



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA

DISMINUCIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO) EN VINAZAS MEDIANTE TRATAMIENTO BIOLÓGICO

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA:

MELINA SANDOVAL FLORES

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. VANIA SHUHUA ROBLES GONZÁLEZ

HUAJUAPAN DE LEÓN, OAX., AGOSTO DE 2006

RESUMEN

En México, el sector industrial productor de etanol genera volúmenes de aguas residuales importantes, al descargar residuos líquidos denominados vinazas; cuya disposición libre, resulta en un problema ambiental dado su contenido elevado de compuestos orgánicos e inorgánicos, los cuales generan Demandas Bioquímicas y Químicas de Oxígeno (DBO y DQO) altas.

Con la finalidad de reducir la contaminación generada por el efluente; en una primera etapa se obtuvieron consorcios de microorganismos provenientes de diferentes fuentes naturales y la mezcla de ellos, los cuales presentaron la capacidad de utilizar a las vinazas como única fuente de carbono y energía, aclimatándolos bajo condiciones anaerobias facultativas y aerobias en cultivo por lote, para después seleccionar los consorcios con mejor eficiencia de remoción de contaminantes medida como DQO. Los consorcios provenientes de la mezcla de las fuentes, fueron los que obtuvieron el mayor intervalo de remoción de contaminantes en ambas condiciones con un 24 a 30% y 51 a 56%, respectivamente.

En una segunda etapa, se empleó un biorreactor anaerobio de lecho fijo de poliestireno expandido de baja densidad (unicel), el cual se inoculó con el consorcio seleccionado bajo condiciones anaerobias facultativas y se probó en sistema por lote, obteniéndose un intervalo de remoción de 20 a 32%; posteriormente se operó en sistema continuo de una etapa a una velocidad de alimentación de 0.5 mL/minuto presentando un intervalo de remoción de 15 a 21%.

En una tercera etapa, se utilizó una columna de burbujeo, la cual se inoculó con el consorcio aerobio seleccionado y se operó en sistema por lote, presentando un intervalo de remoción del 49 a 55%. Al evaluarse en cultivo continuo de una etapa, con una velocidad de alimentación de 0.5 mL/minuto, se obtuvo un intervalo de remoción de 8 a 12%. Con la finalidad de determinar a qué velocidad de alimentación se aumentaría la eficiencia del sistema continuo de una etapa, se determinó la velocidad específica máxima de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) del consorcio, la cual fue de 0.0086 h^{-1} , lo cual implicaría la disminución del flujo de alimentación a 0.2 mL/min.

De los sistemas probados, la mayor eficiencia de remoción de contaminantes presentes en las vinazas se obtuvo en la columna de burbujeo en sistema por lote con un límite máximo de 55%.

A mi familia

AGRADECIMIENTOS

Al M en C. Vania Shuhua Robles González, por la experiencia y apoyo brindados en la realización de este trabajo.

A mis maestros, gracias por compartirme su experiencia y conocimientos.

En especial a mis amigos y compañeros de carrera, por los momentos vividos.

A la Universidad Tecnológica de la Mixteca, por ser la fuente de conocimientos para mi desarrollo profesional.

ÍNDICE

| | Página |
|---|---------------|
| Resumen..... | ii |
| Dedicatoria..... | iii |
| Agradecimientos..... | iv |
| Índice..... | v |
| Índice de cuadros..... | viii |
| Índice de figuras..... | ix |
| Lista de símbolos..... | ix |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. ANTECEDENTES..... | 3 |
| 2.1. Definiciones básicas..... | 3 |
| 2.2. Aguas residuales en México..... | 5 |
| 2.3. Definición de vinazas..... | 6 |
| 2.4. Sistemas de tratamiento de aguas residuales..... | 7 |
| 2.5. Biorreactores..... | 9 |
| 2.6. Tratamiento anaerobio..... | 11 |
| 2.6.1. Soporte y biopelícula..... | 12 |
| 2.7. Tratamiento aerobio..... | 13 |
| 2.7.1. Columnas de burbujeo..... | 14 |
| 2.7.2. Proceso de transferencia de oxígeno..... | 14 |
| 2.8. Aislamiento de microorganismos..... | 15 |
| 2.9. Determinación de parámetros cinéticos..... | 15 |
| 2.9.1. Crecimiento celular..... | 16 |
| 3. HIPÓTESIS..... | 19 |
| 4. OBJETIVOS..... | 19 |
| 4.1. Objetivo general..... | 19 |
| 4.2. Objetivos específicos..... | 19 |
| 5. METODOLOGÍA..... | 20 |
| 5.1. Diagrama de bloques..... | 20 |

| | |
|---|----|
| 5.2. Caracterización de las vinazas..... | 21 |
| 5.3. Obtención de consorcios de microorganismos..... | 21 |
| 5.4. Selección..... | 22 |
| 5.5. Construcción de biorreactor anaerobio..... | 22 |
| 5.6. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema por lote..... | 23 |
| 5.7. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema continuo de una etapa..... | 23 |
| 5.8. Determinación de la remoción de DQO en la columna de burbujeo en sistema por lote..... | 24 |
| 5.9. Determinación de la remoción de contaminantes en la columna de burbujeo en sistema continuo de una etapa..... | 24 |
| 5.10. Determinación de parámetros cinéticos..... | 25 |
| 6. MÉTODOS ANALÍTICOS..... | 26 |
| 6.1. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), método titulométrico de reflujo cerrado semimicro..... | 26 |
| 6.2. Determinación de sustrato residual (Azúcares Totales) por el método Fenol-Sulfúrico..... | 28 |
| 6.3. Determinación de sólidos suspendidos, fijos y volátiles..... | 29 |
| 6.4. Determinación de fosfatos y sulfatos..... | 30 |
| 6.5. Determinación de Calcio, Magnesio, Sodio y Potasio por Espectrofotometría de Absorción Atómica..... | 31 |
| 6.6. Sedimentación del medio..... | 32 |
| 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 33 |
| 7.1. Caracterización de las vinazas..... | 33 |
| 7.2. Obtención de consorcios de microorganismos..... | 34 |
| 7.3. Selección..... | 34 |
| 7.4. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema por lote..... | 36 |
| 7.5. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema continuo de una etapa..... | 37 |

| | |
|---|----|
| 7.6. Determinación de remoción de DQO en la columna de burbujeo en sistema por lote..... | 38 |
| 7.7. Determinación de remoción de contaminantes en la columna de burbujeo en sistema continuo de una etapa..... | 38 |
| 7.8. Determinación de parámetros cinéticos..... | 39 |
| 8. CONCLUSIONES..... | 42 |
| 9. PERSPECTIVAS..... | 43 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 44 |
| APÉNDICES..... | 48 |
| ANEXOS..... | 51 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Página |
|--|---------------|
| Cuadro 2.1. Volumen de descarga de aguas residuales industriales, 2002..... | 6 |
| Cuadro 2.2. Tipos de tratamiento de aguas residuales..... | 7,8 |
| Cuadro 5.1. Fuentes naturales empleadas en el estudio..... | 22, 34 |
| Cuadro 6.1. Especificaciones para la determinación de sulfatos y fosfatos.. | 31 |
| Cuadro 6.2. Concentración de estándares para Absorción Atómica..... | 32 |
| Cuadro 7.1. Composición de las vinazas..... | 33 |
| Cuadro 7.2 Porcentaje de remoción de DQO en la primera etapa de selección..... | 35 |
| Cuadro 7.3. Porcentaje de remoción de DQO en la segunda etapa de selección..... | 36 |
| Cuadro 7.4. Porcentajes de remoción de DQO en la columna de burbujeo en sistema continuo..... | 39 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|--|---------------|
| Figura 2.1. Biorreactor RAM con circulación interna, Columna de burbujeo y Biorreactor airlift..... | 11 |
| Figura 2.2. Perfil de crecimiento de microorganismos en cultivo por lote.... | 17 |
| Figura 2.3. Curva de crecimiento de biomasa..... | 18 |
| Figura 5.1. Diagrama de bloques experimental..... | 20 |
| Figura 7.1. Poliestireno inoculado con el consorcio aislado en la primera etapa de selección..... | 37 |
| Figura 7.2. Curva de velocidad de crecimiento de biomasa..... | 40 |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|--------------------|--|
| μ | Velocidad específica de crecimiento |
| $\mu_{\text{máx}}$ | Velocidad específica máxima de crecimiento |
| K_s | Constante de saturación |
| x | Biomasa |

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento imprescindible para todos los seres vivos, para la especie humana las necesidades de agua y energía van en orden creciente debido al aumento de la población, lo que ha obstaculizado cada vez más el uso y disfrute del agua; como consecuencia, el ingenio humano ha ideado a lo largo de la historia diferentes sistemas de aprovechamiento y tratamiento de las aguas residuales (Seoanez y Angulo, 1995).

El tratamiento de aguas residuales tiene su primer antecedente en el siglo XIX y a finales del mismo y principios XX surge su tratamiento sistemático; en la actualidad, operaciones y procesos unitarios se agrupan para constituir lo que se conoce como tratamientos primario, secundario o biológico y terciario, los que a su vez constituyen a un tren de tratamiento (Metcalf y Eddy, 1991).

En México, la industria es una de las fuentes principales productoras de aguas residuales y uno de los sectores que genera volúmenes importantes de ellas, es el de la producción de etanol por fermentación de melazas, al descargar residuos líquidos denominados vinazas. Éstas se producen en un rango de 9 a 14 L por litro de etanol destilado, presentan las características de ser ácidas (pH de 4 a 5) y tener un contenido orgánico elevado (Demanda Química de Oxígeno (DQO) en el rango de 50000 a 100000 ppm); por lo que su disposición libre resulta en un problema para el ecosistema natural (Jiménez, Borja y Martín, 2003).

Numerosos procesos se han estudiado para el tratamiento de las vinazas, como los fisicoquímicos y los biológicos, sin embargo, no hay una opinión uniforme acerca de cuál es el más adecuado (Sheehan y Greenfield, 1980, Maiorella, Blanch y Wilkie, 1983, en: Beltrán, García y Álvarez, 1999).

Particularmente, los procesos biológicos (tanto aerobios como anaerobios) han sido utilizados para remover los contaminantes presentes en las vinazas. La digestión anaerobia ha sido el proceso preferido para su tratamiento debido a que tiene las

siguientes ventajas: requerimientos de energía y nutrientes bajos, poca producción de lodos y la capacidad de las bacterias anaerobias para transformar la materia orgánica en metano que se usa como fuente de energía en algunas destilerías; sin embargo, su eficiencia puede ser afectada por la presencia de compuestos fenólicos (García, Bonilla, Jiménez y Ramos, 1997).

El tratamiento aerobio es poco utilizado para aguas residuales de contenido elevado de material orgánico, ya que se asocia con la producción de lodos y por lo tanto, con dificultades de operación, sin embargo, se ha estudiado el tratamiento de las vinazas mediante *Penicillium decumbens* en condiciones aerobias (Jiménez *et al.*, 2003).

En el presente estudio, se emplearon sistemas biológicos para la degradación de los componentes de las vinazas; se utilizó un biorreactor anaerobio de Policloruro de Vinilo (PVC) de lecho fijo de poliestireno expandido de baja densidad (unicel) y una columna de burbujeo; ambos sistemas fueron inoculados con consorcios de microorganismos provenientes de fuentes naturales con la capacidad de emplear a las vinazas como fuente de carbono y energía; lo anterior con la finalidad de disminuir la DQO de las vinazas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Definiciones básicas.

- Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO): Se usa como una medida de la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación de la materia orgánica biodegradable presente en una muestra de agua, como resultado de la acción de oxidación bioquímica aerobia (Ramalho, 1993).
- Demanda Química de Oxígeno (DQO): Corresponde a la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la fracción orgánica de una muestra susceptible de oxidación al dicromato o permanganato, en medio ácido bajo condiciones específicas de tiempo y temperatura (Ramalho, 1993).
- Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV): Los Sólidos Suspendidos Totales (SST) son la porción de sólidos que son retenidos por un filtro, de los cuales se desprenden los Sólidos Suspendidos Fijos (SSF) y los Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV), los primeros corresponden al residuo de los SST después de someterse a ignición durante un tiempo determinado y a una temperatura específica; los SSV corresponden a la pérdida de peso por ignición (APHA, 1992). La fracción volátil del total de sólidos biológicos en suspensión se usa como una aproximación de la masa biológica activa (Metcalf y Eddy, 1991).
- 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 de cultivo (V), de acuerdo a la relación: $D = F / V$ (Nielsen, Villadsen y Lidén, 2003).
- Tiempo de residencia (Θ_r): Corresponde al inverso del valor de la velocidad de dilución, $\Theta_r = D^{-1}$ (Nielsen *et al.*, 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 en el sistema, sean reactantes o productos (Galíndez y Ruiz, 1994).

