímicos utilizan reactivos químicos, cuyo objetivo principal es la oxidación de los compuestos orgánicos contaminantes. Entre los principales tratamientos químicos se encuentran:

- 1. Floculación.** Posee relación con los fenómenos de transporte dentro del líquido para que las partículas hagan contacto. Esto implica la formación de puentes químicos entre partículas formando una malla de coágulos tridimensional y porosa. Así se formaría un floc suficientemente grande y pesado como para sedimentar (Moletta, 2005).
- 2. Electrocoagulación.** Se basa en la formación *in situ* de un coagulante como ánodo de sacrificio (cationes de aluminio o hierro), corroídos debido a una corriente aplicada, mientras se da la evolución simultánea del hidrógeno en el cátodo, permite la remoción de contaminantes por flotación. La ventaja de este tratamiento es la combinación de los fundamentos de electroquímica, coagulación e hidrodinámica en la remoción de contaminantes. El mecanismo de la EC depende de la química del medio acuoso, en especial de la conductividad eléctrica (Yavuz, 2007).

3. **Electrofenton.** Se basa en el uso de una celda electrolítica sin dividir que contiene un ánodo (Pt) y un cátodo (grafito) donde se genera peróxido de hidrógeno mediante la reducción de dos electrones del oxígeno en el cátodo. Dentro de sus ventajas se encuentra la producción del radical hidroxilo, un oxidante fuerte y no selectivo, de la reacción entre H_2O_2 y Fe^{+2} (Yavuz, 2007).

4. **Ozono.** Se basa en la aplicación de ozono al medio, posee las ventajas de ser un oxidante poderoso, alta solubilidad en agua, rápidamente disponible y sin la formación de productos que requieran ser removidos. La adición de radiación ultravioleta y peróxido de hidrógeno incrementan la eficiencia de este tratamiento debido a la generación de radicales orgánicos, tales como el radical hidroxilo ($\text{R}\bullet$), capaz de oxidar compuestos orgánicos (Jansson, 1992).

Yavuz, (2007) señala que entre las principales desventajas de los tratamientos fisicoquímicos se encuentra su elevado costo y el empleo de electrolitos que pueden provocar interferencias con la matriz e incluso llegar a producir más contaminantes.

2.4.2 Tratamientos biológicos. Los tratamientos biológicos han sido reconocidos como método efectivos de tratamiento para descargas residuales contaminadas. Tanto los sistemas aerobios como anaerobios son usados en el tratamiento de descargas de plantas agroindustriales incluyendo descargas de destilerías. En años recientes se incrementó la atención en también emplear la actividad microbiana (bacterias puras y hongos) para la eliminación de color y mineralización de aguas residuales. Los efluentes tratados con los sistemas biológicos son usados de una forma segura y efectiva para incrementar la productividad del suelo (Deepak, P., 2006).

- 1. Sistemas aerobios:** Son empleados en el tratamiento de aguas residuales agroindustriales. En dichos sistemas se obtiene como subproducto principal la biomasa, que actualmente se conoce como Proteína Unicelular (PU), empleada para la alimentación de animales. Los tanques aireados y unidades de lodos activados son ejemplos de sistemas aerobios.

Los sistemas aerobios pueden trabajar con bacterias puras, hongos, o consorcios mixtos, cada uno con resultados diferentes dependiendo del tipo de efluente a tratar (Kummar y Viswanathan, 2000). Entre los principales tipos de bacterias empleadas encontramos a las *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Stenotrophomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, y *Klebsiella*.

La desventaja de este proceso en el tratamiento de vinazas radica en que la DQO al final del proceso es relativamente alta, debido a la biomasa, por lo cual la purificación de las vinazas es baja (Deepak, *et al.*, 2007).

- 2. Sistemas anaerobios:** La digestión anaerobia es un proceso biológico en el que la materia orgánica, en ausencia de oxígeno, y mediante la acción de un grupo de bacterias específicas, se descompone en productos gaseosos o “biogás” (CH_4 , CO_2 , H_2 , H_2S , etc.) y en digestato, que es una mezcla de productos minerales (N, P, K, Ca, etc.) y compuestos de difícil degradación. Esta conversión biológica del sustrato complejo, en el que se encuentra materia orgánica en suspensión o disuelta, se realiza a través de una serie de reacciones bioquímicas que transcurren tanto consecutiva como simultáneamente, y cuyo proceso podemos dividir en tres etapas: hidrólisis, fermentación acetogénica y fermentación metanogénica (figura 1).

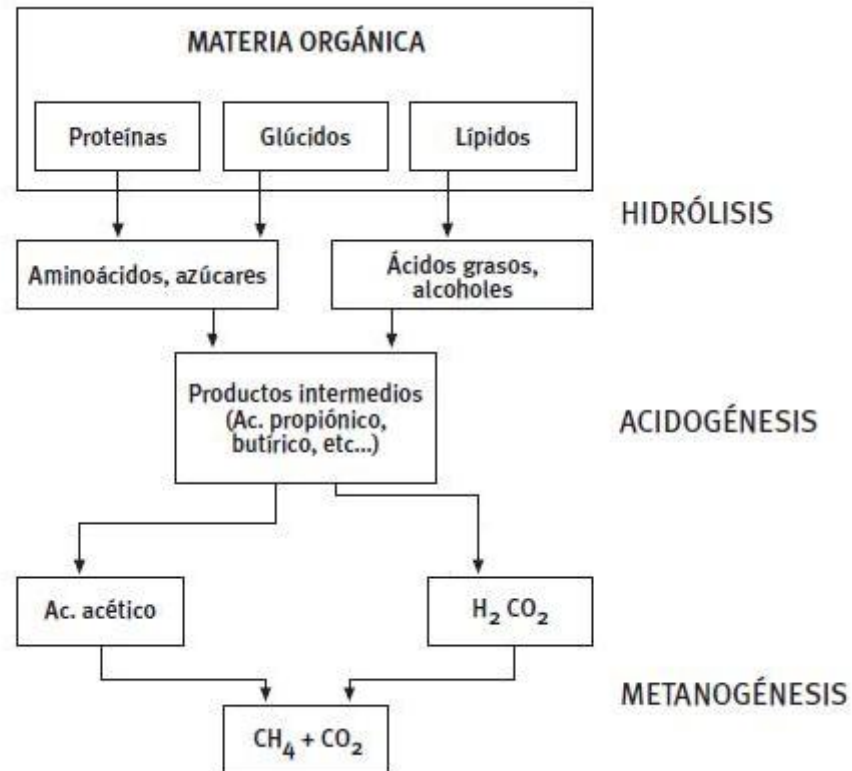


Figura 1. Fases de fermentación anaerobia

Para que un sistema de tratamiento anaerobio establezca correctamente el residuo orgánico, los microorganismos formadores de ácidos y metano deben hallarse en estado de equilibrio dinámico. Muchos microorganismos metanogénicos son similares a los encontrados en el estómago de los animales rumiantes (Deepak, *et al.*, 2007).

El biogás contiene un porcentaje alto de metano (50-70%), por lo que es susceptible de un aprovechamiento energético mediante su combustión en motores, en turbinas o en calderas, sólo o mezclado con otro combustible. Los beneficios asociados a la digestión anaerobia son, la reducción significativa de malos olores, mineralización, producción de energía renovable, y la reducción de emisiones de gases de invernadero.

Como en cualquier proceso biológico, la actividad microbiana se ve afectada por una serie de factores entre los cuales destacan el pH, la temperatura y el coeficiente alfa.

La velocidad de las reacciones bioquímicas se encuentra en función de la temperatura, por lo que la reducción en este parámetro ambiental se refleja en una menor capacidad de procesamiento.

Otro factor que afecta la actividad es el pH, existiendo un rango óptimo de funcionamiento entre 6.6 y 7.4, siendo las bacterias metanogénicas las de mayor sensibilidad. Sin embargo, el pH no es buen parámetro de control, debido a la capacidad buffer del sistema. Un buen parámetro es el cociente entre la alcalinidad parcial y alcalinidad total, conocido como coeficiente alfa. Este parámetro refleja la compatibilidad entre la carga aplicada y la actividad metanogénica existente, o de una forma más explícita, el grado de estabilidad del sistema. El coeficiente alfa tiene un rango de variación de 0.0 a 0.5 (Martínez, J., 1994).

Otro parámetro importante es el TRH, es decir el tiempo de permanencia del medio a tratar en el digestor, sometido a la acción de microorganismos, los TRH varían dependiendo del tipo de digestor, y tipo de descarga. Por ejemplo, De Bazúa, (1990), emplea TRH de 2 días en digestores de lecho fluidizado al tratar vinazas de origen azucarero, mientras que Goyal *et al.*, (1996) emplea 4 días de TRH para el mismo tipo de reactor pero con vinazas de origen vitivinícola. La diferencia entre los TRH está relacionada con otro parámetro de gran importancia en los digestores anaerobios, la B_v .

Al igual que el TRH, la B_v también debe cuidarse, debido a que el empleo de valores bajos implica baja concentración de medio y elevado TRH. Lettinga, *et al.*, (1982) y Salkinoja *et al.*, (1983) recomiendan B_v bajas para el arranque de un sistema anaerobio, aproximadamente del 10% del total de DQO.

Una desventaja de los métodos anaerobios es la presencia de sustancias inhibitorias, los cuales pueden alterar el proceso de digestión de la materia orgánica presente en el efluente, trayendo como consecuencia la disminución de su eficiencia de remoción de contaminantes, siendo necesario el empleo de altos TRH (Deepak, *et al.*, 2007).

2.5 Sistemas propuestos para incrementar la eficiencia de los tratamientos de vinazas

En la actualidad se han planteado múltiples sistemas para el tratamiento de vinazas, todos con un fin en común, incrementar la eficiencia de los procesos de remoción de contaminantes. En la tabla 3 se muestran algunos de los tratamientos empleados.

Tabla 3. Tratamientos propuestos para vinazas

Proceso	Fuente de carbono	% de remoción de contaminantes	Ref.
“Tratamiento biológico de vinazas por procesos aerobios y anaerobios en planta piloto(PP) y a nivel laboratorio(L)”	Caña de azúcar	DQO _{PP} : 64% DQO _L : 68%	1
“Mejoramiento de la producción de metano en vinazas a partir de un consorcio metanogénico inmovilizado”	Uva	DQO: 80 – 90%	2
“Estudio de la cinética de digestión anaerobia de vinazas pre tratadas con ozono, ozono más luz ultravioleta”	Caña de azúcar	DQO: 80%	3
“Tratamiento anaerobio de descargas recalcitrantes de destilerías empleando un reactor UASB”	Caña de azúcar	DQO: 39 – 45%	4

Notas: 1: Durán-de-Bazúa, 1991; 2: Lalov *et al.* 2001; 3: Martín, *et al.*, 2001; 4: Harada *et al.*, 1995.

3. HIPÓTESIS

El empleo de un tratamiento de digestión anaerobia, ayudará a disminuir la carga orgánica presente en vinazas mezcaleras.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Disminuir la concentración de materia orgánica presente en vinazas mezcaleras mediante un tratamiento de digestión anaerobio para reducir su carácter contaminante.

4.2 Objetivos Específicos

1. Realizar la caracterización fisicoquímica de las vinazas mezcaleras.
2. Obtener y aclimatar un consorcio anaerobio con capacidad para emplear las vinazas mezcaleras como fuente de carbono y energía.
3. Monitorear el comportamiento del tratamiento anaerobio empleando diferentes velocidades de carga orgánica.

5. METODOLOGÍA

El equipo empleado para la realización del trabajo experimental es mostrado en tabla 4.

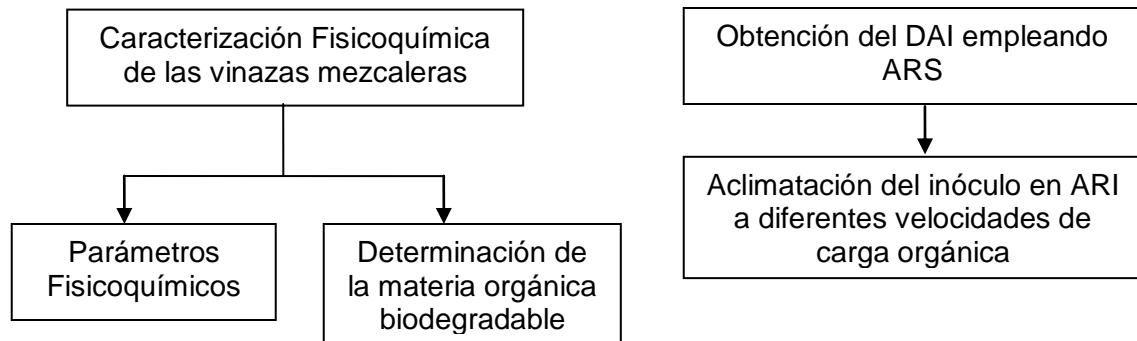
Tabla 4. Características del equipo empleado

Material y Equipo	Modelo	Marca
Incubadora	DRB 200	Hach
Espectrofotómetro	2000	Hach
Vortex	M16715	Bornstead Thermolyne
Estufa	-	Riossa
Mufla	301 M	Industriales S.A.
Balanza analítica	BL2105	Sartorius
Parrilla eléctrica	SP131325	Bornstead Thermolyne
Espectrofotómetro	932 AA	GBC
Rotavapor	Laborota 4000	Heldolph
Potenciómetro	54650-18	Hach
Congelador	-	General Electric
Reactor DBO	2173 B	Hach
Colorímetro	Ultrascan Vis	HUNTER LAB
Centrífuga	HN-SII	IEC

Las vinazas empleadas en el presente estudio se colectaron en el municipio de Matatlán Oaxaca, perteneciente a la región de Valles centrales, una de las principales regiones productoras de mezcal del estado, en el mes de septiembre del 2008.

Las muestras provinieron de una mezcalera artesanal y de las mezcaleras industriales Fandango y Benevá. El plan general de trabajo es mostrado en la figura 2.

Figura 2. Plan general de trabajo



5.1 Caracterización físicoquímica de las vinazas mezcaleras

Las muestras fueron tomadas directamente de las descargas del procesamiento en bidones de 20 L, cerrándose los recipientes inmediatamente. Las 3 muestras se encontraban a 90 °C.

Como parte de un pretratamiento a las vinazas, al enfriarse las muestras colectadas se sedimentaron y decantaron para después ser almacenadas en recipientes de plástico de 5 L, previamente lavados y desinfectados, a una temperatura de refrigeración de 4 °C, temperatura a la cual evitamos la continuación del metabolismo de las levaduras, las cuales crecen a temperatura ambiente. Previamente al proceso descrito, se tomó la cantidad de muestra necesaria para la realización de la prueba de sólidos totales.

