



EVALUACIÓN DEL OZONO COMO PROCESO
AVANZADO DE OXIDACIÓN EN EL PRE-TRATAMIENTO
DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA PARA LA OBTENCIÓN
DE METANO A PARTIR DE VINAZAS.



MARÍA FERNANDA DURÁN MENESES

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE INGENIERÍA - PROGRAMA INGENIERÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA – ESCUELA DE INGENIERÍA DE RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE – EIDENAR

2012



EVALUACIÓN DEL OZONO COMO PROCESO
AVANZADO DE OXIDACIÓN EN EL PRE-TRATAMIENTO
DE LA DIGESTIÓN ANAEROBIA PARA LA OBTENCIÓN
DE METANO A PARTIR DE VINAZAS.



MARÍA FERNANDA DURÁN MENESES

Proyecto de Grado Presentado como requisito Parcial para optar el Título de

INGENIERO AGRÍCOLA

Directores:

PhD. IRMA JANETH SANABRIA G.
Docente Escuela EIDENAR – UNIVALLE.

PhD. NELSON GUTIÉRREZ G.
Docente Facultad de Ingeniería – USCO.

UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA
FACULTAD DE INGENIERÍA - PROGRAMA INGENIERÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD DEL VALLE
FACULTAD DE INGENIERÍA – ESCUELA DE INGENIERÍA DE RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE – EIDENAR

Nota de aceptación

Jurado

Jurado

Neiva, noviembre de 2012

DEDICATORIA

A mi familia por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mi madre por su cuidado y amor ilimitado,

A mi padre por creer en mí,

A Andrea, Gina e Isa, crecer a su lado fue una experiencia divertidísima, aprendí mucho de ustedes y aún sigo haciéndolo,

A Coni, Sofi, Juan, Dani, Majo y Viole por ser mi fuerza, mi motor, mi inspiración,

A Nico por todas las experiencias buenas y malas que compartimos a lo largo de estos años, gracias por tomar mi mano,

A Ferb, gracias por ser mi amigo, mi cómplice, mi maestro en esta travesía,

Este trabajo ha sido posible gracias a ustedes, los amo.

María Fernanda Durán Meneses.

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos:

A la profesora Janeth Sanabria de la Universidad del Valle por su tiempo, conocimiento y por darme esta oportunidad.

A Dany Acevedo, Sara Morales, Alejandra Tobón y Marian Morales estudiantes de la Universidad del Valle por su ayuda, tiempo, paciencia y cariño, más que compañeras de trabajo grandes amigas. Para ellas, mis más sinceros agradecimientos.

Al profesor Nelson Gutiérrez de la Universidad Surcolombiana por su invaluable orientación.

A la Universidad del Valle y al grupo de investigación GAOX por facilitar los espacios y la financiación necesaria para el desarrollo de esta investigación.

Al profesor Fiderman Machuca de la Universidad del Valle por su conocimiento, el apoyo y la confianza.

A la profesora Luz Edith Barba por facilitar el espacio y los equipos del laboratorio de química ambiental de la Universidad del Valle.

Por último, agradezco a los profesores y compañeros, por compartir sus experiencias y conocimiento, y darme la oportunidad de aprender de ellos. Del mismo modo aquellas personas que de una u otra forma colaboraron para que este proyecto fuera posible.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. JUSTIFICACIÓN.....	5
3. MARCO TEÓRICO.....	7
3.1. CAÑA DE AZÚCAR	7
3.1.1. Composición Química de la Caña de Azúcar	7
3.1.2. Proceso de Transformación de la Caña de Azúcar en Alcohol..... Carburante.	8
3.2. VINAZA.....	10
3.2.1. Caracterización de la Vinaza.....	10
3.2.2. Producción de Vinazas en Colombia.....	11
3.2.3. Tratamiento de las Vinazas.....	11
3.3. DIGESTIÓN ANAEROBIA.....	12
3.3.1. Degradación Anaerobia de la Materia Orgánica.....	12
3.3.2. Bacterias Involucradas en el Proceso de Digestión Anaerobia	14
3.3.3. Biodegradabilidad Anaerobia.....	15
3.3.3.1. Método Volumétrico o por Desplazamiento.....	16
3.3.3.2. Método Manométrico o por Cromatografía de Gases.....	17
3.4. PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN PAOs.....	17
3.4.1. Ozono	18
3.4.1.1. Efecto del Ozono sobre los Compuestos Fenólicos.....	19
3.4.1.2. Generación de Ozono por Descarga de Barrera Dieléctrica.....	20
3.4.2. Acoples PAOs - Biológico	21
3.5. EL BIOGÁS.....	21
4. OBJETIVOS.....	26
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	26