- Constante de saturación (K_s): Corresponde al valor numérico en el eje del sustrato (S) relacionado a la mitad del valor de la velocidad de crecimiento máxima ($\mu_{\text{máx}}$) de la curva de velocidad de crecimiento de biomasa (Galíndez y Ruiz, 1994).
- Velocidad volumétrica de reacción: Se define como la rapidez de cambio en la concentración de reactantes (biomasa y sustrato) o de productos, en el transcurso de una reacción, las unidades usuales son: $(\text{masa})/(\text{volumen}^{-1} \cdot \text{tiempo}^{-1})$ (Galíndez y Ruiz, 1994).
- Velocidad específica de reacción: Es la rapidez de cambio en la concentración de productos o reactantes por unidad de masa celular. Las unidades usuales son: $(\text{masa})/(\text{masa celular}^{-1} \cdot \text{tiempo}^{-1})$ (Galíndez y Ruiz, 1994).

| | |
|--|---------------------------|
| Velocidad específica de crecimiento | $\mu = [dx/dt][1/x]$ |
| Velocidad específica de consumo de sustrato | $q_s = [ds/dt][1/x]$ |
| Velocidad específica de generación de producto | $q_p = [dp/dt][1/x]$ |
| Velocidad específica de transferencia de oxígeno | $q_{O_2} = [dCl/dt][1/x]$ |

A estas velocidades específicas se les conoce también como *cuotas metabólicas* o *parámetros de estado fisiológico*. Por la interacción de éstos parámetros se definen los rendimientos:

| | |
|-------------------------|------------------------|
| Rendimiento celular | $Y_{xs} = \mu/q_s$ |
| Rendimiento de producto | $Y_{ps} = q_p/q_s$ |
| Rendimiento de oxígeno | $Y_{xO} = \mu/q_{O_2}$ |

Existe una gama de funcionalidades que correlacionan a la velocidad específica de crecimiento $[\mu]$ con variables ambientales, usualmente $\mu(S)$, con la concentración del reactante que limita a la reacción o bien con metabolitos inhibitorios del crecimiento; con ellas, puede expresarse matemáticamente la conexión entre la variación en las condiciones ambientales y la respuesta fisiológica celular medida a través de los parámetros de estado fisiológico.

2.2. Aguas residuales en México.

La Norma Oficial Mexicana 001-ECOL-1996, define a las aguas residuales como aquéllas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, incluyendo fraccionamientos y en general, cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas.

En el país, el sector industrial genera un volumen de aguas residuales de 8.14×10^9 $m^3/año$ ($258 m^3/s$), en tanto que, los centros urbanos generan 8.04×10^9 $m^3/año$ ($255 m^3/s$), sin embargo, el sector industrial genera 9.5 millones de toneladas de DBO_5 al año y los centros urbanos 2.17 millones de toneladas, por lo que la industria, en términos de DBO_5 , es 4.4 veces más contaminante, siendo lo anterior uno de los motivos por los cuales, es importante su tratamiento (Comisión Nacional del Agua (CNA), 2005).

De acuerdo a una publicación de la Comisión de Estudios del Sector Privado para el Desarrollo Sustentable (CESPEDES), el 97% de las empresas del sector industrial mexicano se clasifica en micro y pequeños establecimientos, por lo que, la falta de recursos, siempre ha sido un obstáculo en el financiamiento de plantas de tratamiento de agua, equipos de control e instalación de tecnología más limpia.

Datos de la CNA, indican que algunos de los giros industriales con mayores cargas contaminantes a cuerpos receptores son los que se muestran en el cuadro 2.1:

Cuadro 2.1. Volumen de descarga de aguas residuales industriales, 2002.

| Giro industrial | Descarga de aguas residuales (m³/s) | Materia orgánica generada (miles de t/año) |
|------------------------------|---|---|
| Azúcar | 45.9 | 1750 |
| Agropecuaria | 3.2 | 1063 |
| Alimenticia | 3.0 | 193 |
| Cerveza y malta | 1.6 | 272 |
| Destilería y vitivinicultura | 0.4 | 230 |
| Beneficio de café | 0.3 | 32 |

Fuente: Inventario Nacional de Descargas de Aguas Residuales: Gerencia de Saneamiento y Calidad del Agua. SGT, CNA.

Como se observa, el sector industrial dedicado a la destilería y vitivinicultura, se encuentra dentro de las fuentes principales de contaminación, además de generar descargas de aguas residuales con contenido de materia orgánica 1.2 veces mayor con respecto a la industria alimenticia.

2.3. Definición de vinazas.

Uno de los subproductos de la industria azucarera son las melazas, el residuo remanente de la cristalización de la sacarosa, las cuales se caracterizan por ser un líquido oscuro, un poco viscoso y de sabor muy dulce, son ricas en fructosa y sacarosa, conteniendo aproximadamente de 20 a 30% de agua, 55 a 65% de carbohidratos y 5 a 10% de cenizas (Badui, 1998).

El contenido de carbohidratos fermentables hace de las melazas un sustrato adecuado para la producción de una variedad de productos, de los cuales, el más común es el etanol. La industria de la destilería utiliza a las melazas como materia prima para la producción de alcohol, el cual es destilado, quedando un residuo conocido como vinazas.

La composición de las vinazas varía con el origen de la materia prima y las condiciones de proceso, siendo por lo general de color oscuro, olor característico, carácter ácido y contenido de material orgánico elevado, lo que en conjunto, representa un problema de contaminación ambiental, por lo que es necesario su tratamiento antes de su vertido a cuerpos de agua o alcantarillado (García *et al.*, 1997).

2.4. Sistemas de tratamiento de aguas residuales.

El grado de tratamiento requerido para un agua residual depende fundamentalmente de los límites de vertido para el efluente. El cuadro 2.2 presenta una clasificación convencional de los procesos de tratamiento de aguas residuales.

El tratamiento primario se emplea para la eliminación de los sólidos en suspensión y los materiales flotantes, impuesto por los límites tanto de descarga al medio receptor como para poder llevar los efluentes a un tratamiento secundario, bien directamente o pasando por una neutralización u homogeneización. El tratamiento secundario comprende tratamientos biológicos convencionales. En cuanto al tratamiento terciario su objetivo fundamental es la eliminación de contaminantes que no se eliminan con los tratamientos biológicos convencionales (Ramalho, 1993).

Cuadro 2.2. Tipos de tratamiento de aguas residuales.

Tratamiento primario

- Cribado o desbrozo
- Sedimentación
- Filtración
- Separación de aceites
- Homogeneización
- Neutralización

Tratamiento secundario

- Lodos activados

Cuadro 2.2. Continuación.

| |
|---|
| Aireación prolongada (procesos de oxidación total) |
| Estabilización por contacto |
| Otras modificaciones del sistema convencional de lodos activos: aireación por fases, mezcla completa, aireación descendente, alta carga, aireación con oxígeno puro |
| Lagunaje con aireación |
| Estabilización por lagunaje |
| Filtros biológicos |
| Tratamientos anaerobios: procesos de contacto, filtros (sumergidos) |
| <i>Tratamiento terciario o «avanzado»</i> |
| Microtamizado |
| Filtración (lecho de arena, antracita, diatomeas, etc.) |
| Precipitación y coagulación |
| Adsorción (carbón activado) |
| Intercambio iónico |
| Ósmosis inversa |
| Electrodialisis |
| Cloración y ozonización |
| Procesos de reducción de nutrientes |
| Otros |

El presente estudio, se enfocó al tratamiento secundario; el cual es proyectado para remover la materia orgánica soluble y coloidal que permanece después del tratamiento primario; aunque la remoción de este material puede ser efectuada por métodos fisicoquímicos, usualmente se entiende que el tratamiento secundario implica un proceso biológico. Por lo que, este último, consiste en la aplicación de un proceso natural controlado, en el cual los microorganismos degradan el material orgánico soluble coloidal del residuo y, a su vez, ellos mismos son removidos (Mc Ghee, 1999).

La mayoría de los procesos descomponen los sólidos aeróbicamente, produciendo dióxido de carbono, sólidos estables y más microorganismos; los sólidos producidos son removidos posteriormente por sedimentación, filtración, etc. (Spellman y Whiting, 1999).

Hay cuatro procesos biológicos principales utilizados en el tratamiento de aguas residuales: aerobios, anóxicos, anaerobios y una combinación de los aerobios con los anóxicos o anaerobios. Los procesos individuales se subdividen a su vez, dependiendo de si el tratamiento se lleva a cabo en sistemas de cultivo en suspensión, de cultivo fijo o en combinación de los mismos. Las aplicaciones principales de estos procesos son (Metcalf y Eddy, 1991):

1. La eliminación de la materia orgánica carbonosa presente en el agua residual, generalmente medida como DBO, carbono orgánico total (COT) o como DQO.
2. Nitrificación.
3. Desnitrificación.
4. Estabilización.

Cabe hacer mención que la clasificación de los procesos de tratamiento biológico considera dos condiciones para el crecimiento de los microorganismos: aerobias y anaerobias; sin embargo, la clasificación de los microorganismos es más amplia considerando a los microorganismos aerobios, anaerobios, anaerobios facultativos y microaerófilos (Pelczar, Reid y Chan, 1999).

2.5. Biorreactores.

Un biorreactor es cualquier dispositivo empleado para que se lleven a cabo una o más reacciones bioquímicas para convertir cualquier material inicial (sustrato) en productos. La conversión ocurre a través de la acción de un biocatalizador como las enzimas, microorganismos, células de animales y plantas, o estructuras subcelulares como cloroplastos y mitocondrias.

El sustrato inicial puede ser un compuesto orgánico simple, un compuesto inorgánico o materiales complejos. Los productos de conversión pueden ser células (biomasa) y compuestos químicos de diversas clases. El proceso que ocurre en un biorreactor puede ser resumido como (Chisti y Moo-Young, 2002):



Los biorreactores son utilizados en toda clase de procesos, incluyendo aquellos relacionados con la preparación de alimentos, para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales, en la fabricación de vacunas y antibióticos, etc.

Existen diferentes tipos de biorreactores, entre los que se puede mencionar a los que utilizan agitación mecánica (Reactores Agitados Mecánicamente o RAM); algunos que aprovechan el aire suministrado con fines de mezclado (reactores con agitación neumática) como son las columnas de burbujeo o los reactores airlift; los que utilizan el bombeo de parte del mismo medio para el mezclado (biorreactores de chorro) y otros que se utilizan para el cultivo de células o enzimas inmovilizadas, como los reactores de lecho fijo, lecho fluidizado y los de membrana. De todos éstos los más comunes son los RAM, las columnas de burbujeo y los reactores airlift, los cuales se muestran en la figura 2.1.

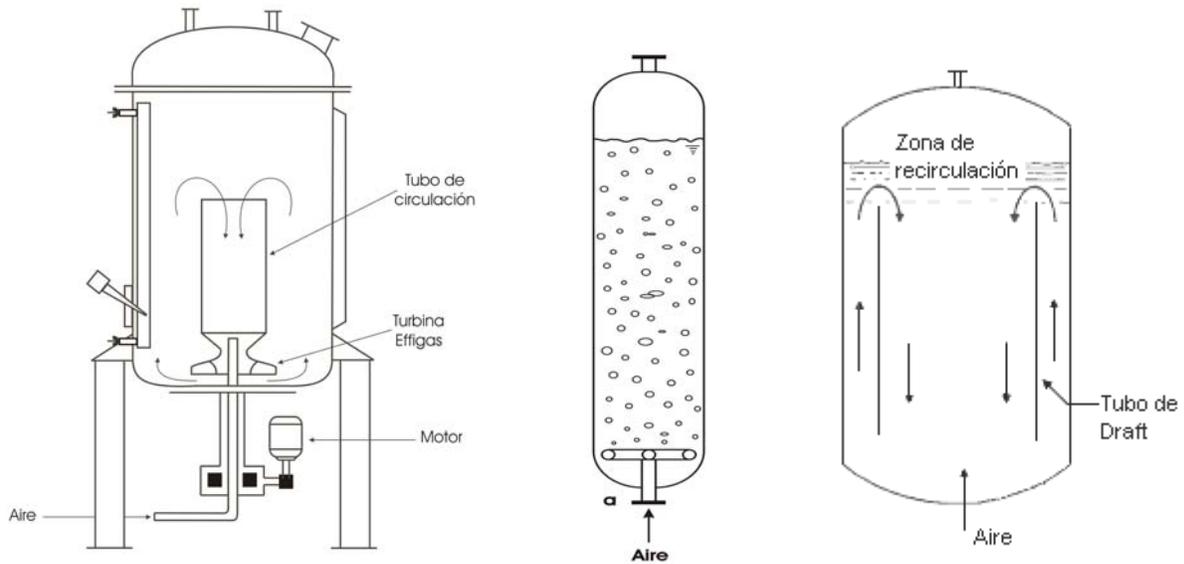


Figura 2.1. De izquierda a derecha: Biorreactor RAM con circulación interna, tomado de Scriban, 1985, Columna de burbujeo, tomado de Chisti y Moo Young, 2002 y Biorreactor airlift, tomado de Perry y Green, 1999.