Por cuestiones prácticas, las muestras para la evaluación de los parámetros fisicoquímicos fueron tomadas a partir del líquido decantado para evitar interferencias con el exceso de sólidos que contenían las vinazas.

Los parámetros fisicoquímicos evaluados, se encuentran reportados en la siguiente tabla.

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos evaluados

Parámetro	Método	Determinación
Azúcares totales	Dubois Hamilton	1/Lote
Sulfatos	Método Estándar 4500-SO ₄ ⁻²	1/Lote
Fosfatos	Método Estándar 4500-P	1/Lote
Cenizas	Método Estándar 3030 J	1/Lote
Sodio	Método Estándar 3111	1/Lote
Calcio	Método Estándar 3111	1/Lote
Magnesio	Método Estándar 3111	1/Lote
Potasio	Método Estándar 3111	1/Lote
Hierro	Método Estándar 3111	1/Lote
(Ms) Sodio	Método Estándar 3030 E	1/Lote
(Ms) Calcio	Método Estándar 3030 E	1/Lote
(Ms) Magnesio	Método Estándar 3030 E	1/Lote
(Ms) Potasio	Método Estándar 3030 E	1/Lote
(Ms) Hierro	Método Estándar 3030 E	1/Lote
(Ms) Zinc	Método Estándar 3030 E	1/Lote
(Ms) Hierro	Método Estándar 3030 E	1/Lote
(Ms) Cobre	Método Estándar 3030 E	1/Lote
Color	CIELAB	1/Lote
Color	Método Estándar 2120C	1/Lote
Alcalinidad	Método Estándar 2320	1/Lote
Sólidos Suspendidos Totales (SST)	Método Estándar 2540 D	1/Lote
Sólidos Suspendidos Fijos (SSF)	Método Estándar 2540 E	1/Lote

Tabla 5. Parámetros fisicoquímicos evaluados (continuación)

Parámetro	Método	Determinación
Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV)	Método Estándar 2540 E	1/Lote
Sólidos totales	Método Estándar 2540 G	1/Lote
Nitrógeno	Micro Kjeldhal	1/Lote
pH	Método Estándar 2310	1/Lote
Conductividad	Método Estándar 2560 B	1/Lote
Demanda Química de Oxígeno (DQO)	Método Estándar 5220	1/Lote
Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO)	Método Estándar 5210	1/Lote
Fenoles	Folin-Ciocalteau	1/Lote

Las curvas de calibración para DQO, Fenoles y Azúcares totales se encuentran en la sección de apéndices.

5.2 Determinación de la materia orgánica biodegradable aerobiamente

Es importante señalar que los volúmenes de operación empleados para la determinación de la materia orgánica biodegradable fueron en base al material de vidrio disponible en el laboratorio de ciencias químico biológicas de la universidad. El proceso para la determinación de la materia orgánica biodegradable se realizó de acuerdo a los siguientes tres pasos.

i) Obtención del inóculo aerobio

Se montó un reactor aerobio, cuyas características son mostradas en la tabla 6, al cual se adicionó 500 mL de inóculo de lodos activados de la planta de tratamiento de la Universidad Tecnológica de la Mixteca, debido a su disponibilidad y acceso.

Tabla 6. Condiciones de operación del RAE

Parámetro	
V_{op}	3 L
TRH*	18 días
Q	170 mL/día

* Metcalf-Eddy, 1985

Se purgó y alimentó con 170 mL de ARS, cuya composición fue adaptada de Boone, (1984), y es mostrada en la tabla 7.

Tabla 7. Composición del ARS para el RAE

ARS para el reactor Aerobio
3.0 g/L sacarosa
1.5 g/L NaHCO_3
0.6 g/L K_2HPO_4
3.0 g/L Na_2CO_3
0.6 g/L NH_4Cl
1.5 mL CH_3COOH

Los parámetros y su frecuencia de evaluación en el digestor aerobio son mostrados en la tabla 8. Se realizó la determinación de DQO para el medio de alimentación una vez por semana.

Tabla 8. Seguimiento de parámetros para el RAE

Parámetro	Efluente	Método
DQO	2/semana	Método Estándar 5220
SSV	2/semana	Método Estándar 2540 E

La evaluación del reactor aerobio se efectuó hasta reportarse un estado de equilibrio dinámico.

ii) Aclimatación del inóculo con vinazas mezcaleras

Una vez estable el reactor aerobio, se tomaron 170 mL de inóculo y se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos, efectuando tres lavados con 10 mL de una solución isotónica comercial. La biomasa obtenida fue inoculada en un reactor aerobio nuevo que contenía vinazas de la mezcalera Benevá diluidas al 5%(V/V) y agua desionizada. Las condiciones de operación del reactor son presentadas en la tabla 9.

Tabla 9. Condiciones de operación del RAE con vinazas diluidas al 5% (V/V)

Parámetro	
V_{op}	500 mL
TRH	18 días
Q	40 mL/día

Los parámetros evaluados, así mismo como la frecuencia de su realización se efectuaron de manera similar al reactor aerobio anterior. Se realizó el seguimiento del mismo hasta que alcanzó un estado de equilibrio dinámico.

iii) Determinación de la materia orgánica biodegradable

Una vez estable el reactor aerobio con 5% de vinazas, se tomaron 40 mL de muestra y de igual manera se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos, efectuándose tres lavados con 10 mL de solución isotónica comercial.

La biomasa obtenida fue inoculada en un tercer reactor aerobio con el mismo V_{op} que el anterior, pero ahora fue un sistema por lote y su composición consistía en vinazas de la mezcalera Benevá diluidas al 10% (V/V) y agua desionizada. Se realizó el seguimiento del mismo hasta que alcanzó un porcentaje de eficiencia de remoción de contaminantes estable.

Cuando el reactor aerobio con 10% de vinazas se estabilizó, se procedió a tomar 40 mL de muestra, centrifugándola a 4000 rpm por 10 minutos. La biomasa obtenida de 40 mL fue inoculada en un reactor aerobio que contenía vinazas de la mezcalera Artesanal diluidas al 10%(V/V) y agua desionizada. El reactor anterior poseía las mismas características, y seguimiento de parámetros que el reactor con vinazas Benevá diluidas al 10% (V/V).

El seguimiento se realizó hasta que el reactor mostró un porcentaje de eficiencia de remoción de contaminantes estable. De manera simultánea se realizaron las mismas pruebas en un reactor aerobio que contenía vinazas de la mezcalera Fandango diluidas al 10%(V/V) y agua desionizada.

5.3 Obtención del DAI empleando ARS

Se montó un digestor, cuyas condiciones de operación son mostradas en la tabla 10, al cual se adicionó 500 mL de inóculo pesado, 500 mL de inóculo de una planta de tratamiento anaerobio, 13.5 g de bicarbonato de sodio y 2 L de ARS cuya composición es mostrada en la tabla 11.

El inóculo pesado se obtuvo a partir de 400 g de excreta de vaca húmeda y disolverla en 3 L de agua, se empleó excreta de vaca debido a que es precisamente en el estómago de los rumiantes donde podemos encontrar microorganismos anaerobios metanogénicos, de los géneros *Methanosarcina* y *Methanosaeta* (Díaz, 2002), los cuales se requerían para aclimatarlos a medio que contenía vinazas mezcaleras. Después, ésta solución se tamizó empleando una malla número 40 y se lavó con 2 L de agua.

Tabla 10. Condiciones de operación del DAI

Parámetro	
V_{op}	3 L
TRH	25 días
Q	120 mL/día
B_v	192 mg O_2 /L-día

Tabla 11. Composición del ARS para el DAI

ARS
5.0 g/L sacarosa
1.5 g/L $NaHCO_3$
0.6 g/L K_2HPO_4
3.0 g/L Na_2CO_3
0.6 g/L NH_4Cl
1.5 mL CH_3COOH

El ARS para el DAI posee la misma composición que el empleado para el RAE a excepción del contenido de azúcar, que es superior para el DAI con el fin de incrementar la biomasa y promover la producción de biogás.

Se establecieron condiciones anaerobias en el digestor inoculador, mediante el desalojo de oxígeno con gas nitrógeno. El suministro de nitrógeno al digestor anaerobio se realizó durante cinco minutos. La temperatura del digestor se mantuvo en 37 °C. Los parámetros y su frecuencia de evaluación en el digestor anaerobio son mostrados en la tabla 12. Se realizó la determinación de DQO para el medio de alimentación una vez por semana.

Tabla 12. Seguimiento y análisis para el DAI

Parámetro	Efluente	Método
pH	2/semana	Método Estándar 2310
DQO	2/semana	Método Estándar 5220
SSV	2/semana	Método Estándar 2540 E
Coefficiente alfa	2/semana	Método Estándar 2312
Cuenta de bacterias metanogénicas	1/semana	Método Estándar 3002

5.4 Tratamiento anaerobio de las vinazas mezcaleras a nivel matraz empleando diferentes velocidades de carga orgánica

Para llevar a cabo la digestión anaerobia de vinazas de origen mezcalero, se decidió emplear las vinazas mezcaleras procedentes de la mezcalera Benevá debido a su accesibilidad y por el control que tienen sobre el proceso de fermentación, lo cual influye sobre la variabilidad de las características fisicoquímicas del mezcal.

Se realizó la aclimatación del inóculo empleando las siguientes relaciones entre ARS y el ARI o vinazas, tal como se muestra en la tabla 13.

Tabla 13. Relación de ARS/ARI

% ARS	% ARI	B_v (mg O ₂ /L-día)
95	5	731.9
90	10	952.0
80	20	1392.1
70	30	1832.3
60	40	2272.4
50	50	2712.5
40	60	3152.6
30	70	3592.8
20	80	4032.9
10	90	4473.0

Las velocidades de carga orgánica se establecieron en base a lo reportado por Lettinga, *et al.*, (1982).

En un matraz Erlenmeyer de 1000 mL, se adicionó 400 mL de vinazas Benevá diluidas de acuerdo a la relación anteriormente mencionada inoculándolo después con 50 mL proveniente del DAI para el digester con 5% ARI, para los siguientes digestores el inóculo procedió del digester de concentración anterior, por ejemplo, para el digester con 10% de ARI, el inóculo procedió del digester con 5% de ARI. Se establecieron condiciones anaerobias en los matraces, mediante el desalojo de oxígeno con gas nitrógeno. El suministro de nitrógeno a los matraces se realizó durante 5 minutos.

Las condiciones de operación así como el análisis y seguimiento para los matraces son mostrados en las tablas 14 y 15 respectivamente.

Tabla 14. Condiciones de operación de los matraces

Parámetro	
V_{op}	400 mL
TRH	25 días
Q	35 mL/día

Tabla 15. Seguimiento y análisis para los matraces

Parámetro	Efluente	Método
pH	2/semana	Método Estándar 2310
DQO	2/semana	Método Estándar 5220
SSV	2/semana	Método Estándar 2540 E
Coefficiente alfa	2/semana	Método Estándar 2312
Cuenta de bacterias metanogénicas	1/semana	Método Estándar 3002

Se determinó la eficiencia de remoción de la DQO para establecer la velocidad de carga orgánica con mayor porcentaje de eficiencia de remoción de contaminantes.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización Físicoquímica de las vinazas mezcaleras

En la actualidad, es insuficiente la información sobre las vinazas de origen mezcalero, y a pesar de que se han reportado datos sobre vinazas de origen azucarero, tequilero o vitivinícola, es importante mencionar que la composición del agua residual varía considerablemente con respecto a la materia prima empleada. Por lo anterior, en el presente trabajo se llevó a cabo la caracterización físicoquímica de las vinazas mezcaleras con el fin de obtener información relevante sobre este tipo de descarga industrial.

El pretratamiento de la muestra consistió en eliminar el exceso de sólidos, a través de un proceso de sedimentación–decantación. Posteriormente se realizaron las determinaciones de los parámetros físicoquímicos conforme lo marcan los Métodos Estándar, APHA 1994, cuyos resultados son mostrados en la tabla 16.

Tabla 16. Caracterización físicoquímica de las vinazas mezcaleras

Parámetro	VA	VB	VF
Azúcares totales (mg/L)	58 ±2	15 ±2	25 ±5
Sulfatos (mg de SO ₄ /L)	842 ±14.43	308 ±14.43	946 ±12
Fosfatos (mg de PO ₄ /L)	1,705 ± 30	290 ± 5	850 ±13
Cenizas (%)	6.39	6.03	3.02
Na (mg/L)	8.1 ±0.29	7.8 ±0.56	31.8 ±0.08
K (mg/L)	53.9 ±17.64	31.3 ±10.67	77.9 ±16
Mg (mg/L)	103.7 ±2.69	17.3 ±3.16	42.7 ±8.51

Tabla 16. Caracterización fisicoquímica de las vinazas mezcaleras (continuación)

Parámetro	VA	VB	VF
Ca (mg/L)	124.4 ±29.99	62.2 ±4.89	114.4 ±1.94
Fe (mg/L)	3.9 ±1.09	4.6 ±0.79	6.8 ±0.93
Na (MS) (mg/L)	47.49	85.17	184.12
Ca (MS) (mg/L)	1,088.68	816.82	932.35
K (MS) (mg/L)	565.72	515.98	495.10
Mg (MS) (mg/L)	883.54	154.70	261.63
Fe (MS) (mg/L)	19.57	29.52	29.52
Zn (MS) (mg/L)	3.10	1.16	0.56
Cu (MS) (mg/L)	2.35	1.75	0.88
	L*=25.84	L*=27.08	L*=25.92
Color(CIELAB)	a*=0.04	a*=0.35	a*=-0.01
	b*=-0.08	b*=0.87	b*=-0.14
Color (Hue)	Amarillo	Amarillo	Amarillo
SST (mg/L)	17,800 ±424	6,050 ±212	700
SSF (mg/L)	1,200 ±141	200	3,350 ±212
SSV (mg/L)	16,600 ±566	5,850 ±212	17,800 ±424
Sólidos totales (mg/L)	94716 ±4055	26,832 ±1118	43,447 ±1490
Nitrógeno Kjeldhal(mg N/L)	5,561 ±495	660 ±36	843 ±97
pH	3.8	3.7	3.5
Conductividad (mS/cm)	4.16 ±0.05	2.62 ±0.02	3.88 ±0.03
Alcalinidad	ND	ND	ND
DQO (mgO ₂ /L)	122,856 ±2266	54,033±5280	58,500±2970
DBO (mgO ₂ /L)	32,000	26,000 ±1414	22,000 ±2828
Fenoles totales (mg de ácido gálico/L)	542±14	478 ±19	521 ±18

La cantidad encontrada de azúcares totales en las vinazas mezcaleras son de 15-58 mg/L.