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
5. METODOLOGÍA.....	27
5.1. LOCALIZACIÓN.....	27
5.2. DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO.....	27
5.2.1. Caracterización de las Vinazas.....	28
5.2.2. Comparación de los Métodos de Medición de Producción de Metano...	28
5.2.3. Reducción de Compuestos Fenólicos Mediante PAOs.....	31
5.2.4. Determinación de la Concentración de Fenoles en la Vinaza.....	32
5.2.5. Producción de Metano.....	34
5.2.5.1. Montaje del Ensayo de Biodegradabilidad Anaerobia.....	34
5.2.5.2. Seguimiento de la Producción de Metano.....	36
5.2.6. Análisis Estadístico de los Resultados.....	37
5.2.6.1. Análisis de la Comparación de Metodologías.....	37
5.2.6.2. Análisis de la Evaluación del Pretratamiento de la Vinaza.....	37
5.2.6.3. Análisis de la Producción de Metano.....	37
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
6.1. Caracterización del Sustrato.....	38
6.2. Comparación de los Métodos de Medición de Producción de Metano.....	38
6.2.1. Análisis Estadístico.....	40
6.3. Reducción de Compuestos Orgánicos Mediante PAOs.....	42
6.3.1. Análisis Estadístico.....	44
6.4. Resultados de la Producción de Metano.....	46
6.4.1. Análisis Estadístico.....	48
7. CONCLUSIONES.....	50
8. BIBLIOGRAFÍA.....	51
ANEXOS.....	57

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de los tallos de la Caña de Azúcar.....	
7;Error! Marcador no definido.Tabla 2. Composición química de los jugos de la Caña de Azúcar.....	8
Tabla 3. Características físico-químicas de la vinaza cruda (ingenio São Martinho)...	10
Tabla 4. Compuestos orgánicos presentes en la vinaza.....	11
Tabla 5. Relación SSV/AGV.....	15
Tabla 6. Procesos Avanzados de Oxidación.....	18
Tabla 7. Composición media del biogás proveniente de diferentes residuos orgánicos.....	22
Tabla 8. Cantidad de biogás producido a partir de vinaza.....	23
Tabla 9. Comparación energética del biogás con otros combustibles.....	23
Tabla 10. PCI de Diferentes Gases.	23
Tabla 11. Sistemas de almacenamiento de metano.	24
Tabla 12. Condición de operación de los reactores en la etapa de comparación.....	28
Tabla 13. Condiciones de operación para el proceso de ozonólisis.....	32
Tabla 14. Caracterización fisicoquímica de la vinaza (Ingenio Mayagüez, Candelaria - Colombia).	38
Tabla 15. Resumen de la producción de metano medido por los métodos desplazamiento y cromatografía de gases.....	41
Tabla 16. Reducción de materia orgánica en los pre-tratamientos, en términos de DQO.	42
Tabla 17. Reducción del contenido de fenoles en los pre-tratamientos.....	42
Tabla 18. Aumento en la biodegradabilidad anaerobia de la vinaza.....	43
Tabla 19. ANOVA de dos vías: concentración de fenol frente al tiempo de ozonización y pH.....	44
Tabla 20. Variación de la concentración de fenol frente al tiempo de ozonización....	44
Tabla 21. Variación de la concentración de fenol frente al pH del sustrato.....	45
Tabla 22. Resumen de la producción de metano en los tratamientos.....	47
Tabla 23. ANOVA de dos vías: producción de metano frente al tiempo de ozonización y pH.....	48
Tabla 24. Variación de la producción de metano frente al tiempo de ozonización	49
Tabla 25. Variación de la producción de metano frente al pH del sustrato.....	49
Tabla 26. Composición de la Solución de vitaminas.....	57
Tabla 27. Presión en mbar en los reactores durante los días del experimento.	58
Tabla 28. Valor de Metano reportado por el cromatógrafo en ppmv durante los días del experimento.....	58
Tabla 29. Valor de la producción de Metano en μmol	59
Tabla 30. Valores de la producción de Metano.....	59
Tabla 31. Volumen de metano desplazado acumulado en mL de CH_4 reportado.....	61
Tabla 32. Variación de la presión atmosférica de acuerdo a la altura sobre el nivel del mar.....	62
Tabla 33. Factores de conversión para el cálculo del contenido de DQO a gas metano.....	62

Tabla 34. Valores de la producción de metano.....	63
Tabla 35. Valor promedio de la producción de metano (40 días) reportada por el método desplazamiento comparado con el análisis del gas contenido en la trampa de NaOH mediante cromatografía.....	64
Tabla 36. Variación del contenido de fenol en una solución pura de aproximadamente 1000 ppm.....	64
Tabla 37. Variación del contenido de fenol en una solución pura de aproximadamente 600 ppm.....	65
Tabla 38. Variación del contenido de fenol en una solución pura de aproximadamente 200 ppm.....	65