2.6. Tratamiento anaerobio.

Como se mencionó anteriormente, los procesos anaerobio y aerobio se pueden dividir según la forma en la cual los microorganismos se encuentran al interior del reactor, pudiendo ser: en cultivo fijo, en cultivo en suspensión o en combinación de los dos anteriores (Metcalf y Eddy, 1991).

De los procesos anaerobios de tratamiento en cultivo fijo, el proceso más común es el filtro anaerobio, que se utiliza tanto para el tratamiento de residuos domésticos como industriales; el equipo consiste de una columna rellena de diversos tipos de medios sólidos que se utilizan para el tratamiento de la materia orgánica carbonosa del agua residual. El agua a tratar, fluye a través de la columna entrando en contacto con el medio (soporte) sobre el cual se desarrollan y fijan las bacterias anaerobias.

Los dos procesos anaerobios de cultivo en suspensión más comúnmente utilizados son el proceso de digestión anaerobia y el proceso anaerobio de contacto.

La digestión anaerobia es uno de los procesos más antiguos utilizados para la estabilización de fangos; en este proceso, se produce la descomposición de la materia orgánica e inorgánica en ausencia de oxígeno. Sus aplicaciones principales son la estabilización de los fangos concentrados producidos en el tratamiento del agua residual y de ciertos residuos industriales.

En el proceso de contacto, los residuos a tratar se mezclan con los sólidos del fango recirculado y se digieren a continuación en un reactor sellado para impedir la entrada de aire, en el que su contenido se mezcla completamente tras la digestión, la mezcla se separa en un clarificador o unidad de flotación al vacío y el sobrenadante se vierte como efluente, generalmente a otro proceso posterior. El fango anaerobio sedimentado se recircula para servir de siembra al agua residual entrante.

Dada la tasa de síntesis baja de los microorganismos anaerobios, el exceso de fango que debe evacuarse es mínimo. Este proceso se ha usado satisfactoriamente para la estabilización de efluentes de industrias cárnicas y otros de contenido orgánico alto en estado soluble.

2.6.1. Soporte y biopelícula.

El término biopelícula (biofilm) hace referencia a una serie de microorganismos que se encuentran agregados en un exopolímero compuesto de glicocalix y que se organizan en forma de colonias adheridas a diferentes superficies (soportes), ya sean blandas, animadas e inanimadas (Costerton, 1999). El exopolímero que es producido por los microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos.

En el presente trabajo se empleó poliestireno expandido de baja densidad, comúnmente llamado unicel como medio de soporte; este material se usa como parte del empaque de diversos productos ya que evita su daño durante el transporte, siendo por ello, un material de desecho una vez adquirido el producto.

Con la finalidad de darle al unicel un uso, éste se consideró como medio de soporte para que los microorganismos formaran una biopelícula y así existiera un tiempo de contacto mayor entre el medio y los mismos.

2.7. Tratamiento aerobio.

Al igual que el tratamiento anaerobio, el tratamiento aerobio se puede dividir en procesos en cultivo en suspensión, en cultivo fijo o en procesos combinados; de los procesos en cultivo en suspensión se pueden mencionar el proceso de fangos activados, las lagunas aireadas, la digestión aerobia con aire convencional o con oxígeno puro y los estanques aerobios de carga alta (Metcalf y Eddy, 1991).

El aire se utiliza para el tratamiento de aguas residuales tanto industriales como urbanas; este proceso nació de la observación realizada hace mucho tiempo de que si cualquier agua residual, urbana o industrial, se somete a aireación durante un período de tiempo se reduce su contenido de materia orgánica, formándose a la vez un lodo floculento.

El examen microscópico de este lodo revela que está formado por una población heterogénea de microorganismos, que cambian continuamente en función de las variaciones de la composición de las aguas residuales y de las condiciones ambientales. Los microorganismos presentes son bacterias unicelulares, hongos, algas, protozoos y rotíferos. De éstos, las bacterias son probablemente las más importantes, encontrándose en todos los tipos de proceso de tratamiento biológico.

El proceso implica el uso de un cultivo bacteriano aerobio en mezcla con el efluente dentro de un reactor el cual está provisto de un difusor o un aireador mecánico; mediante el suministro de aire se llevan a cabo dos funciones básicas: favorecer la transferencia de oxígeno necesario para la oxidación de la materia orgánica del agua residual y mantener un nivel adecuado de turbulencia en el reactor biológico a objeto de conseguir concentraciones relativamente uniformes de oxígeno disuelto y de microorganismos en toda la masa líquida (Ramalho, 1993).

2.7.1. Columnas de burbujeo.

Las columnas de burbujeo son de los reactores más utilizados, sobre todo en el tratamiento de aguas residuales, por su diseño sencillo, la economía de operación y debido a que utilizan la agitación neumática resultan más económicas que los reactores con agitación mecánica (Castañón, 1999).

Son recipientes cilíndricos que usualmente tienen una relación altura/diámetro de entre 4 y 6. En éstas, el gas se asperja por la base del reactor a través de tubos perforados, placas perforadas o difusores de metal o vidrio microporoso (Chisti y Moo-Young, 2002).

2.7.2. Proceso de transferencia de oxígeno.

La transferencia de oxígeno es el proceso por el cual éste es transportado de una fase a otra, generalmente de una gaseosa a una líquida (Metcalf y Eddy, 1991). Este proceso tiene una aplicación muy importante en el tratamiento biológico de aguas residuales llevándose a cabo el transporte de oxígeno del gas hacia los microorganismos en cuatro etapas (Scragg, 1997):

- 1) El oxígeno pasa a través del gas hacia la interfase gas-líquido.
- 2) A lo largo de la interfase.
- 3) Por el líquido.
- 4) Hacia el organismo.

2.8. Aislamiento de microorganismos.

La técnica fue introducida por dos de los precursores principales de la bacteriología, Beijerinck y Winogradsky entre 1890 y 1900 y comúnmente se utiliza para lograr el aislamiento de microorganismos. En estos cultivos se combinan técnicas tradicionales de aislamiento con el uso de medios de composición química y condiciones ambientales definidas, que en conjunto ejercen una presión de selección (Pelczar *et al.*, 1999).

El proceso implica colocar una población microbiana bajo condiciones ambientales que sean propicias para el crecimiento de los microorganismos deseados o bajo condiciones adversas para el crecimiento de los microorganismos no deseados, por lo que los cultivos de enriquecimiento resultan en el incremento del número de microorganismos que poseen las características deseadas, con respecto al número de microorganismos que no poseen tales características y que estaban en el inóculo original (Stanbury y Whitaker, 1987).

2.9. Determinación de parámetros cinéticos.

El estudio de la cinética del tratamiento biológico aerobio conduce a determinar la velocidad a la cual los microorganismos degradan un residuo específico y por lo tanto, los parámetros cinéticos proporcionan la información básica necesaria para desarrollar el tamaño de los reactores biológicos aerobios (Ramalho, 1993).

El experimento se lleva a cabo convenientemente en un reactor de laboratorio discontinuo, por lo que el agua residual conteniendo una siembra de microorganismos se introduce en el reactor y se hace circular aire comprimido dentro del sistema; el lodo biológico se mantiene en un estado de mezcla completa debido a la agitación proporcionada por el aire suministrado al sistema.

Se determina la concentración de sustrato, S , del agua residual (medida como DBO soluble o DQO, Demanda Total de Oxígeno (DTO), Carbono Orgánico Total (COT), etc.) a intervalos de tiempo seleccionados mediante extracción de muestras para su análisis. La masa de lodo biológico acumulado se determina, así mismo, en esos intervalos de tiempo midiendo la concentración de sólidos volátiles en suspensión en el medio (VSS) en las muestras extraídas.

Con los resultados se determina la velocidad específica de crecimiento (μ) la que se grafica con respecto al sustrato (S) para formar una curva, de la que el valor máximo observado representa a la velocidad específica máxima de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) y el valor del sustrato al cual se alcanza la mitad de la $\mu_{\text{máx}}$ corresponde a la constante saturación (K_s).

2.9.1. Crecimiento celular.

En un cultivo por lote, la concentración de biomasa incrementa con el paso del tiempo, como se observa en la figura 2.2, la cual es característica. La fase lag es un periodo de adaptación en el cual las células se aclimatan al nuevo medio y después de esta fase, el crecimiento exponencial persiste hasta que alguno de los nutrientes esenciales disminuye en el medio o hasta que algún producto es acumulado e inhibe el crecimiento de los microorganismos. Las células entran en una fase en la cual ya no hay crecimiento, o fase estacionaria, que es seguida por una fase de declinación o muerte.

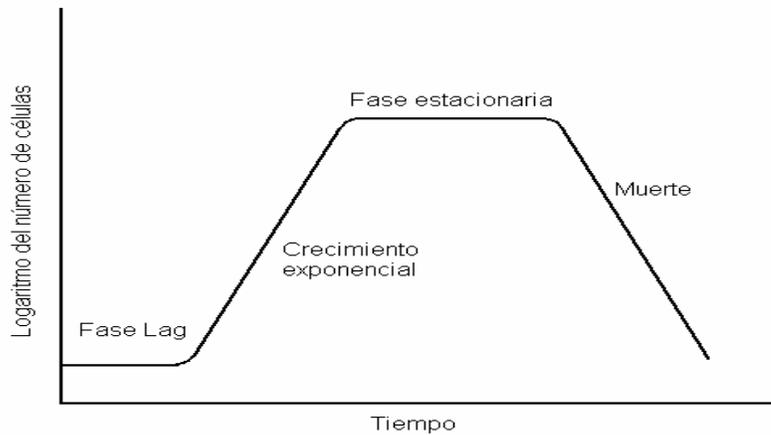


Figura 2.2. Perfil de crecimiento de microorganismos en cultivo por lote.

La velocidad de crecimiento en un reactor, por ejemplo, el cambio en la concentración de biomasa con respecto al tiempo, dx/dt , depende de la concentración de biomasa (x) viable presente a cualquier tiempo. En el crecimiento exponencial, la velocidad de crecimiento puede ser expresada como:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \quad (2.5)$$

Donde μ es una constante conocida como velocidad específica de crecimiento (Chisti y Moo-Young, 2002, Galíndez y Ruiz, 1994).

En el estado estacionario de un cultivo en continuo, la velocidad de crecimiento depende de la concentración de sustrato S o sustrato limitante; la dependencia es generalmente descrita por la ecuación de Monod:

$$\mu = \frac{\mu_{m\acute{a}x} \cdot S}{K_s + S} \quad (2.6)$$

Donde $\mu_{m\acute{a}x}$ es la velocidad específica máxima de crecimiento y K_s es el valor de S al cual la velocidad específica de crecimiento es la mitad del valor máximo; K_s es conocido como la constante de saturación.

La velocidad específica de crecimiento aumenta con el aumento de la concentración de sustrato de una forma hiperbólica como se muestra en la figura 2.3; la misma, también ejemplifica el significado de $\mu_{\text{máx}}$ y K_s .

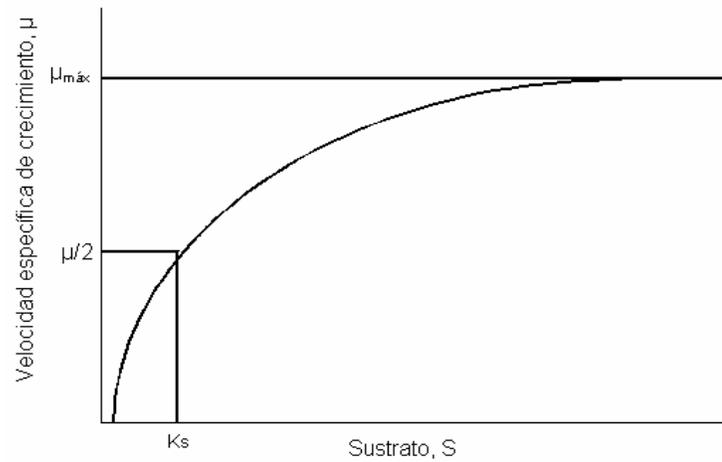


Figura 2.3. Curva de crecimiento de biomasa.

3. HIPÓTESIS

El empleo de un sistema anaerobio de lecho fijo removerá la mayor cantidad de DQO presente en las vinazas con respecto a un sistema aerobio, al inocular ambos con consorcios de microorganismos obtenidos a partir de fuentes naturales.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general.

Emplear un biorreactor de lecho fijo y una columna de burbujeo para determinar en cuál de los dos sistemas se remueve la mayor cantidad de DQO presente en las vinazas.

4.2. Objetivos específicos.

1. Obtener y seleccionar de fuentes naturales consorcios de microorganismos con la capacidad de emplear a las vinazas como fuente de carbono y energía.
2. Emplear un biorreactor de lecho fijo de poliestireno expandido de baja densidad (unicel) para remover la DQO presente en las vinazas y determinar su eficiencia.
3. Utilizar una columna de burbujeo para remover la DQO presente en las vinazas y determinar su eficiencia.
4. Establecer en cuál de los dos sistemas se obtiene la mayor eficiencia de remoción de DQO.