La muestra de la mezcalera Artesanal es la que presenta la concentración mayor de azúcares, debido al poco control del proceso, resultando que no se efectúe la fermentación completa de los azúcares presentes.

La cantidad de sulfatos en el medio influye en el proceso de depuración, esto debido a la formación de H_2S , el cual es tóxico y corrosivo (Pandiya *et al.*, 1999). En la tabla 16 se observa que las vinazas mezcaleras contienen sulfatos entre 308 y 841 mg/L, valores inferiores a los reportados de 2, 800 y 3, 100 mg/L por De Bazúa *et al.*, (1990).

El estudio de minerales se realizó a partir de las cenizas obtenidas (3 – 7%). En la tabla 17, se comparan los valores obtenidos en el estudio con los reportados por Madejón, *et al.*, (2000), donde se observa que el hierro es el mineral que muestra mayor variación entre los estudios, al reportarse 203 mg/L por Madejón, y 3.9-6.8 mg/L en este trabajo.

Tabla 17. Tabla comparativa de minerales en vinazas

Mineral	1	2
Na (mg/L)	7.8 – 31.8	28 ± 10
K (mg/L)	31.3 – 77.9	30 ± 10
Fe (mg/L)	3.9 – 6.8	203 ± 23

Notas: 1: Trabajo de investigación. 2: Madejón, *et al.*, 2000.

Los minerales suspendidos son aquéllos que se encuentran disueltos en la fracción acuosa de las muestras, y fueron determinados a partir de la digestión ácida de las vinazas mezcaleras, encontrándose los siguientes valores, Na, 47.5-85.2 mg/L; K, 495.1-565.7 mg/L; Mg, 154.7-883.5; Ca, 816.8-1088.7; Fe, 19.6-29.5 mg/L.

Con respecto al color, las tres muestras compartían el valor amarillo en la escala Hue, siendo la proveniente de la mezcalera Benevá la más clara, debido al proceso de dilución que se efectúa cuando las vinazas son mezcladas con el agua de lavado de equipo, pese a lo anterior, los valores obtenidos del CIELAB para las tres muestras no varían mucho

obteniéndose una luminosidad (L^*) de 25.84, 27.08 y 25.93 para las vinazas de la mezcalera artesanal, Benevá y Fandango respectivamente.

La cantidad de sólidos disueltos en las vinazas es alta, variando de 26, 000 a 95, 000 mg/L, valores similares a los registrados por Jiménez, *et al.*, (2006), de 109, 000 mg/L. Los sólidos disueltos afectan la permeabilidad del suelo, dificultado la filtración y promoviendo la fermentación, lo cual genera malos olores (García, *et al*, 1997).

El Nitrógeno reportado para las muestras de vinazas de origen vitivinícola se encuentra entre 6000 y 7000 mg N/L (Preeti, 2006), cantidades superiores a las encontradas para las vinazas mezcaleras, cuyo valor máximo encontrado fue de 5 500 mg N/L para la muestra de la mezcalera artesanal.

Los valores de pH para las tres muestras de vinazas son ácidos (3.5 – 3.8), provocando la acidificación del agua cuando las vinazas son descargadas en mantos acuíferos, logrando con eso la disolución de algunos metales presentes en la muestra (García, *et al*, 1997). La alcalinidad de una muestra es expresada en base a pH superiores a 4.3 (método estándar 2320), en las muestras de vinazas mezcaleras analizadas, no fue posible cuantificar la alcalinidad debido a su pH inferior a 4.3. Preeti, *et al.*, no reporta valores de alcalinidad, ya que empleó vinazas con pH 3.8-4.0, sin embargo, Pandiyan, *et al.*, si reportan valores de alcalinidad en pH 4.3 y pH 5.75 en vinazas de origen vitivinícola, debido a que éstas últimas presentan un pH de 7.7-8.0.

Basu, (1975), reporta que concentraciones altas de sales (40 mS/cm) pueden causar problemas con la presión osmótica de los microorganismos responsables del proceso anaerobio, efecto que no se presentó en el estudio debido a la concentración de 2-4 mS/cm encontrado en las vinazas.

En la tabla 18 se reportan los promedios de DQO de las principales descargas industriales, donde las vinazas mezcaleras se posicionan como las más contaminantes, por encima de industrias como la curtiduría y del suero lácteo. En comparación con otro tipo de vinazas, podemos observar que las vinazas mezcaleras presentan valores altos de DQO comparados con los reportados para la industria vitivinícola y fuera del rango de la DQO de las melazas, llegando incluso a reportar un máximo de 123, 000 mg de O₂/L.

Tabla 18. Promedio de DQO de acuerdo al giro industrial

Giro industrial	DQO (mg O ₂ /L)	Referencia
Vitivinícola	10,000 – 40,000	1
Suero Lácteo	70, 000	2
Melazas	60,000 – 80,000	3
Textil	2, 500	4
Metálicas básicas	1, 285	5
Curtiduría	2,987	5
Beneficio del café	1,407	5
Azucarera	1,900	5
Alimentaria	2,208	5
Cervecera	1,656	5
Celulosa	4,000 – 7,000	6
Vinazas mezcaleras	54,000 – 123, 000	

1: Javier Benítez, F. *et al.*, 2003; 2: Ergüder, T.H. *et al.*, 2000. 3: Vlyssides, A.G. *et al.*, 1997. 4: Rodríguez Martínez J. *et al.* 2001; 5: Sistema de Actualización de Descargas de Aguas Residuales (Sacdar) de la Comisión Nacional de Agua (CNA); 6: Empresa Lenntech®.

De los valores de DQO obtenidos de las muestras de vinazas mezcaleras, sólo las correspondientes a la mezcalera Artesanal (122,856 mg O₂/L) se encuentra en el rango de DQO reportado por Jiménez, (2005) y Preeti, (2006) entre 100, 000 y 150, 000 mg O₂/L en vinazas de origen azucarero. Lo anterior debido a que las mezcaleras Benevá y Fandango mezclan sus vinazas con agua empleada para el lavado de equipo, provocando con esto una dilución de las vinazas.

Los valores de DBO obtenidos de las vinazas mezcaleras se encuentra en un rango de 22, 000 – 32, 000 mg O₂/L, por debajo de lo reportado para aguas residuales de destilerías de caña, que van de 35, 000 – 50, 000 mg O₂/L (Nandy *et al.*, 2002).

El contenido de materia orgánica alto expresados como DQO y DBO, posiciona a las descargas de vinazas mezcaleras como un problema ambiental. En México no existen normas que regulen la descarga de este tipo de efluentes en suelo o mantos acuíferos, sin embargo, se puede tener una idea de lo necesarias que son, al comparar los datos reportados por la NOM-001-ECOL-1996 para los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas en aguas y bienes nacionales, donde por ejemplo, para descargas en ríos, existe un límite de 40°C, y DBO de 60 mg O₂/L. Los valores presentados por la norma son muy inferiores a los obtenidos para las vinazas mezcaleras donde el valor mínimo de DBO es de 22, 000 mg O₂/L.

Los valores altos de DQO y DBO que presentan las vinazas mezcaleras favorecen la aplicación de un tratamiento anaerobio para su depuración, debido a que éstos son efectivos en aguas residuales con altas cargas orgánicas (Durán-de Bazúa *et al.*, 1990; Lalov *et al.*, 2001), sin embargo, uno de los parámetros que condicionan la efectividad del mismo es la presencia de compuestos fenólicos, los cuales afectan la eficiencia de remoción de

contaminantes al inhibir el crecimiento de las bacterias anaerobias metanogénicas, por lo que es importante conocer la cantidad de fenoles totales en las vinazas, la cual varía entre 478 y 541 mg/L expresados como ácido gálico. Martín *et al.*, (2001), reportan una concentración de 477 mg/L de fenoles, ubicando la cantidad de fenoles en las vinazas dentro del rango. Sin embargo, es preocupante el registro de valores tan altos en la concentración de fenoles, debido a que una concentración mayor a 2 mg/L es tóxica para los peces e incluso concentraciones entre 10 - 100 mg/L provoca la muerte de la vida acuática cuando las vinazas son descargadas en mantos acuíferos (Korbahti, *et al.*, 2002).

6.2 Determinación de la materia orgánica biodegradable

Para calcular la materia orgánica biodegradable de las muestras de vinazas mezcaleras, se implementó un reactor aerobio, en el cual se monitoreó la DQO hasta alcanzar una eficiencia de remoción de contaminantes estable, dicho comportamiento es presentado en la figura 3.

En los primeros días, se nota el proceso de estabilización que sufre el reactor, es por esa razón que se obtienen algunas caídas de la eficiencia de remoción entre los días 40 y 60.

A partir del día 80, el reactor aerobio mantuvo una eficiencia de remoción superior al 90%, porcentaje que mantuvo hasta el término del estudio.

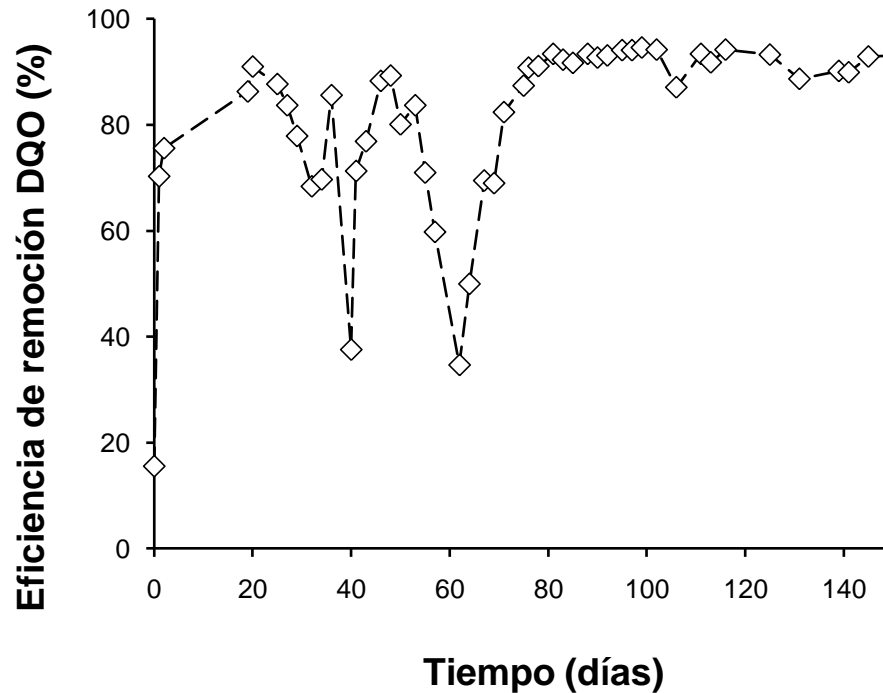


Figura 3. Dinámica de remoción de materia orgánica (como DQO) en cultivo semi-continuo de biomasa suspendida empleando ARS

Una vez estable el reactor aerobio, al no reportar caídas en su eficiencia de remoción, se aclimató el inóculo empleando un reactor aerobio cuyo medio estaba compuesto por vinazas de la mezcalera Benevía diluidas al 5% (V/V) y agua desionizada. El seguimiento de la eficiencia de remoción de contaminantes es presentado en la figura 4.

El factor de diluci3n de las vinazas, se obtuvo a partir de los siguientes calculos:

Demanda Quımica de Oxıgeno Vinazas Benevía (DQO_V) = 54, 033 mg O_2/L

Demanda Quımica de Oxıgeno Inicial del medio (DQO_0) = 2, 562 mg O_2/L

Concentraci3n de vinazas = $(2, 562 * 100) / 54, 033 = 4.7\%$

Factor de diluci3n = $100 / 4.7 = 13.9$

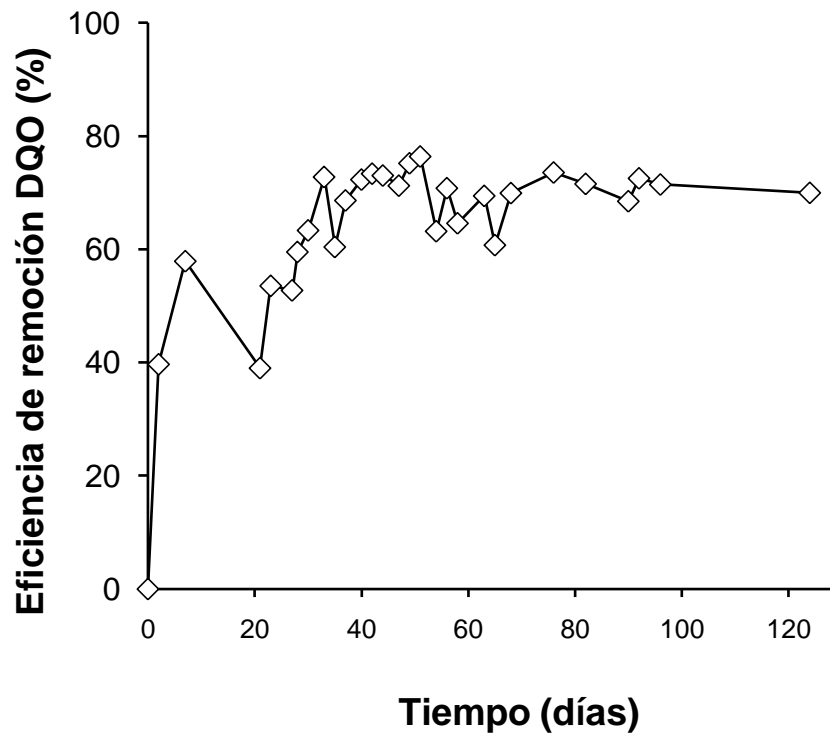


Figura 4. Dinámica de remoción de materia orgánica (como DQO) en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida, empleando VB diluidas al 5% (V/V)

A diferencia del reactor anterior, donde fue necesario un tiempo de 80 días para mostrar estabilización, este reactor empezó a estabilizarse a partir del día 40, logrando mantener una eficiencia de remoción constante del 70% en el día 60.