5. METODOLOGÍA

5.1. **Diagrama de bloques.** Las operaciones realizadas se presentan en la figura siguiente:

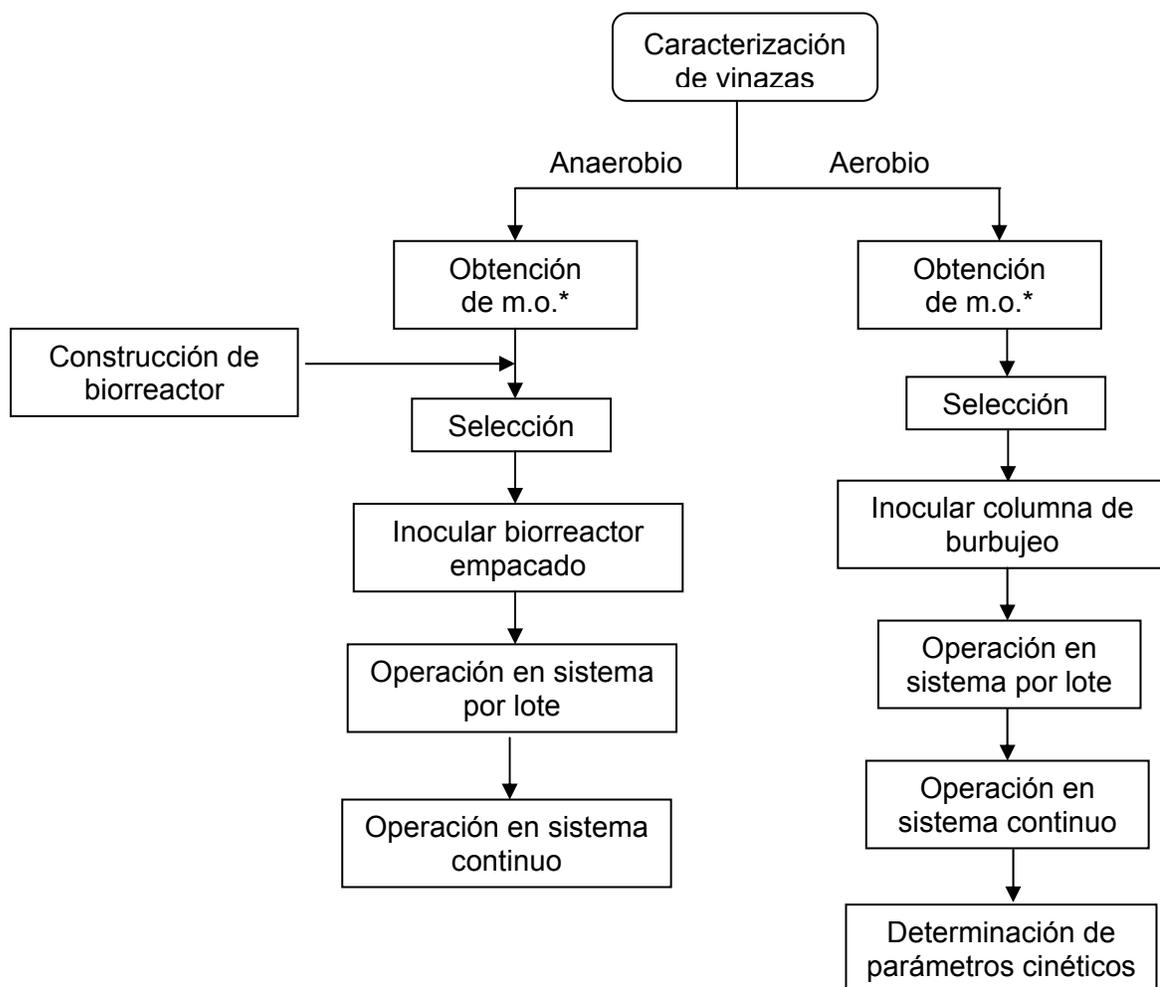


Figura 5.1. Diagrama de bloques experimental.
* m.o.=microorganismos.

5.2. Caracterización de las vinazas.

Como parte de un tratamiento previo de las vinazas para su uso en el tratamiento biológico, se realizó una sedimentación en base a la Norma Mexicana AA-004-SCFI-2000.

Al medio sedimentado se le determinaron los parámetros siguientes: DQO, Sodio, Potasio, Calcio y Magnesio. Para la determinación de Fosfatos, Sulfatos y Carbohidratos totales (expresado como sacarosa) el medio se centrifugó a 1500 rpm durante 5 minutos con la finalidad de eliminar sólidos no sedimentables que interfieren en las técnicas.

5.3. Obtención de consorcios de microorganismos.

Se empleó la técnica de enriquecimiento en cultivo por lote, para ello, se tomaron microorganismos de tres fuentes naturales y la mezcla de ellas que se mencionan en el cuadro 5.1. La aclimatación de los consorcios se realizó a temperatura ambiente (25°C) y pH de 3.7, en dos etapas: anaerobia facultativa y aerobia, las cuales tuvieron una duración de un mes cada una. En la primera etapa, se tomaron 10 mL de las fuentes A, B, D y 10 g de la fuente C, se inocularon cada una en matraces erlenmeyer conteniendo 100 mL de vinazas (medio fresco) y se mantuvieron cerrados durante una semana, transcurrido este tiempo se realizaron recambios para cada uno de los matraces tomando 10 mL y transfiriéndolos a medio fresco.

Cuadro 5.1. Fuentes naturales empleadas en el estudio.

| Consortio | Fuente de microorganismos |
|------------------|--|
| A | Cubas de fermentación de melazas. |
| B | Vinazas diluidas con agua proveniente de las torres de enfriamiento. |
| C | Suelo cercano al lugar donde se vierten las vinazas diluidas. |
| D | Mezcla de A, B y C. |

Muestras tomadas de la Planta de elaboración de ron ubicada en Chilapa de Díaz, Tamazulapan, Oax.

En la segunda etapa, se tomaron 10 mL de las fuentes A, B y D y 10 g de la fuente C; se inocularon en matraces erlenmeyer conteniendo 100 mL de medio fresco y a cada uno de los matraces se les mantuvo en aireación. Transcurrida una semana de la siembra, se realizó el recambio para cada uno de los consorcios, continuando con este procedimiento durante un mes.

5.4. Selección.

Terminada la etapa de aclimatación, se realizaron determinaciones de la DQO para cada uno de los consorcios obtenidos en la primera y segunda etapa, continuando con los recambios y evaluando la DQO en los medios al inicio de la siembra y al término de una semana; lo anterior se repitió durante tres semanas. La selección del mejor consorcio se realizó en base a la mayor eficiencia de remoción de DQO y la reproducibilidad de los resultados.

5.5. Construcción de biorreactor anaerobio.

Se construyó un biorreactor de Policloruro de Vinilo (PVC), el cual se empacó con poliestireno expandido de baja densidad (unicel) de medidas: 3.5 cm de largo, 2.5 cm de ancho y 1.3 cm de altura. Se empleó tubería de PVC de 11 cm de diámetro

interno, un cono con rejilla y base para la colección de biomasa celular; además de que se introdujo un tubo de 0.3 cm de diámetro y 28 cm de altura para la salida del medio tratado (Ver anexo b).

5.6. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema por lote.

El consorcio obtenido en la primera etapa de selección se inoculó en el biorreactor anaerobio de lecho fijo de poliestireno expandido de baja densidad; se vertieron 300 mL de medio inoculado y 2.5 L de medio sedimentado (pH de 3.7), se cerró y se dejó el sistema a temperatura ambiente (25°C).

Transcurrida una semana, se agregaron 1.3 L de medio fresco y se mantuvieron 300 mL del medio inoculado. El proceso anterior se repitió durante tres semanas evaluándose la DQO al inicio y al final de cada cinética.

5.7. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema continuo de una etapa.

Terminados los experimentos en cultivo por lote, se inició la operación del reactor en cultivo continuo al suministrar medio sedimentado a una velocidad de 0.5 mL/minuto empleando una bomba peristáltica marca Cole-Parmer, modelo 77200-50 con manguera C-flex L/S 13; la operación se realizó a temperatura ambiente (25°C) y pH de 3.7.

El reactor se operó hasta llegar a un estado de equilibrio dinámico, transcurrido este tiempo se realizaron determinaciones de la DQO al inicio y al final de una cinética (una vez que hubo un recambio completo del medio); el experimento se repitió tres veces durando cada cinética cuatro días según el cálculo del tiempo de residencia.

5.8. Determinación de remoción de DQO en la columna de burbujeo en sistema por lote.

El consorcio obtenido en la segunda etapa de selección se inoculó en una columna de burbujeo de vidrio de 9.8 x 54.3 cm provista de un difusor de placa filtrante; se tomaron 200 mL de medio inoculado y se agregaron 1.3 L de medio sedimentado, suministrando aire a la columna a una velocidad de 1 L/minuto, la cual se dejó en operación durante un periodo de una semana a temperatura ambiente.

Transcurrido este tiempo, se agregaron 1.3 L de medio fresco y se mantuvieron 200 mL del medio inoculado. El proceso anterior se repitió durante tres semanas evaluándose la DQO al inicio y al final de cada cinética.

5.9. Determinación de la remoción de DQO en la columna de burbujeo en sistema continuo de una etapa.

Para la determinación de eficiencia de remoción de contaminantes en la columna de burbujeo en sistema continuo se probaron dos velocidades de alimentación: 0.5 mL/minuto y 1.0 mL/minuto.

Primero se probó la velocidad menor, por lo que, terminada la operación en lote (etapa anterior a ésta) se inició el suministro de medio empleando una bomba peristáltica marca Cole-Parmer, modelo 77200-50 con manguera C-flex L/S 13, tomando muestras en el estado de equilibrio dinámico (transcurridos veinte días de operación) para determinar la eficiencia del sistema. El cálculo para cada cinética se realizó en base a la definición del tiempo de residencia, en este caso, cada una duró cuatro días y el experimento se realizó por triplicado. Para la velocidad de 1 mL/minuto, se dejó en estabilización la columna de burbujeo durante diez días, tomando posteriormente muestras cada dos días, evaluando la DQO para determinar la eficiencia del sistema.

5.10. Determinación de parámetros cinéticos.

Para obtener la velocidad específica máxima de crecimiento ($\mu_{\text{máx}}$) y la constante de saturación (K_s), se requirió de la propagación de los microorganismos empleando un sistema por lote; se inoculó la columna con 200 mL de biomasa (obtenida de las etapas anteriores) y 1300 mL de medio adicionado con 15 g de glucosa comercial; después de una semana se hizo la recuperación de los microorganismos, sedimentando el medio conteniendo a los microorganismos en un cono Imhoff; el sobrenadante se centrifugó a 3500 rpm durante 6 minutos; el sedimento obtenido en ambos casos se colocó en cajas petri sanitizadas con alcohol al 70% dejándose secar en una incubadora marca Riossa, modelo H-33 previamente ajustada a 28°C.

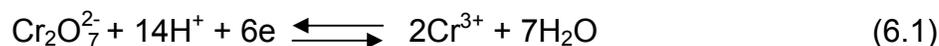
Se tomaron 4 g de biomasa seca y se inocularon en la columna de burbujeo empleando un volumen total de 1.5 L de medio centrifugado a 3500 rpm durante 6 minutos, suministrando aire a una velocidad de 1 L/minuto. Durante una semana se tomaron muestras de aproximadamente 30 mL determinándose para cada una de ellas la DQO, sacarosa y SSV (biomasa).

6. MÉTODOS ANALÍTICOS

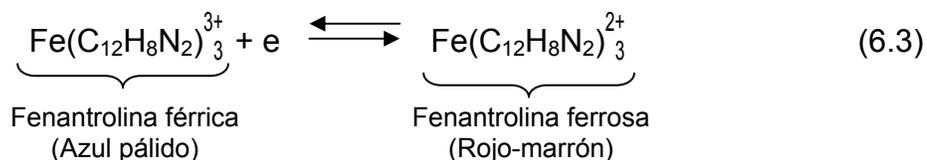
6.1. Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO), método titulométrico de reflujo cerrado semimicro (APHA, 1992).

- **Fundamento (Ramalho, 1993).**

La DQO de un agua residual se determina en términos de la cantidad de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) que la muestra reduce durante 2 h a reflujo en un medio ácido a ebullición, en presencia de un catalizador (sulfato de plata, Ag_2SO_4). La materia orgánica en la muestra se oxida y como resultado se consume el dicromato de color amarillo que se reemplaza por el ion crómico color verdoso (ecuación 6.1).



La medición se lleva a cabo por valoración del dicromato restante con sulfato ferroso amoniacal (SFA) (ecuación 6.2) y ferroína como indicador; en el punto final se obtiene un color rojo-marrón el cual es debido a la formación de un complejo de ion ferroso con fenantrolina (ecuación 6.3).



- **Reactivos.**

Solución 1 (solución oxidante): Se disuelven 12.26 g de $K_2Cr_2O_7$, previamente secado durante 2 h a $103^\circ C$, en 200 mL de agua destilada; se agregan 167 mL de

ácido sulfúrico (H_2SO_4) y se diluye a 1000 mL con agua destilada en un matraz volumétrico.

Solución 2 (solución catalizadora): Se disuelven 11 g de Ag_2SO_4 en H_2SO_4 y se afora a 1000 mL con el mismo en un matraz volumétrico. Se deja reposar 2 días para la disolución completa del Ag_2SO_4 .

Solución 3 (solución titulante, SFA): Se pesan 19.6 g de SFA hexahidratado y se disuelven en 500 mL de agua destilada, se agregan lentamente 20 mL de H_2SO_4 , se enfría y se diluye a 1000 mL con agua destilada en un matraz volumétrico.

Solución 4 (solución indicadora): Se disuelven 1.48 g de 1,10-fenantrolina monohidratada y 695 mg de sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) en agua destilada; se diluye a 100 mL en un matraz volumétrico

- **Procedimiento.**

En un tubo Hach se vierten 2.5 mL de la muestra convenientemente diluida, se le adicionan 1.5 mL de la solución oxidante y 3.5 mL de la solución catalizadora, se mezcla. Se prepara un blanco con agua destilada y las mismas cantidades de las soluciones oxidantes y catalizadora. Los tubos cerrados se colocan en el reactor de tipo baño seco, a 150°C durante 2 h. A continuación, se dejan enfriar a temperatura ambiente. La muestra y blanco se titulan agregando una gota de la solución indicadora y empleando la solución de SFA como solución titulante. El experimento se realiza por triplicado.

Posteriormente, se coloca por triplicado en vasos de precipitado 3.5 mL de agua destilada, 1.5 mL de solución oxidante y 1 gota de fenantrolina, se titulan con la solución de SFA, para llevar a cabo la valoración. La normalidad de la solución de SFA se calcula según la ecuación 6.4.

$$\text{NSFA} = (N_{\text{solución oxidante}} * 1.5 \text{ mL}) / \text{promedio de gastos de SFA} \quad (6.4)$$

Donde:

NSFA= Normalidad de la solución de SFA

$N_{\text{Solución oxidante}} = 0.25$

La concentración de DQO en mg/L se calcula con la ecuación 6.5:

$$\text{mg DQO/L} = ((A-B) * N * 8000 \text{ mg/eq}) / V \text{ muestra (mL)} \quad (6.5)$$

Donde:

A= Promedio de los mL de SFA gastados en el blanco.

B= Promedio de los mL de SFA gastados en la muestra.

N= Normalidad del SFA

8000= Factor de dilución

V= Volumen de la muestra, 2.5 mL

6.2. Determinación de sustrato residual (Azúcares Totales) por el método Fenol-Sulfúrico (Dubois, Hamilton y Smith, 1956).

- **Fundamento.**

Los ácidos concentrados al reaccionar con los carbohidratos producen un furfural, o derivados de él, que se condensan con un compuesto fenólico produciendo compuestos coloridos característicos.

- **Procedimiento.**

Se vierte 1 mL de la muestra convenientemente diluida en un tubo Hach, se agrega 1 mL de fenol al 5%, se cierra el tubo y se agita por 20 segundos en un agitador tipo vórtex; se agregan 5 mL de H₂SO₄, rápidamente, se cierra el tubo y se agita por 20 segundos. La mezcla se deja reposar durante 30 minutos a temperatura ambiente. El color desarrollado se lee a 490 nm en un espectrofotómetro UV/VIS.

Paralelamente se corre una curva tipo de sacarosa con volúmenes de 10, 20, 40 y 50 μL de una solución patrón de 0.1 g de sacarosa/L.

6.3. Determinación de sólidos suspendidos, fijos y volátiles.

- **Fundamento (Jenkins, Snoeyink, Ferguson y Leckier, 1995).**

El análisis gravimétrico se basa en la determinación de los constituyentes o categorías de materiales por la medida de sus pesos. La evaporación de la muestra se lleva a cabo a 103-105 °C ya que sólo hay una ligera descomposición térmica de sales inorgánicas. El objetivo analítico de la combustión en las determinaciones de sólidos es diferenciar entre materia orgánica e inorgánica, la primera, se destruye por completo al quemar la muestra a 550 °C durante 15 minutos.

La fracción volátil del total de sólidos biológicos en suspensión se usa como una aproximación de la masa biológica activa (Metcalf y Eddy, 1991).

- **Procedimiento.**

Se lleva a peso constante un crisol Gooch en una estufa a 100 °C y se le coloca un filtro de fibra de vidrio de 0.45 μm , con la superficie rugosa hacia arriba. Se coloca en un matraz kitasato provisto de un sostén de sargent y se aplica vacío agregando suficiente agua destilada para que el disco se fije en la base del crisol y cubra completamente las perforaciones; se lleva a la mufla durante 15 minutos a 550 °C \pm 50 °C. El crisol se deja atemperar en un desecador y se pesa en la balanza analítica.

Posteriormente, el crisol se coloca en el matraz kitasato y se filtra determinada cantidad de muestra, de tal forma que la filtración no tarde más de 10 minutos, se lleva a la estufa previamente ajustada a 100 °C durante una hora. El crisol se atempera en el desecador y se pesa en la balanza analítica, el resultado de esta

pesada representa a los Sólidos Suspending Totales (SST). Se pasa el crisol a la mufla a $550\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos, se atempera en el desecador y se pesa, con esto se determinan los Sólidos Suspending Fijos (SSF); los Sólidos Suspending Volátiles (SSV) se calculan al restar SSF de SST.

6.4. Determinación de fosfatos y sulfatos.

- **Fundamento (Manual de operación de espectrofotómetro Hach DR 2000).**

Fosfatos En general, los fosfatos se encuentran en las aguas como ortofosfatos, es decir, PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} , etc.; los ortofosfatos reaccionan con el molibdato en un medio ácido para formar un complejo de fosfomolibdato. El ácido ascórbico reduce al complejo dando un intenso color azul de molibdeno.

Sulfatos Los iones sulfato en la muestra reaccionan con el bario contenido en el reactivo Sulfaver 4 Sulfate y forman un sulfato de bario insoluble y turbio. La turbidez es proporcional a la concentración de sulfatos.

- **Procedimiento.**

El espectrofotómetro Hach DR 2000 se ajusta a la longitud especificada para cada uno de los métodos (Cuadro 6.1). Se llena una celda con 25 mL de muestra convenientemente diluida, se agrega el contenido de un sobre de reactivo Hach y se agita hasta mezcla homogénea. Se deja reposar durante el tiempo especificado para una reacción completa. A la par se prepara un blanco con agua destilada.

La celda del blanco se coloca en el espectrofotómetro ajustándose éste a cero, luego, se introduce la celda de la muestra y se realiza la lectura. La preparación de la muestra se repite para obtener un duplicado de la lectura.

Cuadro 6.1. Especificaciones para la determinación de sulfatos y fosfatos.

| Parámetro | Intervalo | Longitud (nm) | Método (#) | Reactivo | Reposo (minutos) |
|-----------|----------------------------------|---------------|------------|---------------------|------------------|
| Fosfatos | 0 a 2.50 mg/L PO_4^{3-} | 890 | 490 | PhosVer 3 Phosphate | 2 |
| Sulfatos | 0 a 70 mg/L SO_4^{2-} | 450 | 680 | SulfaVer 4 Sulfate | 5 |

6.5. Determinación de Calcio, Magnesio, Sodio y Potasio por Espectrofotometría de Absorción Atómica.

- **Fundamento (Skoog y West, 1990).**

La espectroscopia atómica se basa en la absorción, emisión o fluorescencia de radiación electromagnética por las partículas atómicas. El espectro de absorción de un elemento atomizado está constituido por una cantidad relativamente limitada de líneas discretas a longitudes de onda características para cada elemento.

- **Procedimiento.**

5 mL de la muestra se vertieron en un vaso de precipitados y se le agregaron 10 mL de ácido clorhídrico al 10%, se digirió por calentamiento en una parrilla eléctrica durante 2 h a 80°C tapando el vaso con un vidrio de reloj, así mismo se realizó la digestión de un blanco empleando 5 mL de agua deionizada. La digestión de la muestra se realizó por triplicado.

Los digeridos se enfriaron y filtraron a través de papel filtro Whatman 42 recibiendo el filtrado en un matraz aforado de 100 mL, el vaso de precipitados y vidrio de reloj se enjuagaron con agua deionizada filtrando también el residuo. El matraz se aforó con agua deionizada.

Se empleó un espectrofotómetro de absorción atómica el cual se calibró con cada uno de los estándares de los elementos mostrados en el cuadro 6.2, posteriormente

se realizó la lectura de las muestras las cuales fueron convenientemente diluidas con agua deionizada.

Cuadro 6.2. Concentración de estándares para Absorción Atómica.

| Elemento | Concentración (ppm) |
|-----------------|----------------------------|
| Ca | 2.0, 6.0, 10.0 |
| Mg | 1.0, 2.0, 6.0 |
| Na | 0.50, 1.0, 3.0 |
| K | 0.50, 1.0, 1.5 |

6.6. Sedimentación del medio.

- **Fundamento (NMX-AA-004-SCFI-2000).**

La materia sedimentable se define como la cantidad de sólidos que en un tiempo determinado se depositan en el fondo de un recipiente en condiciones estáticas. El método propuesto es volumétrico. Los sólidos decantables se miden volumétricamente en un cono de sedimentación Imhoff.

- **Procedimiento.**

El medio se mezcla a fin de asegurar una distribución homogénea de sólidos suspendidos a través de todo el cuerpo del líquido; se coloca la muestra en un cono de Imhoff hasta la marca de 1 L. Se deja sedimentar 45 minutos, una vez transcurrido este tiempo, los lados del cono se agitan suavemente mediante rotación; después, el cono se mantiene en reposo durante 15 minutos y se registra el volumen de sólidos sedimentables del cono como mL/L.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Caracterización de las vinazas.

Los contaminantes en las aguas residuales son una mezcla compleja de compuestos químicos orgánicos e inorgánicos; por lo que normalmente no es práctico obtener un análisis completo de las aguas residuales (Ramalho, 1993).

En el cuadro 7.1 se presentan los resultados de algunos parámetros que definen la composición de las vinazas utilizadas en el estudio. Hideki, Shigeki, Ann-Cheng y Jayabalasingham en 1996 reportaron, para las vinazas utilizadas en su trabajo, el contenido de sulfatos en 4600 ppm, DQO de 120000 ppm, fósforo 61 ppm, calcio 600 ppm, sodio 32 ppm, potasio 1920 ppm y pH de 4.1; al compararse estos resultados con los del cuadro 7.1, se observa que hay diferencia; atribuyéndose a que la composición de las vinazas varía de acuerdo a la materia prima utilizada y a las variables involucradas en el proceso de fermentación y destilación (García *et al.*, 1997).

Cuadro 7.1. Composición de las vinazas.

| Parámetro | Concentración [σ] |
|-------------------------------------|----------------------------|
| Sulfatos (mg/L SO_4^{2-}) | 3667 [± 5] |
| DQO (ppm) | 60000 [± 50] |
| Fósforo (ppm) | 40 [± 15] |
| Calcio (ppm) | 74.50 [± 2.19] |
| Sodio (ppm) | 5.06 [± 0.40] |
| Potasio (ppm) | 68.11 [± 0.36] |
| Magnesio (ppm) | 15.90 [± 0.60] |
| Sacarosa (g/L) | 4.90 [± 0.02] |
| pH | 3.70 [± 0.43] |

[σ] = Desviación estándar

7.2. Obtención de consorcios de microorganismos.

Para la obtención de microorganismos con la capacidad de emplear a las vinazas como fuente de carbono y energía, se seleccionaron muestras de tres fuentes naturales y la mezcla de ellas (cuadro 5.1), las cuales se inocularon en las vinazas y se aclimataron durante un periodo de un mes, realizándose recambios cada semana. Al final, se obtuvieron ocho consorcios de microorganismos, de los cuales cuatro se habían mantenido en matraces cerrados (anaerobios facultativos) y otros cuatro en matraces con aireación constante (aerobios).

Cuadro 5.1. Fuentes naturales empleadas en el estudio.

| Consortio | Fuente de microorganismos |
|------------------|--|
| A | Cubas de fermentación de melazas. |
| B | Vinazas diluidas con agua proveniente de las torres de enfriamiento. |
| C | Suelo cercano al lugar donde se vierten las vinazas diluidas. |
| D | Mezcla de A, B y C. |

Muestras tomadas de la Planta de Elaboración de Ron ubicada en Chilapa de Díaz, Tamazulapan, Oax.

7.3. Selección.

Los consorcios de microorganismos aclimatados, se sometieron a una selección en dos etapas (anaerobia facultativa y aerobia), en las cuales se realizaron tres cinéticas de una semana de duración cada una; la DQO se determinó para establecer el porcentaje de remoción de contaminantes por cada uno de los consorcios; en el cuadro 7.2 se presentan los resultados de la primera etapa.