Una vez estable el reactor con 5% de vinazas, se procedió a realizar las cinéticas para obtener la materia orgánica biodegradable de cada una de las muestras de vinazas mezcladas, los resultados son presentados a continuación.

a) Vinazas de la mezcalera Benevá

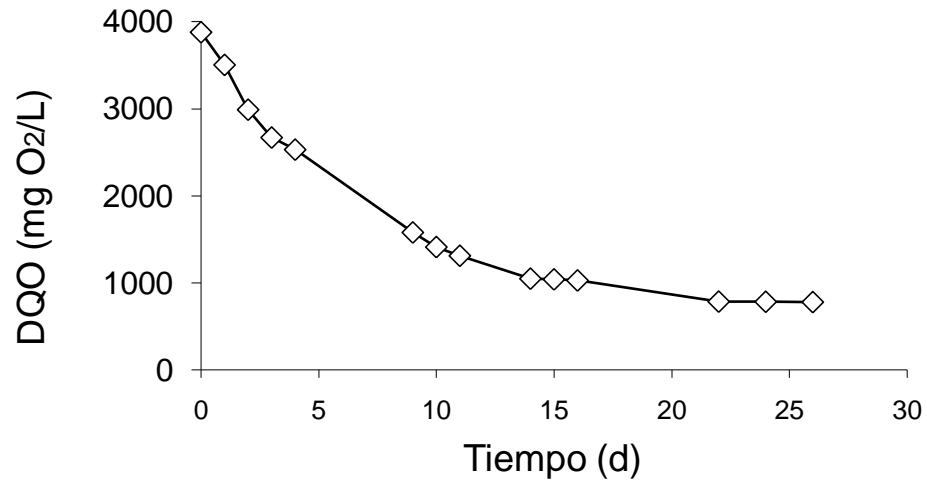


Figura 5. Dinámica de remoción de materia orgánica (como DQO) en cultivo por lote de biomasa suspendida, empleando VB diluidas al 7% (V/V)

En la figura 5, observamos que la DQO disminuyó rápidamente, lo anterior debido al proceso de aclimatación del inóculo al medio. A partir del día 15, las cantidades de DQO se empezaron a mantener constantes, hasta no reportarse cambios a partir del día 22.

Los valores obtenidos de materia orgánica biodegradable fueron de 37, 877 mg O₂/L que representan el 70.1% del total de la materia orgánica. Por lo anterior, las vinazas Benevá presentan un 29.9% de materia orgánica no biodegradable.

El resumen de la información y demás parámetros evaluados son mostrados en la tabla siguiente.

Tabla 19. Datos de la cinética aerobia en vinazas Benevá

DQO_v	54, 033 mg O_2/L
DQO_0	3, 833 mg O_2/L
[Vinazas]	7%
Factor de diluci3n	14
Oxígeno disuelto	3.5 mg O_2/L
B_v	778 mg DQO /L-día
% de DQO biodegradable	70.1
% de DQO no biodegradable	29.9

b) Vinazas de la mezcalera Fandango

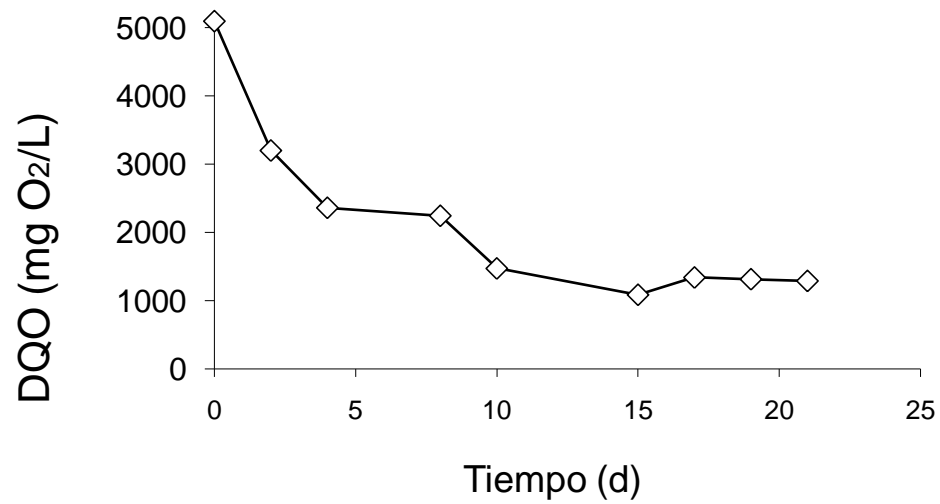


Figura 6. Dinámica de remoci3n de materia orgánica (como DQO) en cultivo por lote de biomasa suspendida, empleando VF diluidas al 10% (V/V)

Debido a que el inóculo empleado para esta cinética fue obtenido del reactor con vinazas Benevía, los microorganismos se encuentran más adaptados a las vinazas, motivo por el cual, los tiempos para la disminución de DQO son más rápidos, obteniéndose a partir del día 15 valores constantes de DQO.

Los valores obtenidos de materia orgánica biodegradable fueron de 45, 220 mg O₂/L que representan el 77.3% del total de la materia orgánica. Por lo anterior, las vinazas Fandango presentan un 22.7% de materia orgánica no biodegradable.

El resumen de la información y demás parámetros evaluados son mostrados en la tabla siguiente.

Tabla 20. Datos de la cinética aerobia en vinazas Fandango

DQO _v	58, 500 mg O ₂ /L
DQO ₀	5, 704 mg O ₂ /L
[Vinazas]	10 %
Factor de dilución	10
Oxígeno disuelto	6.8 mg O ₂ /L
B _v	952 mg DQO /L-día
% de DQO biodegradable	77.3
% de DQO no biodegradable	22.7

c) Vinazas de la mezcalera Artesanal

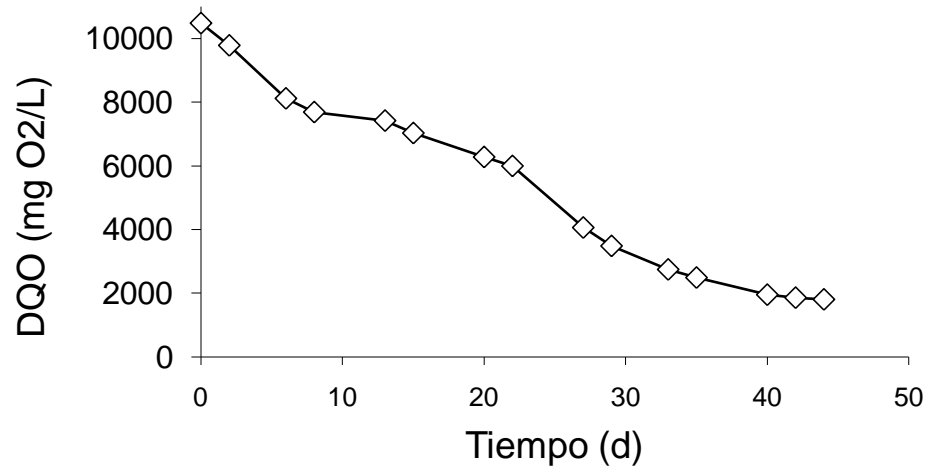


Figura 7. Dinámica de remoción de materia orgánica (como DQO) en cultivo por lote de biomasa suspendida, empleando VA diluidas al 9% (V/V)

A diferencia del reactor anterior, este presentó mayores tiempos para disminuir el contenido de materia orgánica biodegradable, expresada como DQO, lo cual se logró a partir del día 40.

Los valores obtenidos de materia orgánica biodegradable fueron de 99,882 mg O₂/L que representan el 81.3% del total de la materia orgánica. Por lo anterior, las vinazas Artesanal presentan un 18.7% de materia orgánica no biodegradable.

El resumen de la información y demás parámetros evaluados son mostrados en la tabla siguiente.

Tabla 21. Datos de la cinética aerobia en vinazas artesanal

DQO _v	122, 856 mg O ₂ /L
DQO ₀	10, 485 mg O ₂ /L
[Vinazas]	9 %
Factor de dilución	12
Oxígeno disuelto	6.5 mg O ₂ /L
B _v	785 mg DQO/L-día
% de DQO biodegradable	81.3
% de DQO no biodegradable	18.7

Los porcentajes de materia orgánica biodegradable y no biodegradable para cada una de las muestras de vinazas mezcaleras son mostradas en la tabla 22.

Tabla 22. Tabla comparativa de materia orgánica (Mo)

Vinaza	% de Mo no biodegradable	% de Mo biodegradable
Benevá	29.9	70.1
Fandango	22.7	77.3
Artesanal	18.7	81.3

El porcentaje de materia orgánica biodegradable encontrado representa la cantidad de materia orgánica que puede ser eliminada bajo las condiciones establecidas en el estudio (tipo de microorganismo, tratamiento aerobio, etc.), encontrándose un 70.1 – 81.3% en las tres muestras de vinazas, siendo las vinazas Benevá las de menor porcentaje. Lo anterior puede deberse a que fue la primera cinética realizada, y los microorganismos no se encontraban plenamente adaptados al medio, por lo que al realizar las cinéticas posteriores se obtuvieron eficiencias de remoción de contaminantes superiores a las obtenidas en la cinética anterior.

6.3 Obtención del DAI empleando ARS

Se montó un Digestor Anaerobio Inoculador (DAI), con el fin de obtener bacterias anaerobias, para después poder aclimatarlas a un medio con presencia de vinazas. El digestor se mantuvo a una temperatura constante de 37 °C en una estufa de calentamiento seco. Se monitoreó hasta alcanzar una eficiencia de remoción de contaminantes estable.

En la figura 8, observamos que antes del día 45, no se obtuvieron eficiencias de remoción, lo anterior provocado por las altas cargas orgánicas de la excreta de vaca empleada. Una vez que los microorganismos se adaptaron y empezaron a consumir el sustrato, empezó a incrementarse la eficiencia de remoción de manera lenta. A partir de día 100, se obtuvo una eficiencia del 60%, manteniéndose constante a través del tiempo.

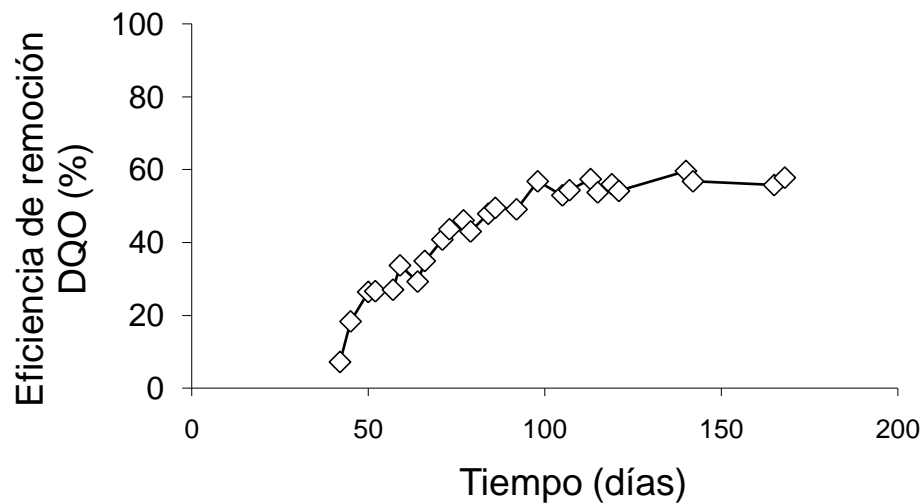


Figura 8. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida, empleando ARS

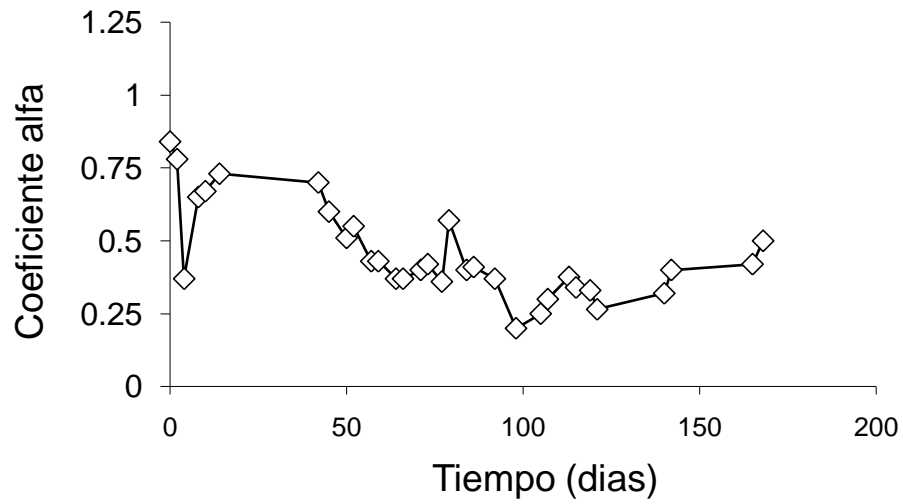


Figura 9. Monitoreo del coeficiente alfa en DAI

El monitoreo del coeficiente alfa, mostrado en la figura 9, se mantuvo la mayor parte del tiempo en valores menores a 0.5, que se interpretan como una estabilidad en el digestor. Los puntos que sobrepasan ese valor se presentaron mayoritariamente al inicio, debido al proceso de estabilización.

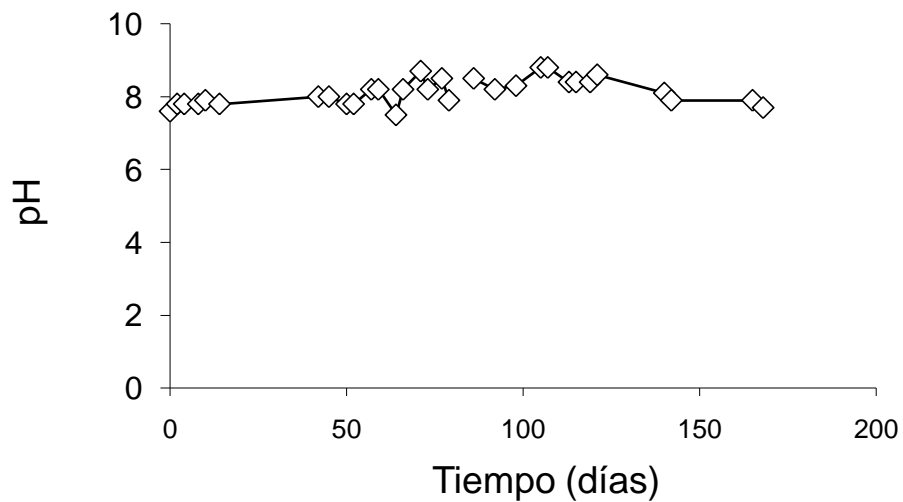


Figura 10. Monitoreo del pH en DAI

El pH se mantuvo alcalino entre 7 y 8 durante todo el tiempo de experimentación.

6.4 Tratamiento anaerobio de las vinazas mezcaleras a nivel matraz empleando diferentes velocidades de carga orgánica

Para llevar a cabo la digestión anaerobia de vinazas de origen mezcalero, se decidió emplear las vinazas mezcaleras procedentes de la mezcalera Benevá debido a su accesibilidad y por el control que tienen sobre el proceso de fermentación, lo cual influye sobre la variabilidad de las características fisicoquímicas del mezcal.