Cuadro 7.2. Porcentaje de remoción de DQO en la primera etapa de selección.

| Consorcio | Cinética 1 | Cinética 2 | Cinética 3 |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| A | 40 | 26 | 18 |
| B | 40 | 14 | 21 |
| C | 25 | 17 | 29 |
| D | 30 | 24 | 28 |

Se realizó un análisis de varianza para determinar si existía diferencia significativa entre los porcentajes de remoción de DQO de los consorcios, estableciendo con un nivel de significancia del 5% que no había; tomando entonces como criterio de selección la mayor variedad de microorganismos presentes en el consorcio proveniente de la mezcla de las fuentes naturales (D) los cuales pudieran presentar ventajas en la adaptación al medio de cultivo y una degradación mayor de contaminantes, con respecto a las fuentes individuales.

La variación en los resultados obtenidos en cada una de las cinéticas realizadas, podría deberse a que en los cultivos por lote, la composición del medio está variando a lo largo del tiempo, siendo ésta la causa por la cual la población microbiana presente gran variedad de estados fisiológicos (Galíndez y Ruiz, 1994), y por lo tanto, diferencias en el consumo de sustrato, formación de producto y remoción de contaminantes entre una cinética y otra; así como a la falta de contacto uniforme entre los microorganismos y el medio.

Por otra parte, las eficiencias bajas obtenidas durante esta etapa de selección, podrían deberse a que bajo condiciones anaerobias, la presencia de compuestos fenólicos inhiben el crecimiento de los microorganismos (Jiménez, *et al.*, 2003).

En el cuadro 7.3 se muestran los resultados obtenidos en la segunda etapa de selección; se realizó un análisis de varianza para determinar si existía diferencia significativa entre los porcentajes de remoción de DQO de los consorcios, estableciendo con un nivel de significancia del 5% que sí había diferencia, lo cual podría ser atribuido a la variedad de microorganismos encontrados en cada uno de

los consorcios así como a las características que implica un cultivo por lote. Tomando en cuenta lo anterior y la eficiencia de remoción de DQO del consorcio D durante las tres cinéticas realizadas éste se seleccionó para la siguiente etapa.

Cuadro 7.3. Porcentaje de remoción de DQO en la segunda etapa de selección.

| Consortio | Cinética 1 | Cinética 2 | Cinética 3 |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| A | 26 | 18 | 22 |
| B | 2 | 3 | 1 |
| C | 28 | 22 | 24 |
| D | 51 | 56 | 56 |

7.4. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema por lote.

El empleo de soportes en los biorreactores es benéfico por su eficiencia alta de remoción, economía, producción de lodos baja (debido a la formación de biopelículas) y requerimientos de espacio menores (Tabares, Santana y Capdeville, 1995, en: Rivas, Nevárez, Bautista, Pérez, y Saucedo, 2003).

Por lo anterior, en el presente estudio se empleó poliestireno expandido de baja densidad (unicel) como medio de soporte para los microorganismos, permitiendo con ello un tiempo de contacto mayor entre los mismos y las vinazas.

El biorreactor se mantuvo en operación en sistema por lote, determinando la eficiencia de remoción de DQO en tres cinéticas con duración de una semana cada una, en las cuales se obtuvieron los siguientes porcentajes de remoción: 20, 32 y 28%, éstos resultados son similares a los obtenidos en la primera etapa de selección, no existiendo un aumento en la eficiencia de remoción de DQO.

7.5. Determinación de remoción de DQO en el biorreactor anaerobio de lecho fijo en sistema continuo de una etapa.

El reactor empacado se mantuvo en operación en sistema continuo de una etapa, suministrando medio a una velocidad de 0.5 mL/minuto y tomando muestras para su análisis en el estado de equilibrio dinámico; los resultados de tres cinéticas de una duración de cuatro días cada una (en base al cálculo del tiempo de residencia), fueron 21, 15 y 20%; disminuyendo la eficiencia de remoción de DQO con respecto al sistema por lote, atribuyendo esto a que el tiempo de residencia de los microorganismos en el sistema es menor.

Al término de las cinéticas, el reactor se desempacó y se observó que en las partes superficiales del unicel no hubo formación de biopelícula (figura 7.1), caso contrario a lo sucedido en las partes profundas del mismo; al tomar una muestra de la superficie del unicel y observarse al microscopio se apreció la presencia de bacterias y levaduras. La poca adherencia de los microorganismos al unicel podría deberse a la presencia de zonas sin hoquedades en el soporte.

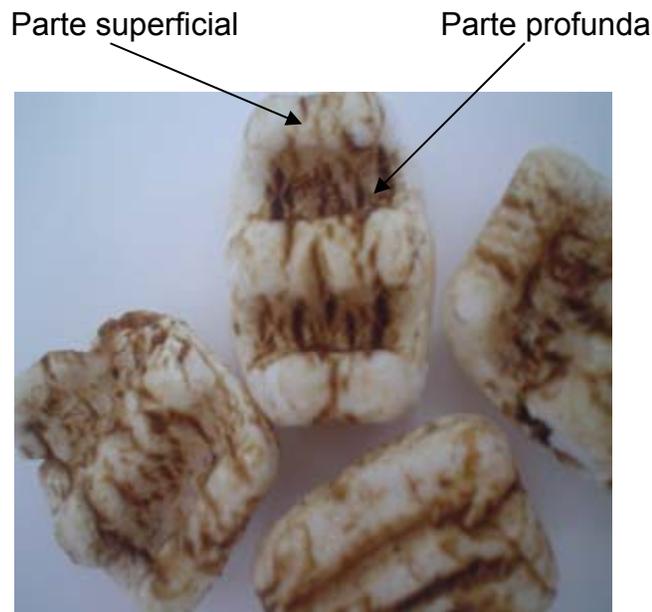


Figura 7.1. Poliestireno inoculado con el consorcio aislado en la primera etapa de selección.

7.6. Determinación de remoción de DQO en la columna de burbujeo en sistema por lote.

Para mantener un medio homogéneo y proveer del oxígeno necesario para el crecimiento de los microorganismos, se empleó una columna de burbujeo la cual se operó en sistema por lote a un volumen de 1.5 L de medio; suministrando aire a una velocidad de 1 L/minuto. Se determinó la eficiencia de remoción de contaminantes medida como DQO durante tres cinéticas de una semana cada una, obteniendo los resultados siguientes: 55, 51 y 49%, los cuales son similares a los reportados por Jiménez *et al.*, (2003), quienes obtuvieron eficiencias de remoción de DQO en un intervalo del 50 a 52% al emplear *Penicillium sp.* y *P. decumbens*, en 1 L de vinazas con DQO de 80500 ppm en un reactor agitado a 100 rpm y flujo de aire de 0.05 L/minuto en corridas de cinco días.

7.7. Determinación de remoción de contaminantes en la columna de burbujeo en sistema continuo de una etapa.

Se probaron dos velocidades de alimentación: 0.5 y 1.0 mL/minuto; realizando tres cinéticas para cada velocidad, las cuales duraron cuatro días para 0.5 mL/minuto y dos días para 1.0 mL/minuto (tiempo calculado en base a la definición del tiempo de residencia); se tomaron las muestras en el estado de equilibrio dinámico, los resultados se presentan en el cuadro 7.4. Se puede ver que el intervalo de remoción en la velocidad de 0.5 mL/minuto fue de 8 a 12% y en el de 1.0 mL/minuto de 4 a 7%.

Cuadro 7.4. Porcentajes de remoción de DQO en columna de burbujeo en sistema continuo.

| Velocidad | Cinética 1 | Cinética 2 | Cinética 3 |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 0.5 mL/minuto | 8 | 11 | 12 |
| 1.0 mL/minuto | 4 | 7 | 6 |

Al realizar un análisis de varianza para determinar si existía diferencia significativa entre las velocidades de alimentación, se estableció con un nivel de significancia del 5% que sí había diferencia. Como se puede observar, la eficiencia de remoción de contaminantes disminuyó al aumentar la velocidad de alimentación, lo cual se puede atribuir a que los tiempos de contacto entre los microorganismos y el medio son menores, no siendo suficiente para degradar en su totalidad a los componentes de las vinazas.

En el estudio realizado por Pérez, Romero y Sales en 1997, concluyeron que la eficiencia de remoción de sustrato es una función del tiempo de residencia al emplear un sistema anaerobio termofílico operando en sistema continuo; lo cual concuerda con el resultado mostrado por la columna de burbujeo en sistema continuo.

7.8. Determinación de parámetros cinéticos.

A fin de establecer el tiempo de contacto necesario entre los microorganismos y el medio para obtener una eficiencia mayor de remoción de contaminantes en el sistema aerobio en cultivo continuo de una etapa, se determinaron los parámetros cinéticos del consorcio de microorganismos.

La curva de velocidad de crecimiento de biomasa se obtuvo al graficar los datos de la velocidad específica de crecimiento (μ) con respecto al sustrato sacarosa (S); el valor máximo observado en la curva corresponde a $\mu_{\text{máx}}$, que se muestra en la figura 7.2.

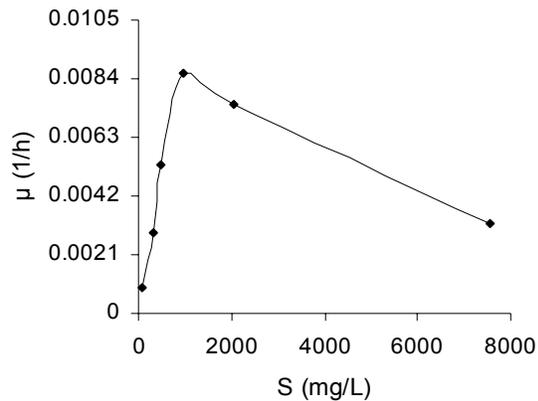


Figura 7.2. Curva de velocidad de crecimiento de biomasa.

El valor máximo de la velocidad de crecimiento fue de 0.0086 h^{-1} ($\mu_{\text{máx}}$), y de la misma curva, se obtuvo un valor de la constante de saturación (K_s) de 425 mg/L de sacarosa.

Una particularidad de los cultivos continuos de una etapa es que la velocidad de dilución es igual a la velocidad específica de crecimiento de los microorganismos presentes en el sistema, $\mu=D$ (Galíndez y Ruiz, 1994), por lo anterior es necesario que la velocidad de dilución sea menor a la velocidad específica de crecimiento para asegurar la permanencia de ellos dentro del reactor ($\mu>D$).

La velocidad de dilución empleada en el sistema continuo de una etapa fue de $3.33 \times 10^{-4} \text{ minuto}^{-1}$ la cual es mayor a la velocidad de crecimiento máxima del consorcio $\mu_{\text{máx}}$ de $1.43 \times 10^{-4} \text{ minuto}^{-1}$; esto significa que el consorcio permanecía un tiempo menor al requerido, afectando la eficiencia de remoción de contaminantes. Por lo anterior, teóricamente se esperaría que al emplear un flujo de alimentación de 0.2 mL/minuto , que corresponde a una velocidad de dilución de $1.33 \times 10^{-4} \text{ minuto}^{-1}$, el cual es menor a la $\mu_{\text{máx}}$; el tiempo de contacto entre el medio y los microorganismos aumentaría y consecuentemente la eficiencia de remoción de contaminantes.

Cabe mencionar que para operar a 0.2 mL/minuto, el diámetro de la tubería tendría que ser menor a 0.2 mm, el cual podría ser obstruido por sólidos en suspensión, siendo poco factible su uso para el tratamiento de las vinazas.

8. CONCLUSIONES

Se obtuvieron y seleccionaron consorcios de microorganismos con la capacidad de emplear a las vinazas como fuente de carbono y energía a partir de la mezcla de fuentes naturales.

Al emplear el biorreactor anaerobio de lecho fijo, se obtuvieron eficiencias de remoción de DQO en el intervalo de 20 a 32% al operarse en sistema por lote y de 15 a 21% en sistema continuo.

La columna de burbujeo (biorreactor aerobio) presentó eficiencias de remoción en el intervalo de 49 a 55% en sistema por lote y de 8 a 12% en sistema continuo.

De los sistemas probados, la eficiencia mayor de remoción de DQO en las vinazas se obtuvo en la columna de burbujeo en cultivo por lote inoculada con un consorcio de microorganismos provenientes de la mezcla de las fuentes naturales: cubas de fermentación de melazas, vinazas diluidas con agua proveniente de las torres de enfriamiento y suelo cercano al lugar donde se vierten las vinazas diluidas.

9. PERSPECTIVAS

Probar un sistema combinado aerobio-anaerobio para la eliminación de los contaminantes presentes en las vinazas.

Realizar la determinación en concentración de compuestos fenólicos como posible factor en la inhibición del crecimiento de los microorganismos anaerobios.

Utilizar los parámetros cinéticos obtenidos para encontrar las condiciones óptimas de operación de sistemas de tratamiento de vinazas mediante el uso de simuladores.

Con la eficiencia obtenida en la columna de burbujeo en sistema por lote, se disminuye la DQO inicial de las vinazas de 60000 ppm a 30000 ppm, siendo este valor superior a lo establecido por la NOM-001-ECOL-1996, por lo que, se podría implementar un tratamiento físico-químico posterior al tratamiento biológico para cumplir con lo estipulado en la misma

BIBLIOGRAFÍA

- APHA, WEF y AWWA. (1992). *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*, Ediciones Díaz de Santos, España.
- Badui D. S. (1998). *Diccionario de tecnología de alimentos*, Addison Wesley Longman, México, 172.
- Beltrán F. J., García A. J. F., Álvarez P. (1999). *Wine distillery wastewater degradation. 1. Oxidative treatment using ozone and its effect on the wastewater biodegradability*, J. Agric., Food Chem., 47, 3911-3918.
- Castañón G. J. H. (1999). *Construcción y caracterización de una torre de contacto gas-líquido para tratamiento de residuos fenólicos*, Instituto Politécnico Nacional, México, 15-18, 24-28.
- Chisti Y. y Moo-Young M. (2002). *Bioreactors*, Encyclopedia of Physical Science and Technology, 2 , 247-266.
- Comisión Nacional del Agua. (2005). *Estadísticas del agua en México*, en: http://www.cna.gob.mx/eCNA/Espaniol/Estadisticas/Central/Cap_6_EAM2005.pdf, consultada en Mayo 17 de 2006
- Costerton J. W. (1999). *Introduction to biofilms*, en Biopelículas: una comunidad en desarrollo, Colombia Médica, en: <http://colombiamedica.univalle.edu.co/>, 35, 3, consultada en Enero 21 de 2006.
- Dubois M., Pilles, K. A., Hamilton J. K., Rebers P. A. y Smith, F. (1956). *Colorimetric methods for determination of sugars and related substances*, Anal. Chem., 28, 350-355.

- Galíndez M. J. y Ruiz O. N. **(1994)**. *Bioingeniería. Fundamentos biocinéticos para el diseño de procesos fermentativos*, Instituto Politécnico Nacional. México.
- García G. I., Bonilla V. J. L., Jiménez P. P. R. y Ramos G. E. **(1997)**. *Biodegradation of phenol compounds in vinasse using Aspergillus terreus and Geotrichum candidum*, Wat. Res., 31, 2005-2010.
- Guevara L. E. **(2004)**. *Diseño, construcción y caracterización hidrodinámica de un biorreactor multifuncional*, Universidad Tecnológica de la Mixteca, México, Tesis de licenciatura.
- Hideki H., Shigeki U., Ann-Cheng C. y Jayabalasingham J. **(1996)**. *Anaerobic treatment of a recalcitrant distillery wastewater by a thermophilic UASB reactor*, Biores. Tech., 55, 215-221.
- Jekins D., Snoeyink V. L., Ferguson F. J., Leckier J. O. **(1995)**. *Química del agua. Manual de laboratorio*, Limusa-Noriega Editores, México.
- Jiménez M. A., Borja R., Martín A. **(2003)**. *Aerobic-anaerobic biodegradation of beet molasses alcoholic fermentation wastewater*, Process Biochem., 38, 1275-1284.
- Manual de operación de espectrofotómetro Hach DR 2000.
- Mc Ghee J. T. **(1999)**. *Abastecimiento de agua y alcantarillado. Ingeniería Ambiental*, 6ª Edición, Mc Graw Hill, Colombia.
- Metcalf y Eddy. **(1991)**. *Wastewater engineering. treatment, disposal and reuse*, 3rd Edition, Mc Graw-Hill International, U.S.A.
- Nielsen J., Villadsen J. y Lidén G. **(2003)**. *Bioreaction engineering principles*, 2nd Edition, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Norma Mexicana, Análisis de agua determinación de sólidos sedimentables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas método de prueba NMX-AA-004-SCFI-2000.

Norma Oficial Mexicana 001-ECOL-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales.

Pelczar J. M., Reid D. R. y Chan E. C. S. **(1999)**. *Microbiología*, 2ª Edición, Mc Graw-Hill, México.

Pérez M., Romero L. I., Sales D. **(1997)**. *Thermophilic anaerobic degradation of distillery wastewater in continuous-flow fluidized bed bioreactors*, Biotech. Prog., 13, 33-380.

Perry y Green. **(1999)**. *Perry's chemical engineers' handbook*, 7th Edition, Mc Graw-Hill, U. S. A.

Ramalho R. S. **(1993)**. *Tratamiento de aguas residuales*, 2ª Edición, Reverté, Barcelona, España.

Rivas L. B. A., Nevárez M. V. G., Bautista M. R. G., Pérez H. A. y Saucedo T. R. **(2003)**. *Tratamiento de aguas residuales de uso agrícola en un biorreactor de lecho fijo*, Agrociencia, 37, 157-166.

Scragg A. **(1997)**. *Biotecnología para Ingenieros. Sistemas biológicos en procesos tecnológicos*, Limusa, México, 287-311.

Seoanez C. M., Angulo A. I. **(1995)**. *Aguas residuales urbanas: Tratamientos naturales de bajo costo y aprovechamiento*, Ediciones Mundi-Prensa, España.

Skoog D. A., West D. M. **(1990)**. *Análisis instrumental*, 2ª Edición, Mc Graw Hill, México.

Spellman R. F., Whiting E. N. **(1999)**. *Water pollution control technology. Concepts and applications*, ABS Group, U. S. A.

Stanbury P. F. and Whitaker A. **(1987)**. *Principles of fermentation technology*, Pergamon Press, Gran Bretaña.

APÉNDICES

A. Curva de calibración de sacarosa.

La curva de calibración se construyó empleando soluciones de sacarosa de 10, 20, 40 y 50 ppm, analizándose por triplicado, utilizando el espectrofotómetro UV/Vis, marca Perkin Elmer modelo Lambda 35. El coeficiente de correlación fue de 99.84 % con un error residual de 0.025139.

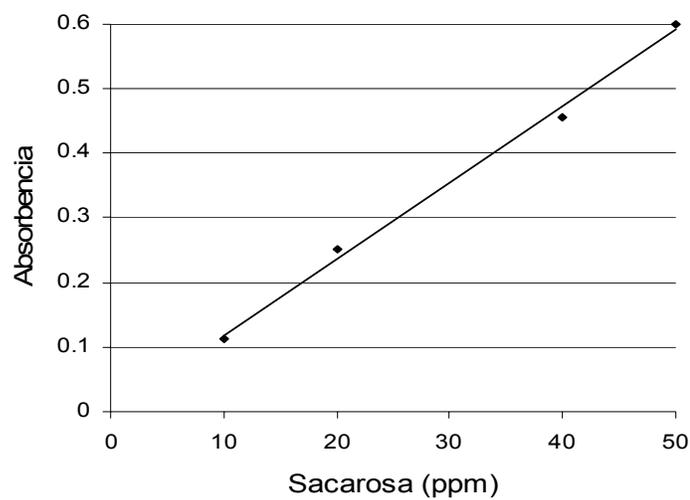


Figura A.1. Curva de calibración de sacarosa.

B. Sedimentación del medio.

Las vinazas se sedimentaron empleando un cono Imhoff, tal como lo establece la NMX-AA-004-SCFI-2000, para la determinación de sólidos sedimentables en aguas residuales; los resultados obtenidos se muestran en el cuadro B.1. A los 17 minutos se observó la sedimentación de las partículas más gruesas realizándose las lecturas, sin embargo, a la hora no se logró observar una lectura clara, lo cual sucedía a las 2 h de reposo del medio, llegando a una lectura máxima de 100 mL.

Cuadro B.1 Datos de sedimentación del medio.

| Tiempo (minutos) | Volumen (mL) | Tiempo (minutos) | Volumen (mL) |
|-------------------------|---------------------|-------------------------|---------------------|
| 0 | 0 | 10 | 4 |
| 2 | 1 | 11 | 5 |
| 3 | 1 | 12 | 5 |
| 4 | 2 | 13 | 6 |
| 5 | 2 | 14 | 6 |
| 6 | 3 | 15 | 6 |
| 7 | 3 | 16 | 6 |
| 8 | 4 | 17 | 6 |
| 9 | 4 | | |

C. Porcentaje de recobro en la determinación de calcio, magnesio, sodio y potasio por espectrofotometría de absorción atómica.

Se prepararon por triplicado diluciones de los estándares para absorción atómica a una concentración conocida de calcio, magnesio, sodio y potasio, las diluciones se transfirieron cada una a vasos de precipitado y se les agregó 10 mL de ácido clorhídrico al 10%. Las muestras se digirieron, calentándolas en una parrilla marca Thermoline, a una temperatura de 80°C durante 2 h, tapando los vasos con un vidrio de reloj. Las muestras se filtraron a través de un filtro Whatman No. 42 y se vertieron en matraces volumétricos aforando a 100 mL. Se determinó la concentración de cada uno de los estándares según las condiciones que se mencionan en el cuadro C.1; con los resultados obtenidos se calculó el porcentaje de recobro, el cual se menciona para cada elemento en el cuadro C.2.

Cuadro C.1. Especificaciones en la determinación de elementos por absorción atómica.

| Elemento | Longitud de onda (nm) | Lámpara de cátodo hueco | Flama |
|----------|-----------------------|-------------------------|-------------------------|
| Calcio | 422.7 | Ca-Mg | Óxido nitroso-acetileno |
| Magnesio | 285.2 | Ca-Mg | Aire-acetileno |
| Sodio | 589 | Na-K | Aire-acetileno |
| Potasio | 766.5 | Na-K | Aire-acetileno |

Cuadro C.2. Porcentaje de recobro en la determinación de elementos por absorción atómica.

| Elemento | Concentración esperada (ppm) | Concentración obtenida (ppm) | Porcentaje de recobro (%) |
|----------|------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| Calcio | 15.00 | 12.44 | 82.96 |
| Magnesio | 5.00 | 4.91 | 98.14 |
| Sodio | 2.00 | 1.84 | 92.00 |
| Potasio | 2.00 | 1.46 | 73.00 |

ANEXOS

a) Diagramas de columna de burbujeo.

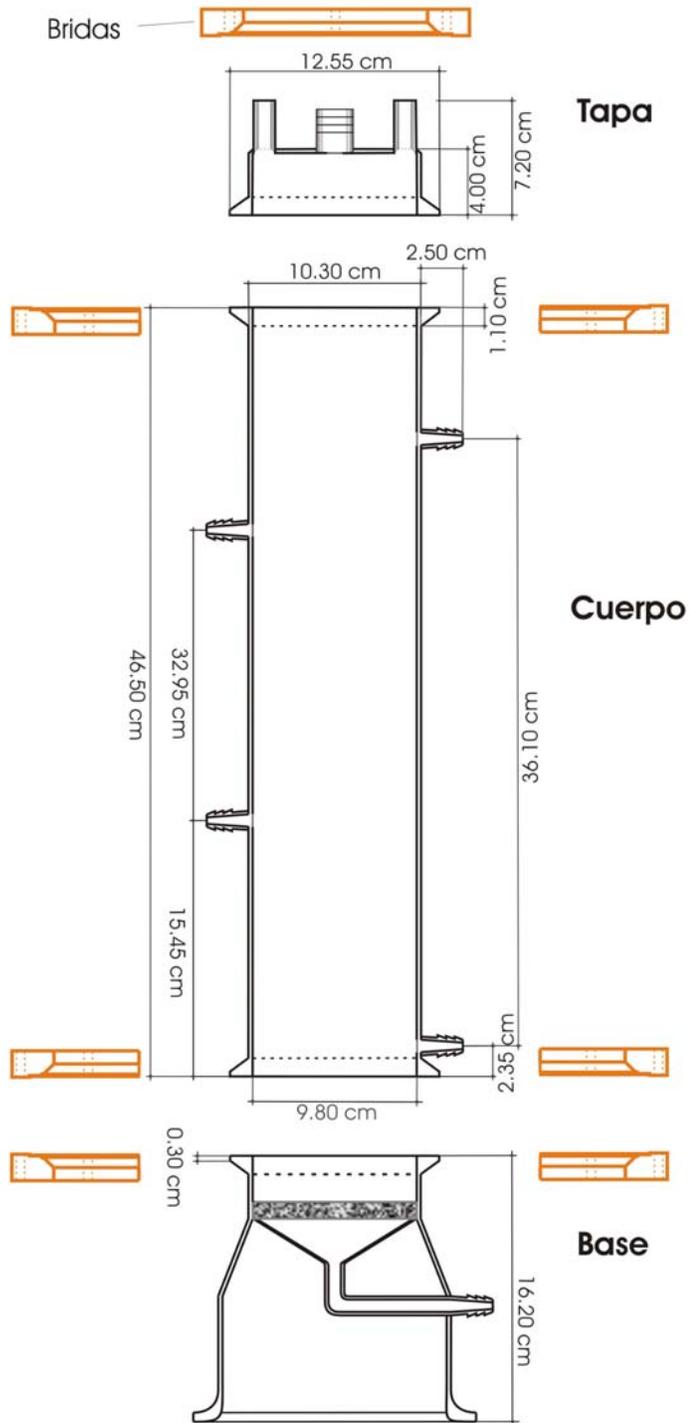
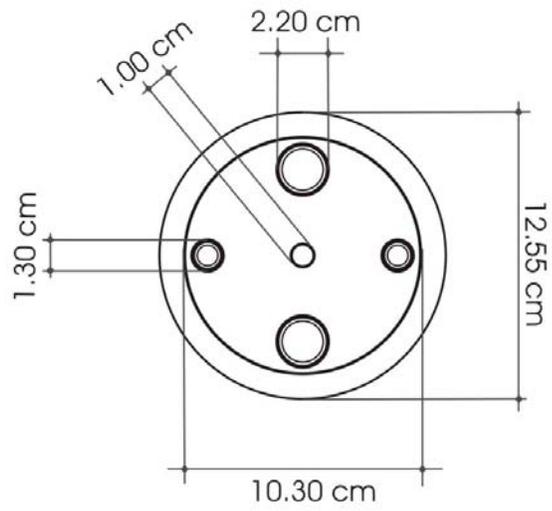


Figura a.1. Columna de burbujeo, tomado de Guevara, 2004.