A continuación se muestran los resultados obtenidos para cada una de las cargas orgánicas empleadas.

a) DAV-5%

La composición del medio empleado en el digestor consistió en vinazas de la mezcalera Benevá diluidas al 5% (V/V) con ARS, con una B_v de 732 mg O_2 /L-día. El monitoreo de la eficiencia de remoción de DQO es mostrado en la figura 11. Al igual que en el DAI, el coeficiente alfa se mantuvo por debajo de 0.5 y el pH alcalino entre 7-8.

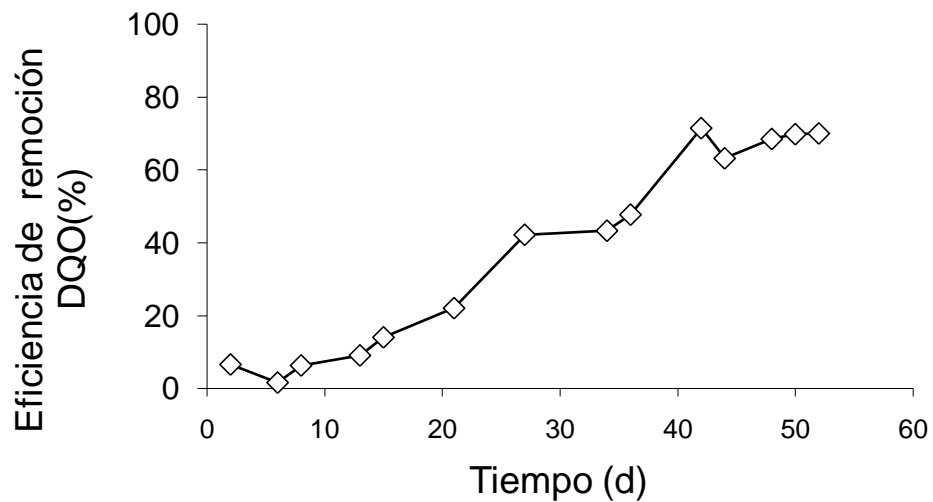


Figura 11. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida, empleando 5% de vinazas

En la figura 11, se observa el proceso de retraso de los microorganismos entre los días 0-12, obteniéndose valores bajos de eficiencia de remoción, a partir del día 15 las eficiencias aumentaron hasta mantenerse constantes a partir del día 40, logrando estabilizarse entre un 70 – 72%.

b) DAV-10%

La composición del medio empleado en el digestor consistió en vinazas de la mezcalera Benevá diluidas al 10% (V/V) con ARS, con una B_v de 952 mg O_2 /L-día. El monitoreo de la eficiencia de remoción de DQO es mostrado en la figura 12. El coeficiente alfa se mantuvo por debajo de 0.5 y el pH alcalino entre 7-8.

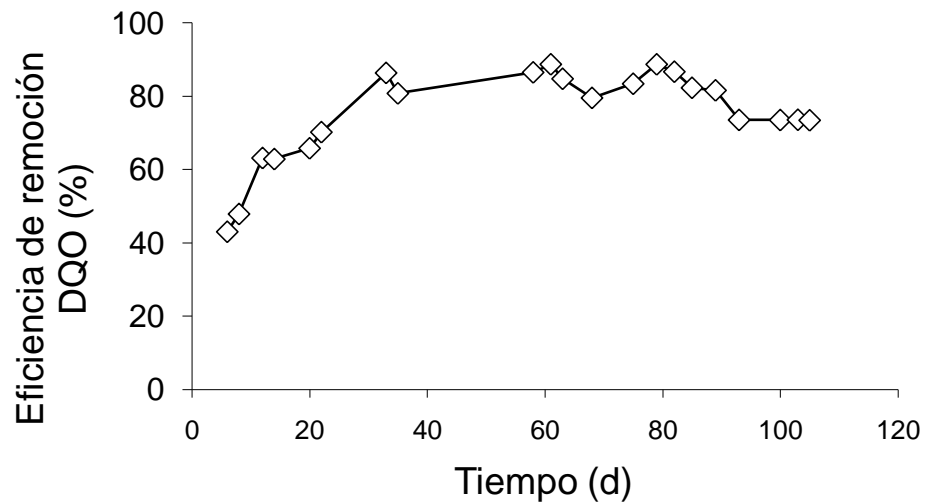


Figura 12. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-continuo de biomasa suspendida, empleando 10% de vinazas

A diferencia del digester anterior, el DAV-10% inició con eficiencias de remoción de 40%, debido al proceso de aclimatación del inóculo en el DAV-5%. Alcanzando también en un tiempo menor, el estado estable, al presentar una eficiencia constante entre 80-82% a partir del día 40.

c) DAV-20%

La composición del medio empleado en el digester consistió en vinazas de la mezcalera Benevá diluidas al 20% (V/V) con ARS, con una B_v de 1392 mg O_2 /L-día. La figura 13 muestra el monitoreo de la eficiencia de remoción de DQO, manteniendo el coeficiente alfa se mantuvo por debajo de 0.5 y el pH alcalino entre 7-8.

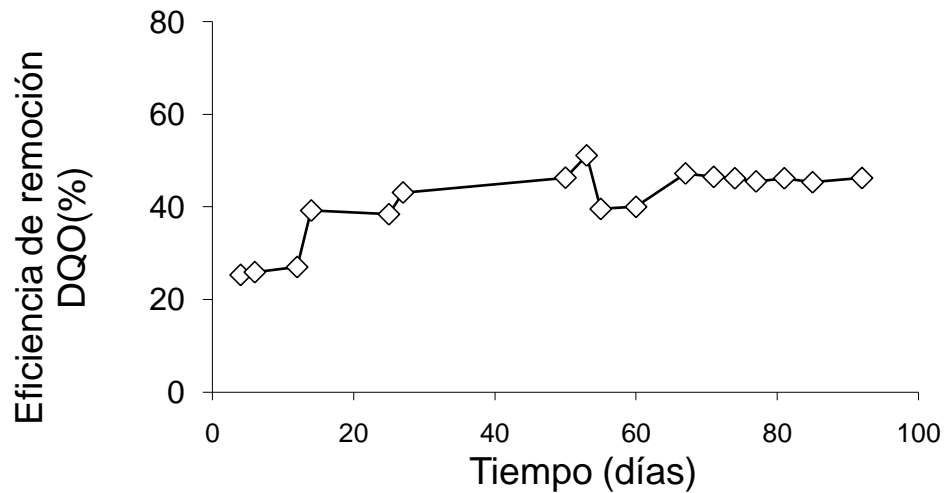


Figura 13. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida, empleando 20% de vinazas

En la figura 13, se presentó un comportamiento similar a los dos digestores anteriores, sin embargo, el porcentaje de eficiencia de remoción fue menor, estabilizándose entre un 40-50%.

d) DAV-30%

La composición del medio empleado en el digestor consistió en vinazas de la mezcalera Benevá diluidas al 30% (V/V) con ARS, con una B_v de 1832 mg O_2 /L-día. El monitoreo de la eficiencia de remoción de DQO es mostrado en la figura 14. El coeficiente alfa se mantuvo por debajo de 0.5 y el pH alcalino entre 7-8.

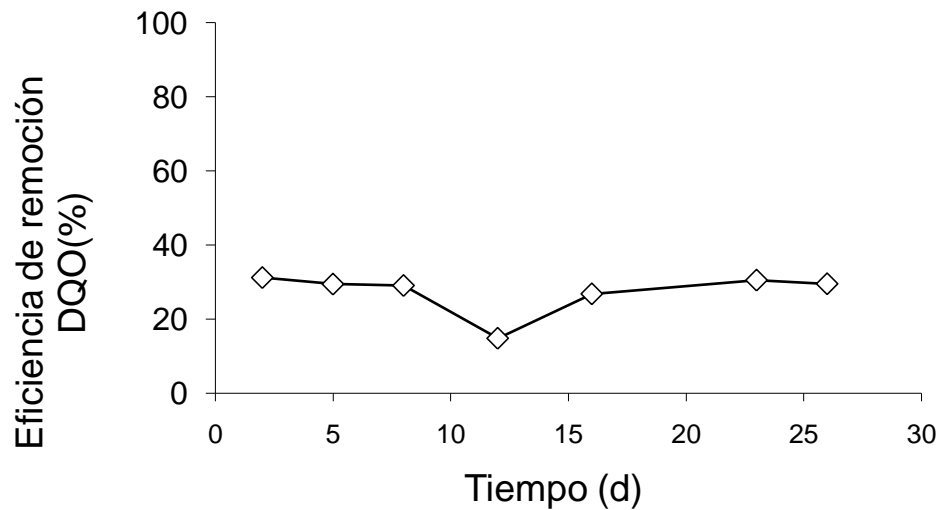


Figura 14. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida, empleando 30% de vinazas

El DAV-30%, presentó eficiencias iniciales menores al 40%, porcentaje que mantuvo hasta el término de la experimentación al día 25. Es notorio que no se observa un proceso de adaptación de los microorganismos, debido a que todo el tiempo se mantiene la eficiencia de remoción.

e) DAV-40%

La composición del medio empleado en el digestor consistió de vinazas de la mezcalera Benevá diluidas en un 40% (V/V) con ARS, con una B_v de 2272 mg O_2 /L-día. El monitoreo de la eficiencia de remoción de DQO es mostrado en la figura 15, manteniéndose el coeficiente alfa por debajo de 0.5 y el pH alcalino entre 7-8.

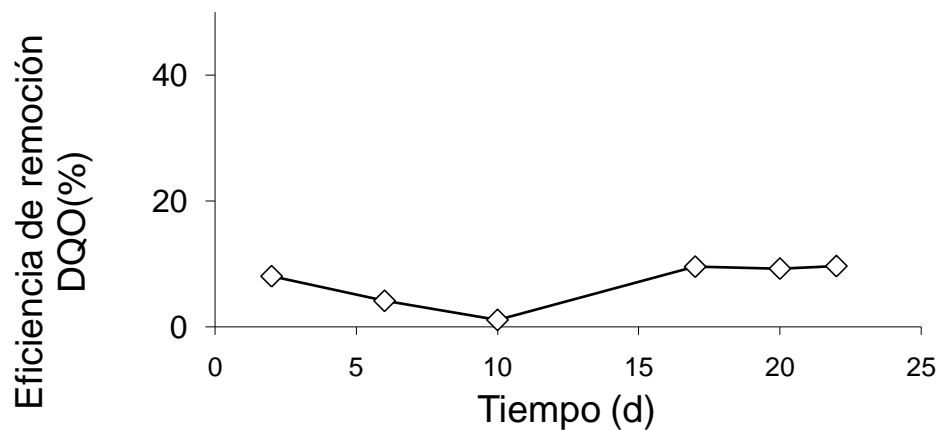


Figura 15. Dinámica de eficiencia de remoción de materia orgánica en cultivo semi-contínuo de biomasa suspendida, empleando 40% de vinazas

El inicio de la cinética fue de manera similar al digester DAV-30%, pero con menores eficiencias, logrando estabilizarse entre un 8-9%.

Después de los datos de eficiencia de remoción obtenidos para el DAV-40%, la presentada por este último sólo era del 9%, concluyendo que la implementación de un reactor con una carga orgánica superior era innecesaria, ya que dicha concentración sería inhibitoria para el crecimiento de las bacterias.

Es importante señalar que para el mantenimiento del coeficiente alfa en valores menores a 0.5 y el pH alcalino (7-8) se adicionó bicarbonato de sodio (4 g/L) cuando fue necesario. También para contrarrestar el efecto del pH ácido del medio de alimentación de cada uno de los digestores debido al pH ácido de las vinazas, fue necesario el ajuste del pH del medio en valores neutrales.

En la tabla 23, se muestra un comparativo de las eficiencias de remoción en cada uno de los digestores.

Tabla 23. Tabla comparativa de eficiencia de remoción en los DAV

% ARI	Bv (mg O ₂ /L-día)	% de eficiencia de remoción
5	732	70-72
10	952	80-82
20	1392	40-50
30	1832	20-25
40	2272	8-9

La tendencia al decaimiento de la eficiencia de remoción es proporcional al incremento de la carga orgánica, a excepción del segundo digestor, que presenta eficiencias mayores al primero. El comportamiento anterior puede deberse a que para el primer digestor se empleó inóculo obtenido del DAI, mientras que para el DAV-10% el inóculo fue tomado del DAV-5%, cuyas bacterias ya se encontraban aclimatadas al medio que contenía vinazas. La aclimatación de las bacterias a las vinazas también explica la reducción en los tiempos para el alcance de un estado estable en la eficiencia de remoción de contaminantes.

Por otro lado se observó en el medio de reacción un cambio de color, el cual era más oscuro que el inicial, esto puede deberse a que los compuestos fenólicos (ácidos húmicos) de la materia prima y las melanoidinas resultantes de la reacción de Maillard se re-polimerizan incrementando el color en los efluentes anaerobios (Kort, 1979).

De las cinco diferentes velocidades de carga orgánica empleadas, la correspondiente a 952 mgO₂/L-día (10% Vinazas), fue la que presentó mejores eficiencias de remoción de contaminantes, logrando remover hasta el 82% de la materia orgánica presente en el medio. Es importante señalar que a pesar de lo anterior, los valores de DBO aún son superiores a los permitidos por la NOM-001-ECOL-1996, en la cual existe un límite de DBO de 60 mg O₂/L, por lo que es necesario la realización de un pre o post tratamiento (Químico-biológico) de las vinazas mezcaleras con el fin de disminuir el contenido de materia orgánica presente y cumplir con lo especificado en la NOM-001-ECOL-1996.

7. CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica de las vinazas mezcaleras reportó alto contenido de materia orgánica (DBO, 22 000-32 000, y DQO, 54 033-122 856 mg O₂/L), pH ácidos (3.5-3.8), alta concentración de fenoles (478-541 mg ácido gálico/L), color pardo debido a la presencia de melanoidinas, 15 -58 mg/L de azúcares totales, 308-842 mg de SO₄, 290-1705 mg de PO₄, 660-5561 mg de N/L, conductividad en un rango de 2.6 a 4.2 mS/cm, alta cantidad de Sólidos Suspendedos Totales (700-17800 mg/L), 3-6.4 % de cenizas, minerales(Na, 7.8-31.8 mg/L; K, 31.3-77.9 mg/L; Mg, 17.3-103.7 mg/L; Ca, 62.2-124.4 mg/L; Fe, 3.9-6.8 mg/L) y minerales suspendidos (Na, 47.5-85.17 mg/L; K, 495.1-565.7 mg/L; Mg, 154.7-883.54; Ca, 816.82-1088.68; Fe, 19.57-29.52 mg/L). El porcentaje de materia orgánica biodegradable en las muestras de Vinaza artesanal, Vinaza Fandango y Vinaza Benevía fue de 81.3, 77.3 y 70.1% respectivamente.

Se obtuvo un consorcio de microorganismos anaerobios con la capacidad de emplear las vinazas como fuente de carbono y energía a partir de excreta de vaca y una muestra de lodos activados de la planta de tratamiento de la Universidad Tecnológica de la Mixteca.

Al emplear en un sistema anaerobio a nivel matraz diferentes velocidades de carga orgánica, se logró remover entre un 80-82% de materia orgánica, al emplear una velocidad de carga orgánica de 952 mg O₂/L-día.

8. PERSPECTIVAS

El presente trabajo forma parte de un proyecto de investigación que tiene como objetivo la remoción de contaminantes presentes en vinazas mezcaleras empleando sistemas bióticos y abióticos, su aportación fue conocer su composición fisicoquímica, así como la obtención del inóculo anaerobio, el cual se empleará en la etapa del tratamiento biológico. En un futuro se espera aplicar dicha investigación en el diseño de trenes de tratamientos, que ayuden a reducir el grado de contaminación y subsanar el deterioro ambiental ocasionado por las vinazas mezcaleras.

Realizar la identificación de los principales grupos bacterianos encontrados en el consorcio anaerobio aislado mediante técnicas de biología molecular.

Determinar los parámetros cinéticos del consorcio anaerobio empleando vinazas mezcaleras como sustrato y compararlos con los datos cinéticos obtenidos (Anexo E).

Encontrar el modelo cinético que se adapte a los datos obtenidos experimentalmente, con el fin de encontrar las condiciones óptimas de operación de sistemas de tratamiento de vinazas mediante el uso de simulación.

9. REFERENCIAS

1. Benítez, F.J., Real, F., Acero, J., García, J., Sánchez, M. **2003**. "Kinetics of the ozonation and aerobic biodegradation of wine vinasses in discontinuous and continuous processes". *Journal of Hazardous Materials B101*. Pág. 203-218.
2. Bourbonnais, R. Paige, M. Reid, I. Lanthier P, Yagucho, M. **1995**. "Lignin Oxidation by Laccase Isozymes from *Trametes versicolor* and Role of the Mediator 2,29-Azinobis(3-thylbenzthiazoline- 6-Sulfonate) in Kraft Lignin Depolymerization". *Applied and environmental microbiology*. Pág. 1876–1880.
3. Coca, M.; Peña, M.; González, G.; **2005**. "Variables affecting efficiency of molasses fermentation wastewater ozonation". *Chemosphere*. Pág. 1408-1415.
4. Durán-De Bazúa, D, C., Cabrero, M., Poggi, M. **1991**. "Vinasses Biological Treatment by Anaerobic and Aerobic Processes: Laboratory and Pilot-Plant Tests". *Bioresource Technology*. Vol. 35. Pág. 87-93.
5. García, I.; Bonilla, J.; Jiménez, P.; Ramos, E. **1997**. "Biodegradation of phenol compounds in vinasse using *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*" *Wat. Res.* Pág. 2005-2001.
6. Hach water analysis handbook. 1997. Chemical oxygen demand. Reactor digestion method. Hach Company. 2nd edición. Colorado, USA. Pág. 494-495. Aprobado por la EPA, Reg. Federal **45** (78): 26811-26812, abril 21 de 1980.
7. Jiménez, A.M., Borja, R., Martín, A., Rasposo, F. **2006**. "Kinetic analysis of the anaerobic digestion of untreated vinasses and vinasses previously treated with *Penicillium decumbens*". *Journal of Environmental management*. Vol.80, Pág. 306-310.
8. Körbahti, B.; Tanyolac, A.; **2003**. "Continuous electrochemical treatment of phenolic wastewater in a tubular reactor". *Water Research*. Pág. 1505-1514.
9. Kuskoski, M.; Asuero, A.; Troncoso, A.; Mancini, J.; Fett, R. **2005**. "Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos", *Ciencia y Tecnología de alimentos*.
10. Lavov, I. Krysteva, M. Phelouzat, J.; 2001. "Improvement of biogas production from vinasses via covalently immobilized methanogens". *Bioresource Technology*. Vol. 79. Pág. 83-85.
11. Mansilla, H. Lizama, C. Gutarra, A. Rodríguez, J. "Tratamiento de los residuos líquidos de la industria de celulosa y textil" **2006**. *Ciencia y tecnología para el desarrollo*.

12. Martín, M.; Raposo, F.; Borja, R.; Martín, A. **2002**. "Kinetic study of the anaerobic digestion of vinasses pretreated with ozone, ozone plus ultraviolet light, and ozone plus ultraviolet light in the presence of titanium dioxide". *Process Biochemistry*. Vol. 27. Pág. 699-706.
13. Pandiyan, T.; Durán, T.; Ilangovan, K.; Noyola, A. **1999**. "¹³C NMR Studies on vinasses effluent treated with iron". *Wat. Res.* Vol. 33. Pág. 189-195.
14. Pant, D.; Adholeya, A. **2007**. "Biological approaches for treatment of distillery wastewater: A review". *Bioresource Technology*. Pág. 2321-2334.
15. Papinutti, V.; Diorio, L.A.; Forchiassin, F. **2003**. "Degradación de madera de álamo por *Fomes sclerodermeus*: producción de enzimas ligninolíticas en aserrín de álamo y cedro. *Revista Iberoamericana de Micología*. Vol. 20. Pág. 16-20.
16. Pérez, M.; Romero, L.; Sales, D. **1999**. "Anaerobic thermophilic fluidized treatment of industrial wastewater: Effects of F:M relationship". *Chemosphere*. Vol. 38. Pág. 2443-3461.
17. Portable Multiparameter Meter. User Manual. Hach. **2001**. Segunda Edición. Pág. 27-40.
18. Rajikumar, D.; Palanivelu, K.; 2004. "Electrochemical treatment of industrial wastewater". *Journal of Hazardous Materials*. Pág. 123-129.
19. Sangave, P.; Gogate, P.; Pandit, A. **2007**. "Combination of ozonation with conventional aerobic oxidation". *Chemosphere*. Vol. 68. Pág. 32-41.
20. Steffen, K.T.; Hatakka, A.; Hofrichter, A. **2002**. "Removal and mineralization of polycyclic aromatic hydrocarbons by litter-decomposing basidiomycetous fungi". *Apply Microbiology Biotechnol.* Vol. 60. Pág. 212-217.
21. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **1995**. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 19 ed., New York. pág 5-2 a 5-12.
22. Tejada, M.; Moreno, J.; Hernández, M.; García, C.; **2007**. "Application of two beet vinasse forms in soil restoration: Effects on soil properties in an arid environment in southern Spain". *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Vol. 119. Pág. 289-298.
23. Vlyssides, A.; Israilides, C.; Loizidou, M.; Karvouni, G.; Mourafeti, V. **1997**. "Electrochemical Treatment of Vinasse from beet molasses". *Wat. Sci Tech.* Vol. 36. Pág. 271-278.
24. Yavuz, Y. **2007**. "EC and EF processes for the treatment of alcohol distillery wastewater". *Separation and Purification Technology*. Vol. 53. Pág. 135-140.
25. Sheli, C.; Moletta, R. **2007**. "Anaerobic treatment of vinasses by a sequentially mixed moving bed biofilm reactor. *Water Science & Technology*. Vol 56. Pág. 1-7.
26. Martín, M.; Bonilla J.; Martín, A.; García, I. **2005**. "Estimating the selectivity of ozone in the removal of polyphenols from vinasse". *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. Vol. 80. Pág. 433-438.
27. Ramírez, O.; Molina, M. **2005**. "Evaluación de parámetros cinéticos para la *Sacharomyces cerevisiae*". *Revista Ingeniería*. Vol. 15. Pág. 91-102.

9.1 Otras fuentes consultadas

1. Estudio de las necesidades estratégicas de investigación, validación, y transferencia de tecnología en el estado de Sinaloa. www.fps.org.mx/imagenes/que_hacemos/programa/datos/SORGO.pdf, accesado el 7 de agosto del 2007.
2. Víctor Manuel Chagoya Méndez, representante no gubernamental del Sistema de Producción de la bebida ante el Consejo Mexicano de Productores de Maguey-Mezcal. "Carece de certificación 60% del mezcal en México." www.elporvenir.com.mx accesado el 7 de agosto del 2007.
3. www.electrozono.com/generalidades.asp. "Generalidades sobre el ozono", accesado el 19 de Noviembre del 2007.
4. <http://env.snu.ac.kr/res-AOPs.html>. "Electrochemical Techniques for Fenton's Reagents Generation". Accesado el 19 de Noviembre del 2007.
5. The Folin-Ciocalteu Colorimetric Reaction, taninos.tripod.com/metododenisfolin.htm, accesado el 8 de Enero del 2008.
6. J. Valls, M. Lampreave, M. Nadal y L. Arola. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza.
7. <http://cabierta.uchile.cl/revista/15/articulos/pdf/edu4.pdf>. "Coagulación y floculación de contaminantes del agua". Accesado el 19 de Noviembre del 2007.

APÉNDICES

A. Curva de calibración para la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

a) Preparación de los Estándares de 100, 300 y 500 ppm de Biftalato ácido de potasio ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$).

Se disolvió 0.425 g de Biftalato de potasio, previamente secado en una estufa a 100 °C por 1 hora, en agua desionizada y se aforó a 1 L. Esta solución demanda 500 mg de O_2/L para su oxidación, ya que la DQO teórica de este compuesto es de 1.176 mg de O_2/mg de biftalato. A partir del estándar de 500 ppm de Biftalato ácido de potasio previamente, se prepararon los estándares de 100 y 300 ppm.

b) Procedimiento.

La determinación de la Demanda Química de Oxígeno, se realizó de acuerdo al Método 8000 del reactor Hach, realizándose por triplicado.

Tabla A1. Resultados de los estándares

Estándar	Absorbancia	Promedio
100	0.091;0.104;0.076	0.098
300	0.223;0.230;0.229	0.227
500	0.339;0.334;0.373	0.349

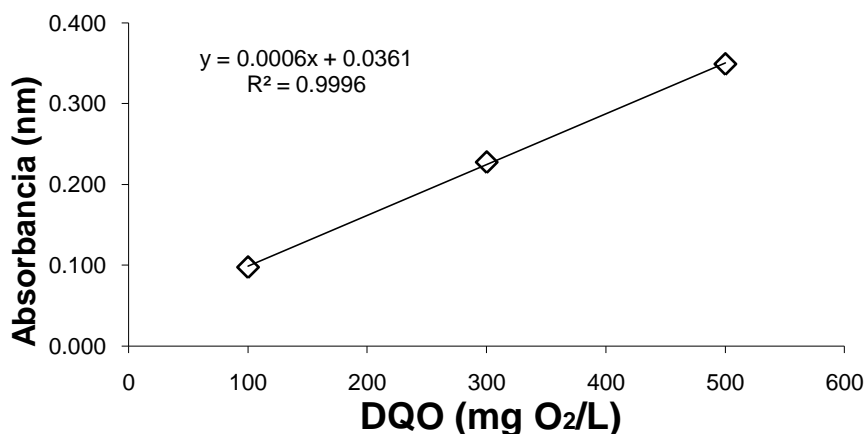


Figura A1. Curva de calibración para DQO

B. Curva de calibración de Fructosa

a) Preparación de los Estándares de 30, 40, 70 y 100 ppm de Fructosa.

Se disolvió 0.01 g de fructosa, previamente secado en una estufa a 100 °C por 1 hora, en agua desionizada y se aforó a 1 L. Esta solución contiene 100 ppm de Fructosa. A partir del estándar de 100 ppm de fructosa, se prepararon los estándares de 30, 40, 70 y 100 ppm.

b) Procedimiento.

La determinación de azúcares totales, se realizó de acuerdo al Método Fenol-Ácido Sulfúrico de Dubois Hamilton y Smith. Las muestras se realizaron por triplicado

Tabla B1. Resultados de los estándares

Estándares (mg Fructosa/L)	Absorbancia	Promedio
20	0.256;0.286;0.227	0.257
40	0.370;0.366;0.390	0.375
70	0.730;0.750;0.740	0.740

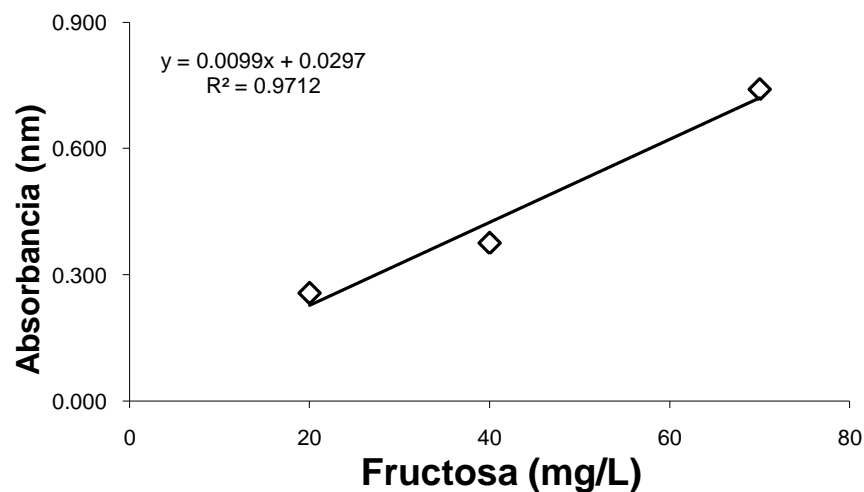


Figura B1. Curva de calibración para azúcar total.

C. Estándares para la Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.

a) Preparación del Estándar de 1000 ppm de Ácido Gálico.

Se disolvió 0.1 g de Ácido Gálico, en agua desionizada y se aforó a 100 mL. Esta solución contiene 1000 ppm de Ácido Gálico. A partir del estándar de 1000 ppm de Ácido Gálico, se prepararon los estándares de 100, 200, 300, 600, 700 y 800 ppm.

b) Procedimiento.

La determinación de fenoles totales, se realizó de acuerdo al Método de Folin-Ciocalteu.