Vista superior de la tapa



Vista frontal de la tapa

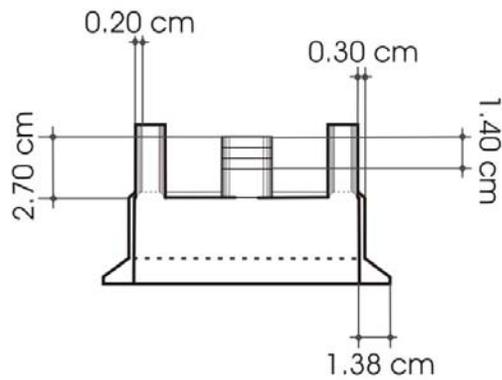


Figura a.2. Vistas superior y frontal de la tapa de la columna de burbujeo, tomado de Guevara, 2004.

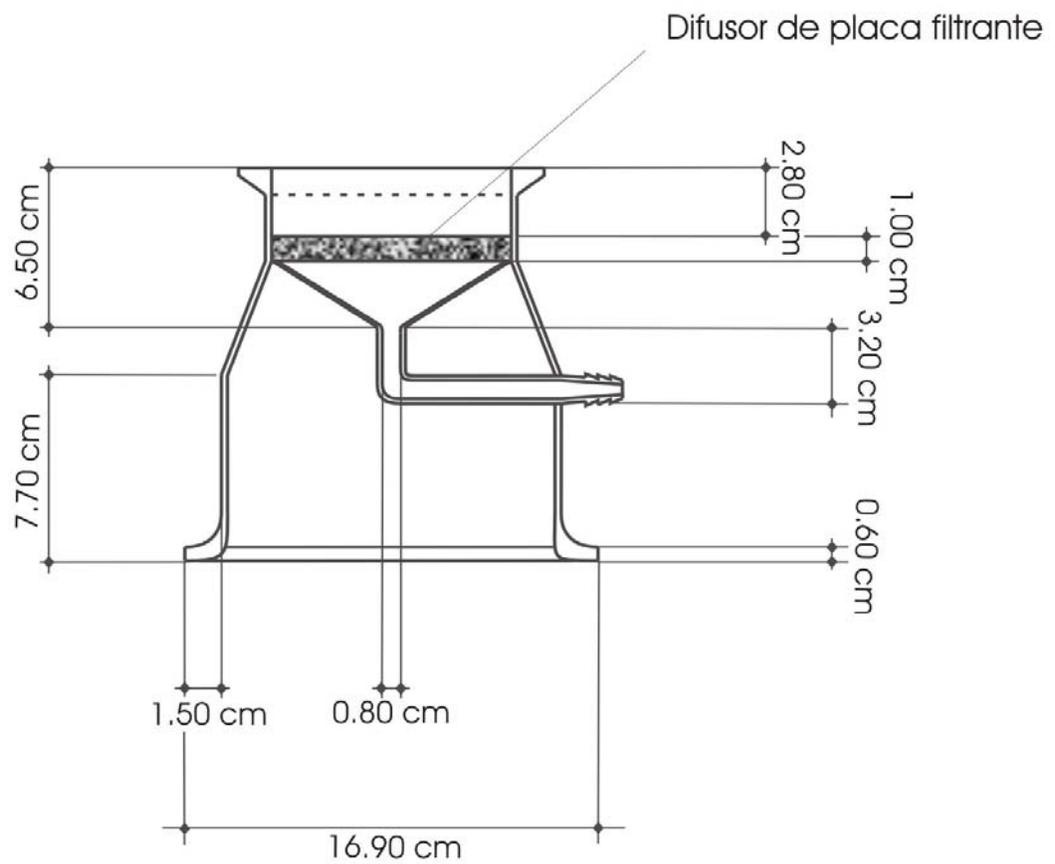


Figura a.3. Base de la columna de burbujeo con difusor de placa filtrante, tomado de Guevara, 2004.

b) Diagrama de biorreactor anaerobio.

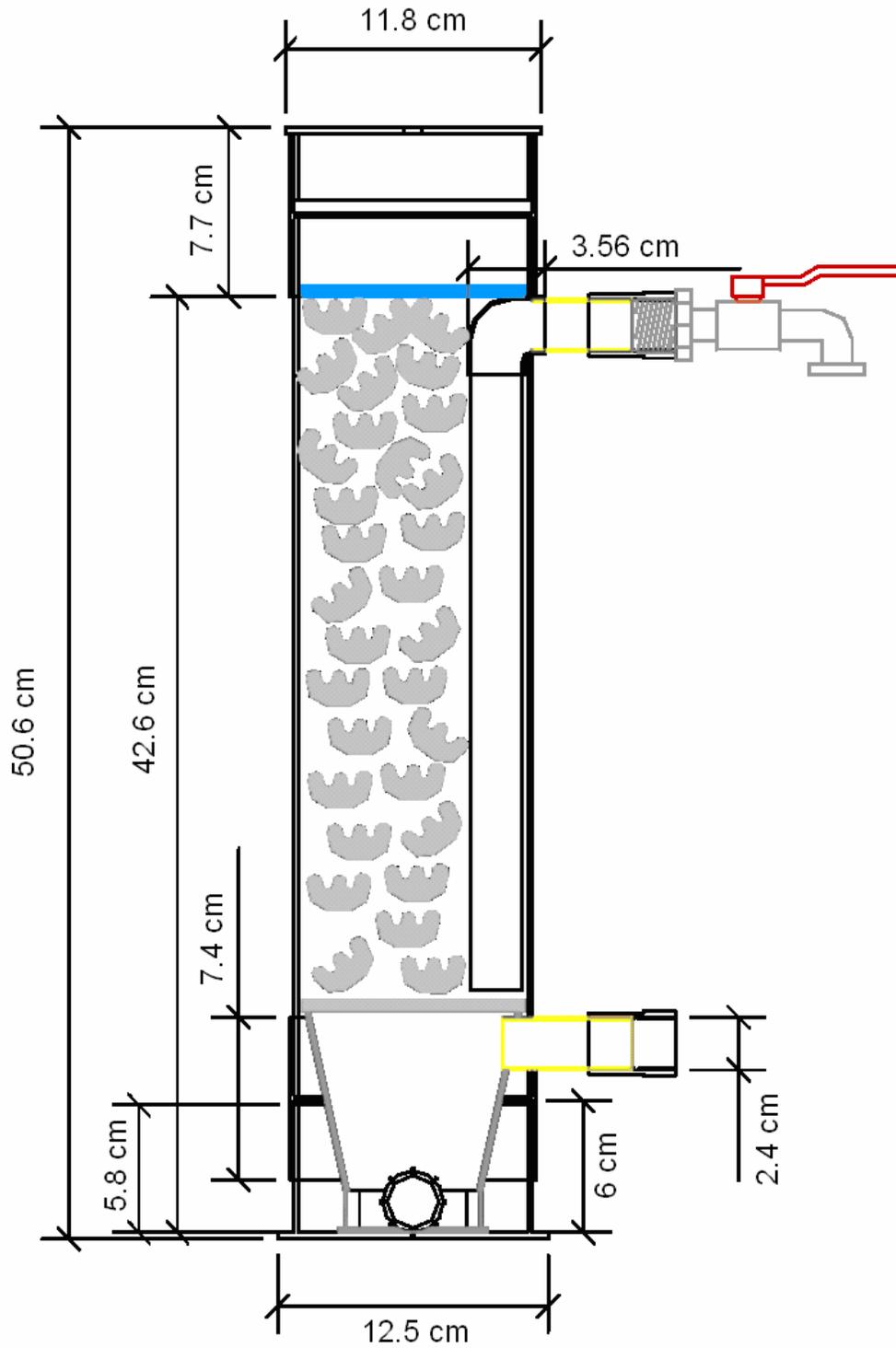


Figura b.1. Biorreactor empacado con unicel.

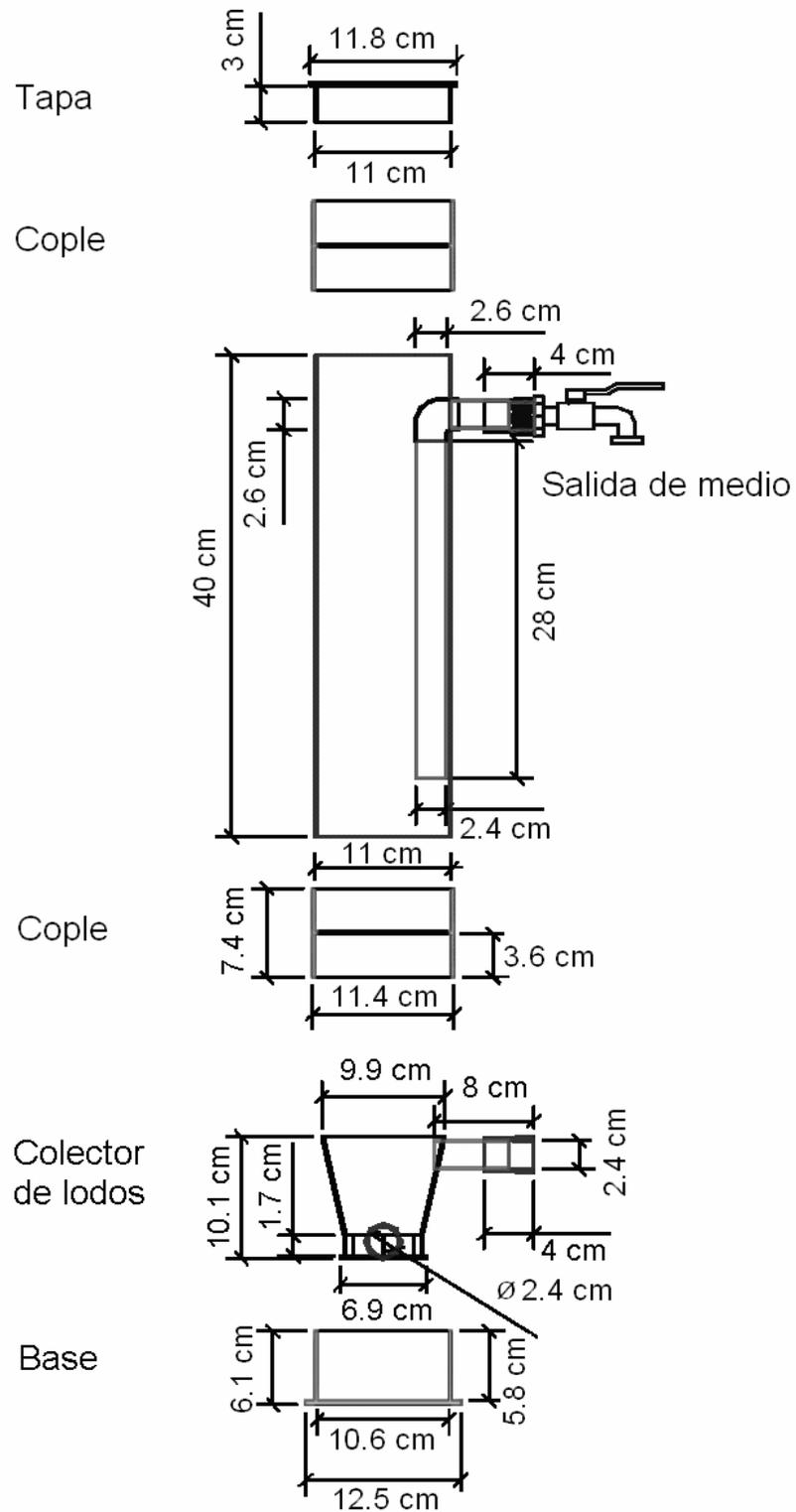


Figura b.2. Biorreactor anaerobio.