Tabla C1. Resultados de los estándares

Estándar mg de ácido gálico/L	Absorbancia promedio
100	0.112
200	0.262
300	0.388
600	0.789
700	0.969
800	1.014
1000	1.238

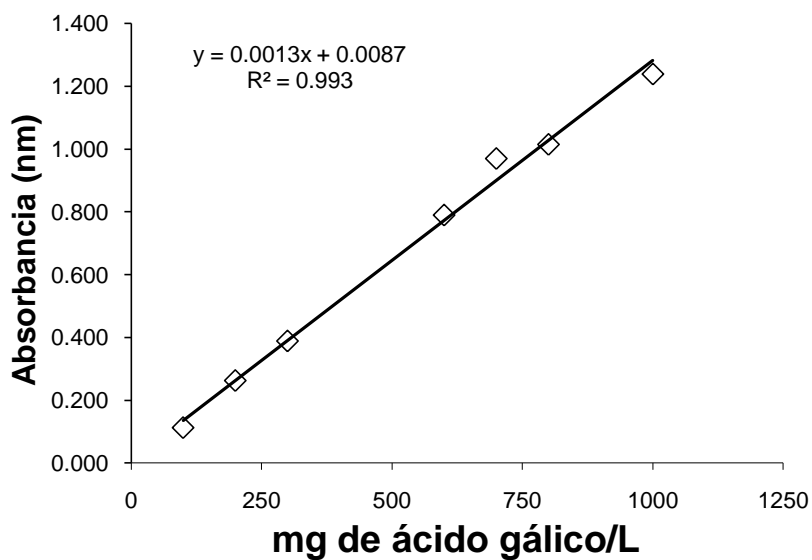


Figura C1. Curva de calibración para fenoles.

D. Diagramas de proceso

Figura D1. Caracterización fisicoquímica de las vinazas mecaleras

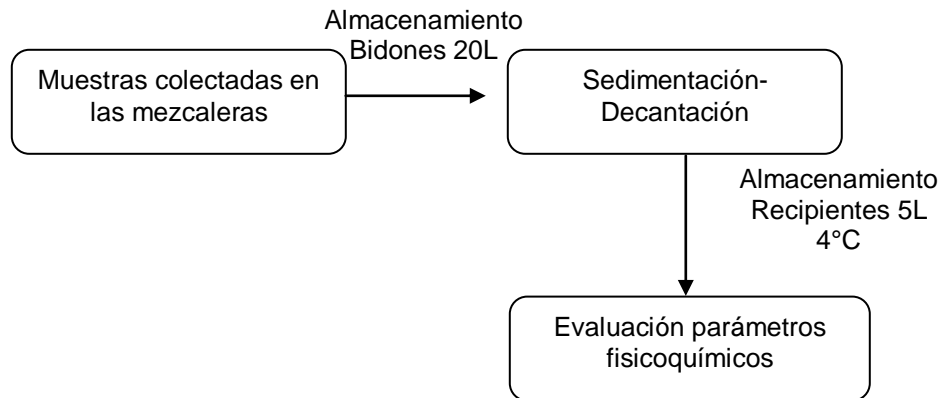


Figura D2. Determinación de la materia orgánica biodegradable. Obtención del inóculo aerobio

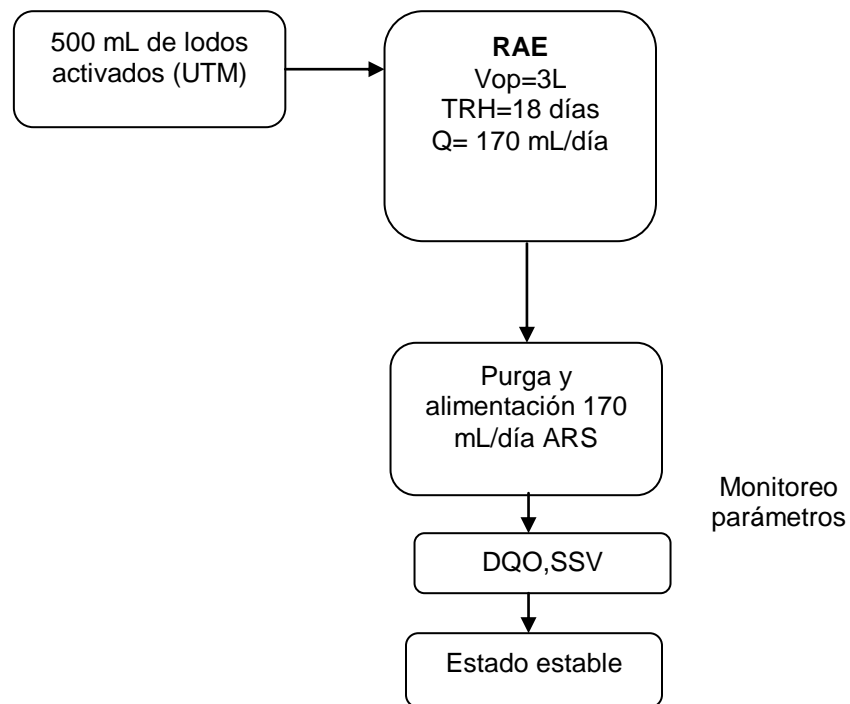


Figura D3. Determinación de la materia orgánica biodegradable. Aclimatación del inóculo con vinazas mezcaleras

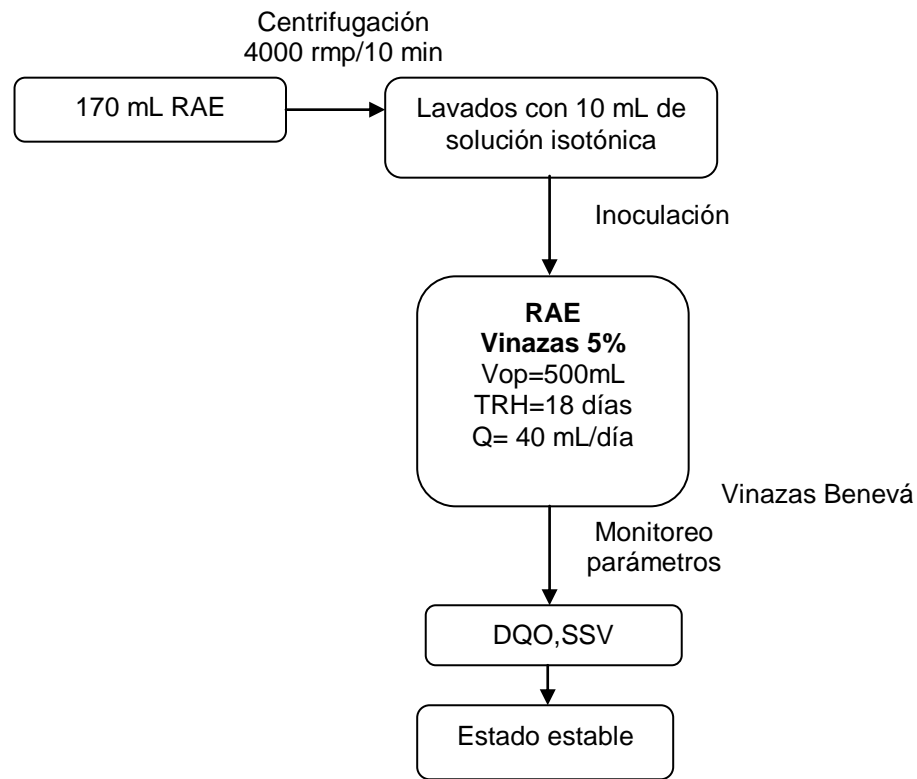


Figura D4. Determinación de la materia orgánica biodegradable. Determinación en las muestras de vinazas

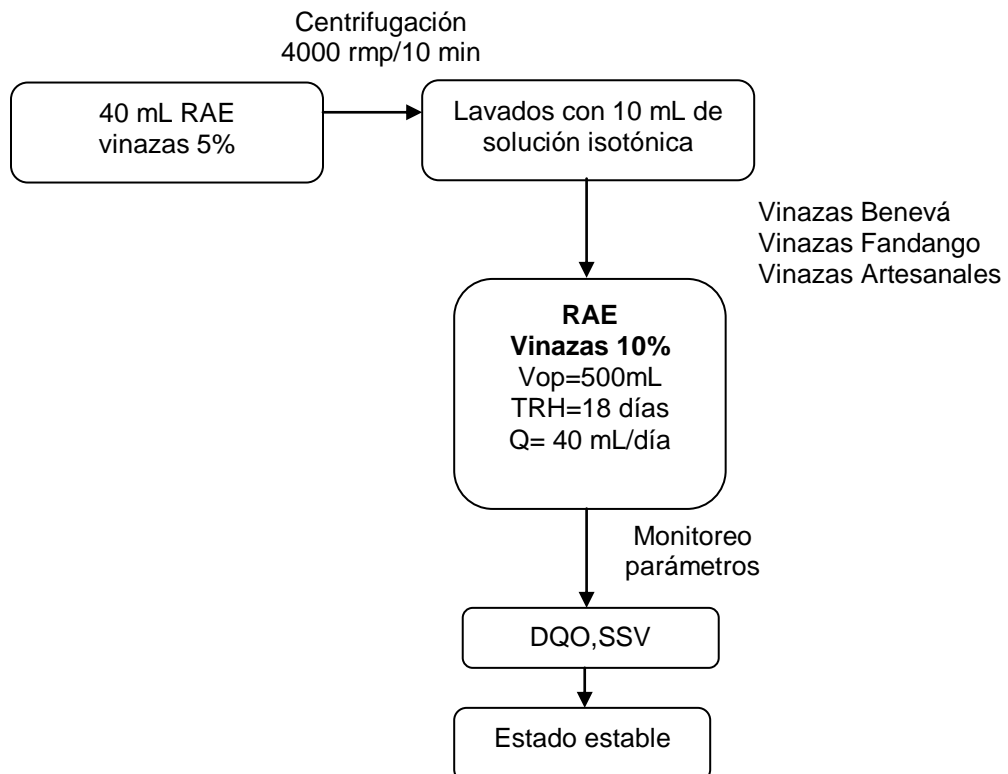


Figura D5. Obtención del DAI empleando ARS

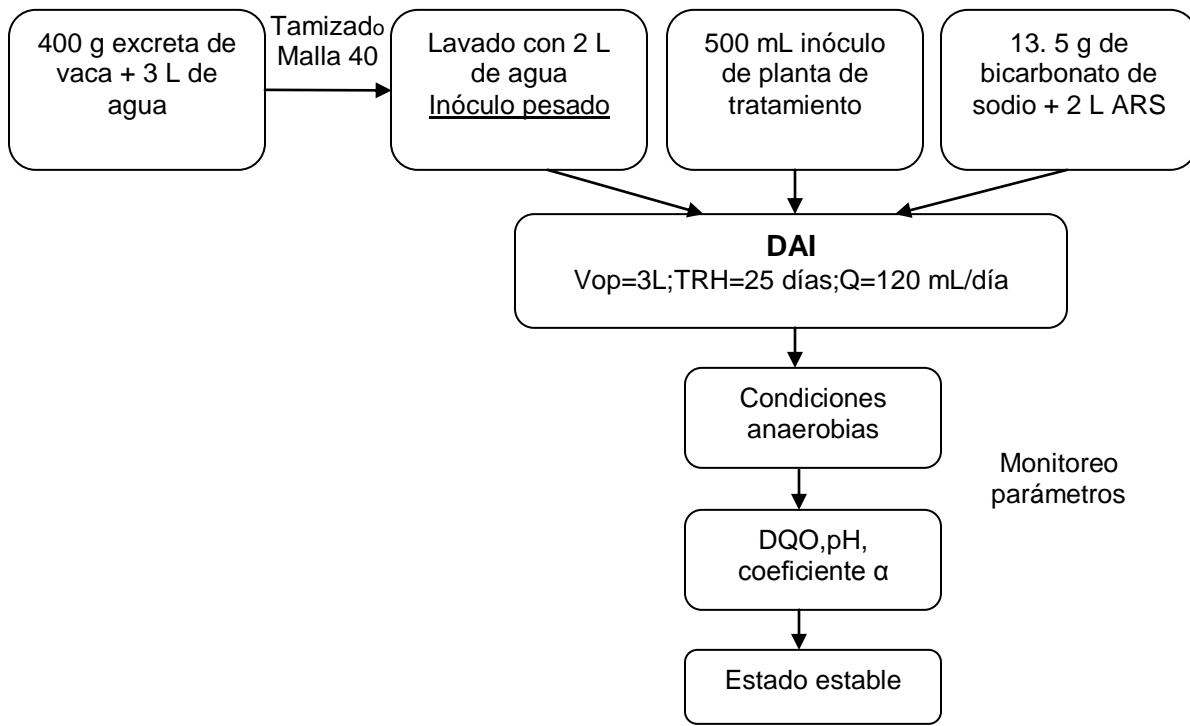
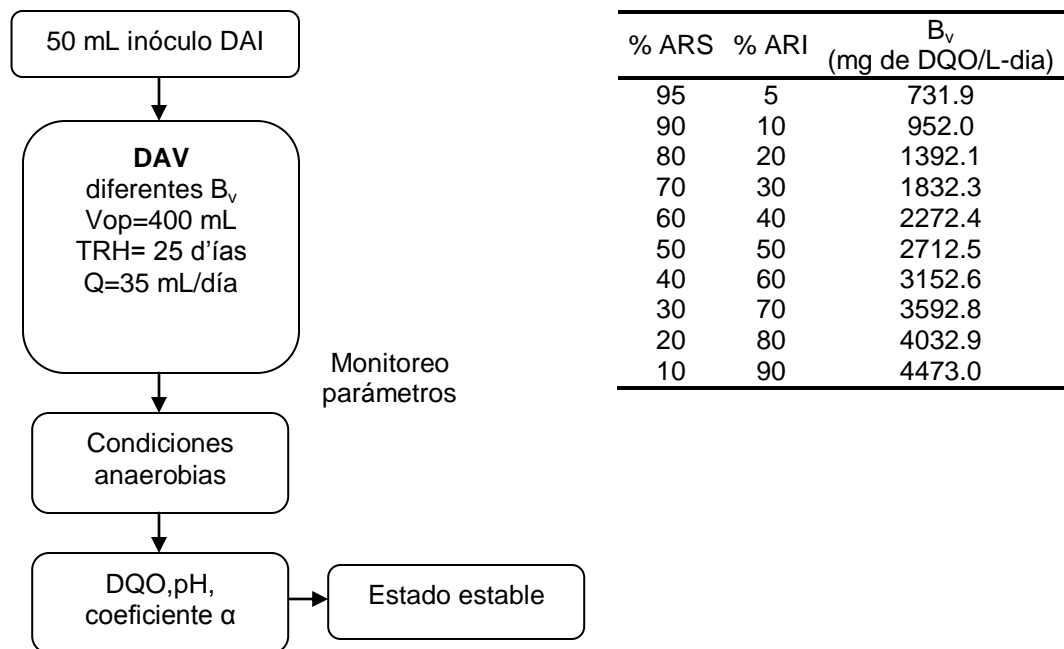


Figura D6. Tratamiento anaerobio de las vinazas mezcaleras a nivel matraz, empleando diferentes velocidades de carga orgánica



E. Determinación de los coeficientes cinéticos (Y , K_s y μ_{max})

En comparación con los sistemas químicos, los sistemas microbianos presentan una gran complejidad debido a que efectúan infinidad de reacciones bioquímicas catalizadas por compuestos y enzimas. La transformación de esa complejidad a un modelo matemático de mínima complejidad, es pieza clave para poder describir con un grado aceptable de aproximación el comportamiento real del sistema microbiano. Para llevar a cabo la tarea anterior, es necesario conocer los parámetros que describen a cada tipo de microorganismo debido a que poseen características únicas de velocidad de crecimiento, afinidad por el sustrato, entre otros parámetros, haciendo indispensable el conocimiento de estos parámetros para poder llevar a cabo la simulación (Galindez, J. y Ruíz, N., 1994).

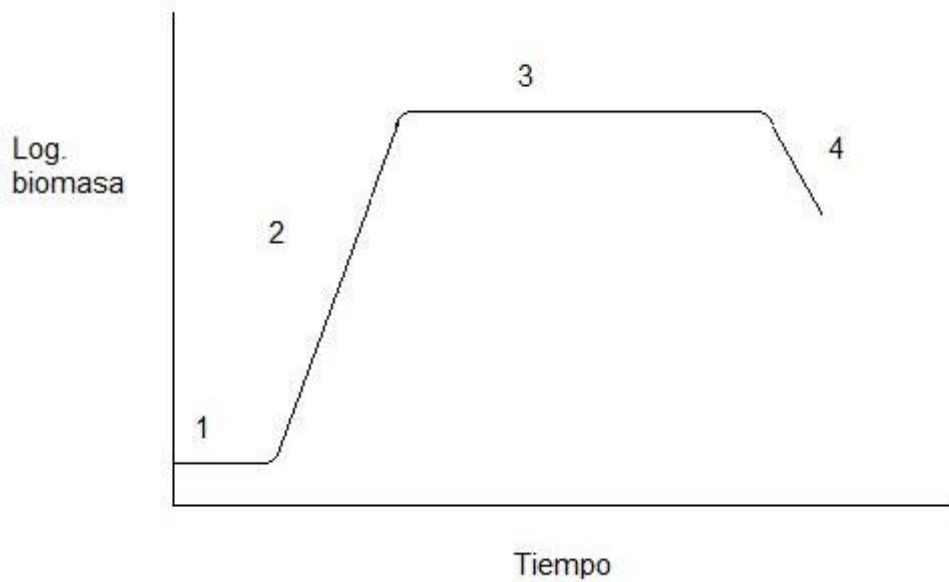
Definiendo algunos de los parámetros cinéticos más empleados (Metcalf-Eddy, 1985).

- Y = Coeficiente de producción máxima medido durante cualquier período finito de la fase de crecimiento logarítmico, definido como la relación entre la masa de las células formadas y la masa de sustrato consumido, masa/masa.
- K_s = Constante de velocidad media, concentración del sustrato para la mitad de la tasa máxima de crecimiento, masa/unidad de volumen.
- μ_{max} = Tasa de crecimiento específico máxima, tiempo⁻¹.

Cuando los parámetros cinéticos de un cultivo microbiano se desconocen, su determinación debe realizarse en un sistema por lote, donde el crecimiento microbiano y la concentración de sustrato puedan ser monitoreados durante un período de tiempo determinado (Ramírez, 2005).

Cuando una población bacteriana es transferida a un nuevo medio de cultivo líquido comienza a multiplicarse de acuerdo con la dinámica que se presenta en la figura E1. Pueden distinguirse las cuatro fases principales en el crecimiento de una población bacteriana (De la Rosa, 1997).

Figura E1. Curva de crecimiento microbiano



1. Fase lag: período de adaptación antes de comenzar a multiplicarse.
2. Fase exponencial: la multiplicación bacteriana se acelera y en cada generación se produce un número de bacterias proporcional a las existentes.
3. Fase estacionaria: se alcanza cuando el número de bacterias se encuentra estable.
4. Fase de declive: las bacterias comienzan a morir.

Debido a su importancia, se determinaron los parámetros cinéticos del consorcio anaerobio aislado, empleando como fuente de carbono a la glucosa debido a que es un carbohidrato simple de fácil asimilación para los microorganismos (Lehninger, 1990), así mismo su carácter reductor permitió su evaluación empleando la técnica de azúcares reductores, cuyo monitoreo se realizó de manera práctica y sin errores.

La determinación de los parámetros cinéticos se realizó de acuerdo a las siguientes etapas.

i) Aclimatación del inóculo con glucosa

Se tomaron 150 mL de inóculo del DAV-10%, debido a que presentó mayor eficiencia de remoción de contaminantes. Se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos y se resuspendió en un matraz Erlenmeyer que contenía 500 mL de una solución de glucosa de 12 g/L, concentración cuya DQO fue de 12,480 mg O₂/L, similar a la DQO inicial obtenida para el DAV-10%, del cual procedía el inóculo. Se mantuvo en condiciones anaerobias mediante el desalojo de oxígeno con gas nitrógeno durante dos minutos. La temperatura del digestor se mantuvo en 37 °C. El digestor se mantuvo por 4 días.

ii) Determinación de los parámetros cinéticos Y , K_s y μ_{max}

Una vez finalizada la aclimatación, toda la muestra fue centrifugada a 4000 rpm por 10 minutos, obteniéndose la mayor cantidad posible de biomasa, la cual fue resuspendida en un matraz Erlenmeyer que contenía 1000 mL de una solución de glucosa de 12 g/L. Se mantuvo en condiciones anaerobias mediante el desalojo de oxígeno con gas nitrógeno durante dos minutos. La temperatura del digestor se mantuvo en 37 °C.

Se determinó la biomasa (Método Estándar 2540 E) y el sustrato (Azúcares reductores-Fehling) a las 0, 4 y 8 horas, donde no se registraron diferencias en las concentraciones de biomasa y sustrato, procediendo a efectuar cada 24 horas las mediciones. Se monitoreó hasta obtener concentraciones de sustrato constantes, que indicaron el final de la cinética.

Para la determinación de los coeficientes cinéticos, se empleó la metodología empleada por Ramírez, (2006), donde el valor de μ_{max} se obtiene a partir de la pendiente máxima de la fase exponencial en la curva de crecimiento del microorganismo y la K_s es aproximadamente igual a la concentración de sustrato del medio de cultivo para la fase estacionaria del crecimiento del microorganismo.

Se realizó una cinética anaerobia por lote, empleando el inóculo obtenido del DAV-10% y glucosa como sustrato en el medio, cuyos resultados de biomasa (X) y sustrato (S) son mostrados en la tabla E1.

Tabla E1. Datos experimentales de la cinética anaerobia

Tiempo (h)	X (g _{biomasa} /L)	S (g _{glucosa} /L)
0	1.6	12
4	1.6	10.3
8	1.6	9.6
26	1.55	9.32
50	1.625	8.68
74	2.05	6.6
98	2.1	6
122	1.6	5.8

Las gráficas de X y S con respecto al tiempo (horas) son mostradas a continuación.

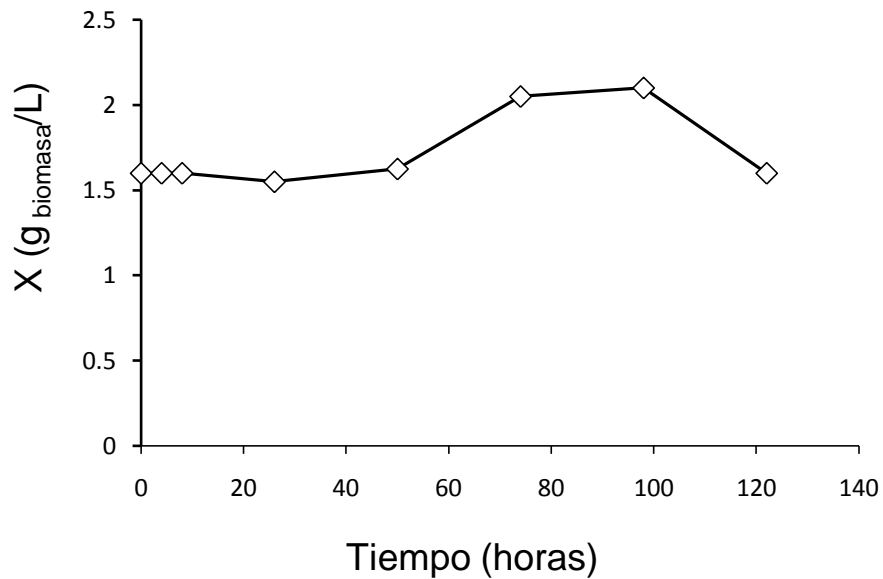


Figura E2. Comportamiento de la biomasa con respecto al tiempo

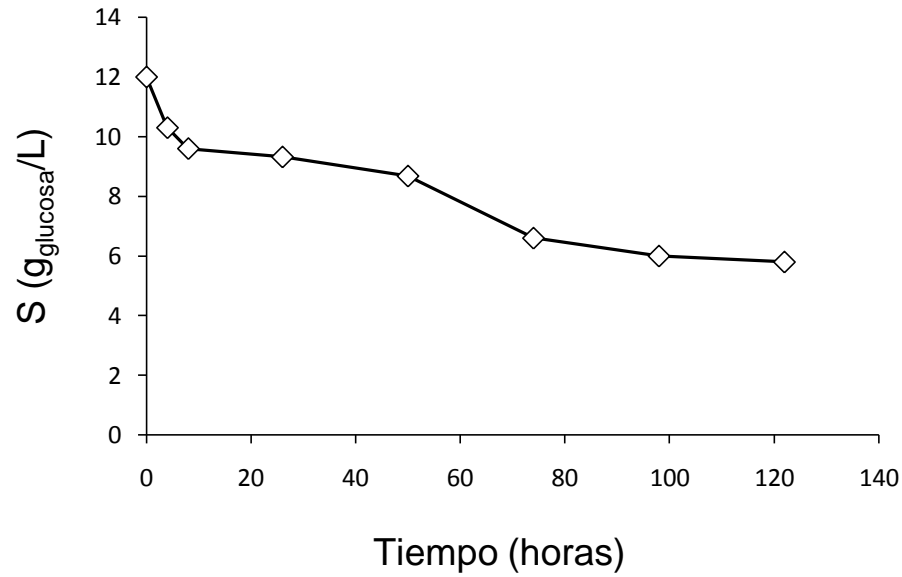


Figura E3. Consumo de sustrato con respecto al tiempo

Para la determinación del coeficiente μ_{max} , se procedió a calcular la pendiente de la fase exponencial del crecimiento microbiano, correspondiente a los puntos (50, 1.625) y (74, 2.05) de la figura E2, obteniéndose:

$$\mu_{max}=0.0177 \text{ h}^{-1}$$

El coeficiente K_s representa la constante de saturación, es decir la cantidad de sustrato requerido para que las bacterias se mantengan en su fase de mantenimiento. La determinación del coeficiente K_s se determinó a partir de la figura E4, donde observamos que cuando la biomasa se encuentra en su fase estacionaria de crecimiento, le corresponde una concentración de glucosa promedio de 6 g/L, siendo este valor el correspondiente al parámetro K_s .

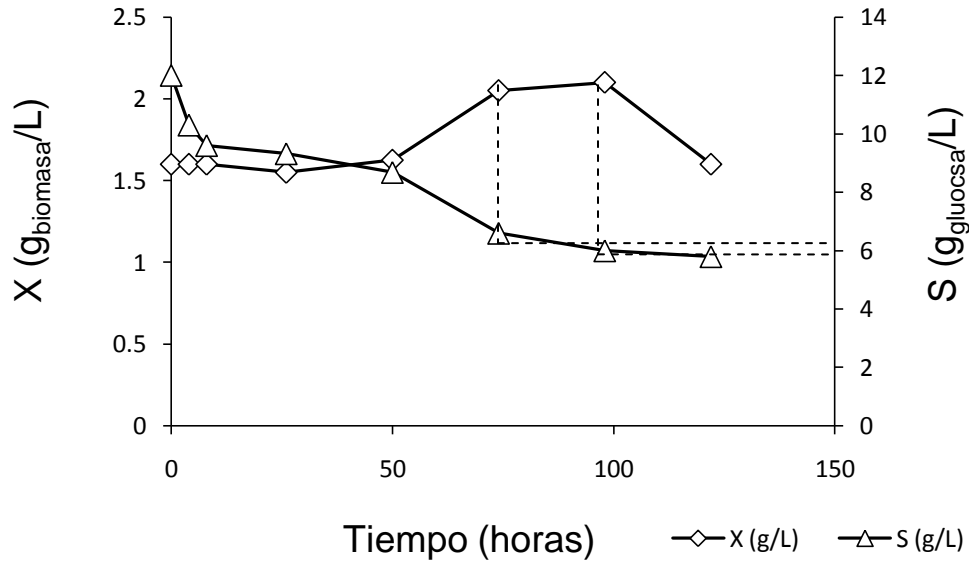


Figura E4. Determinación del coeficiente K_s

El parámetro Y , o rendimiento celular, se define como la cantidad de biomasa producida con respecto a la cantidad de sustrato consumido. Para su determinación se tomaron los valores obtenidos en la fase exponencial.

$$Y = (2.05 - 1.625 \text{ g}_{\text{biomasa}}/\text{L}) / (8.68 - 6.6 \text{ g}_{\text{glucosa}}/\text{L}) = 0.2043 \text{ mg}_{\text{biomasa}}/\text{mg}_{\text{glucosa}}$$

En la tabla siguiente se muestran los coeficientes cinéticos obtenidos del inóculo anaerobio obtenido.

Tabla E2. Parámetros cinéticos resultantes

Parámetro	Valores
K_s	6g/L
Y	0.2043 mg _{biomasa} /mg _{sustrato}
μ_{max}	0.0177 h ⁻¹

El valor obtenido para μ_{max} se encuentra por debajo de lo reportado por Jiménez, *et al.*, (2006) de una μ_{max} de 2.16 h⁻¹ y García, *et al.*, (1997) de una μ_{max} de 0.06 h⁻¹. Obtener un valor de μ_{max} tan pequeño, implica someter al sistema a mayores TRH, con el fin de obtener mejores eficiencias de remoción de contaminantes, expresado como DQO. El valor pequeño de rendimiento celular obtenido (Y) concuerda con lo reportado en la literatura donde los microorganismos anaerobios emplean la mayor parte del sustrato en la generación de producto (biogás), que en el crecimiento celular.