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Esquema del proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar.	9
Figura 2. Principales etapas de la digestión anaerobia y grupos bacterianos involucrados.....	13
Figura 3. Medición de la actividad metanogénica por desplazamiento.	16
Figura 4. Cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14.....	17
Figura 5. Estructura química del fenol.....	19
Figura 6. Ejemplo del ataque electrolítico del ozono sobre un compuesto aromático.....	20
Figura 7. Etapas de producción y utilización del biogás.....	22
Figura 8. Esquematación del proyecto.	27
Figura 9. Tapones en PVC y trampas de NaOH sistema de reactores método por desplazamiento.....	29
Figura 10. Reactores método por cromatografía de gases.....	30
Figura 11. Condición de operación de los reactores método por desplazamiento y por cromatografía.....	30
Figura 12. Sistema de ozonización de las vinazas.....	31
Figura 13. Montaje de destilación extractiva para fenol.	33
Figura 14. Análisis por espectrofotometría.....	33
Figura 15. desplazamiento de O ₂ con nitrógeno y cierre de los reactores con sello metálico.	35
Figura 16. siembra de reactores en anaerobiosis.	35
Figura 17. reactores inoculados.....	35
Figura 18. Cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14.....	36
Figura 19. Producción de CH ₄ por cromatografía y desplazamiento a partir de vinaza cruda, AGV y lodo.....	39
Figura 20. Producción de CH ₄ por cromatografía y desplazamiento a partir de los controles vinaza cruda y AGV sin inóculo.	40
Figura 21. Producción acumulada de CH ₄ a partir de Vinaza pre-tratada con ozono a 7, 15 y 30 minutos.....	46
Figura 22. Resumen de la producción de metano en los tratamientos.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS

AGV: Ácidos Grasos Volátiles

APHA: American Public Health Association

ASOCAÑA: Asociación de Cultivadores de Caña de Azúcar de Colombia

CENICAÑA: Centro de Investigación de la caña de azúcar de Colombia

CH₄: Metano

DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno

DQO: Demanda Química de Oxígeno

H₃PO₄: Ácido fosfórico

MAVDT: Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial de Colombia.

NaOH: Hidróxido de Sodio

PAOs: Procesos Avanzados de Oxidación

PCI: Poder Calorífico Interior

Ptto: Pre-tratamiento

SST: Sólidos suspendidos totales

SSV: sólidos suspendidos volátiles

UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket

RESUMEN

Se evaluó la aplicación de tecnologías de oxidación avanzada en aguas residuales provenientes del proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar como tratamiento para la disminución de compuestos orgánicos de difícil degradación, especialmente compuestos aromáticos, los cuales a demás de ser altamente tóxicos inclusive a bajas concentraciones, presentan resistencia a ser transformados mediante tratamientos biológicos.

Dos métodos de cuantificación de producción de metano fueron comparados empleando vinaza como sustrato: desplazamiento y cromatografía de gases. La remoción de compuestos fenólicos presentes en la vinaza también fue evaluada utilizando un proceso avanzado de oxidación (PAOs) basado en ozono acoplado a un proceso biológico anaerobio. Las evaluaciones de los tratamientos se realizaron determinando los cambios en la concentración de compuestos fenólicos en función del tiempo de aplicación de ozono (7 – 15 – 30 minutos) y pH (4.42 – 7.47) con el fin de determinar la influencia de éstos factores sobre la producción de metano en el proceso de digestión anaerobia.

Los resultados indican que no existen diferencias significativas entre los dos métodos de cuantificación de producción de metano evaluados cuando el sustrato empleado es vinaza cruda. El pH neutro favorece en un 27% más la remoción de compuestos fenólicos presentes en la vinaza en comparación al pH ácido. Se observó que después del proceso de ozonización a pH neutro la concentración de fenoles disminuye un 62% influenciando la producción de metano en un 70%.

El tratamiento PAOs (O₃) - biológico para el mejoramiento de la producción de biogás en la vinaza representa una buena oportunidad para la sustitución de combustibles de origen fósil, debido al valor energético del CH₄ 11350 Kcal.Kg⁻¹ y al aumento en la producción de metano a partir de vinaza pre-tratada 70% mayor con respecto a la vinaza cruda.

Palabras clave: desplazamiento, cromatografía de gases, PAOs, ozonización, compuestos fenólicos, digestión anaerobia.

ABSTRACT

The application of advanced oxidation technologies was evaluated in wastewaters from the process of obtaining ethanol from sugar cane as a treatment for the reduction of organic compounds difficult to degrade, especially aromatic compounds which are also highly toxic even at low concentrations, showing resistance to being transformed by biological treatments.

Two methods of quantification of methane production were compared using vinasse as substrate: displacement and gas chromatography. The removal of phenolic compounds present in vinasse was also evaluated using an advanced oxidation process (AOPs) based on coupled ozone to an anaerobic biological process. Evaluations of the treatments were performed by determining the changes presented on the concentration of the phenolic compounds as a function to the ozone application time (7 – 15 – 30 minutes) and pH (4.42 – 7.47) to determine the influence of these factors on the methane production in the anaerobic digestion process.

Results indicate no significant differences between the two methods of quantification of methane production evaluated when the used substrate is row vinasse. The neutral pH favours by 27% over the removal of phenolic compounds present in the vinasse in comparison to acid pH. It was observed that after the ozonisation process at neutral pH the concentration of phenol decrease by 62% influencing the methane production by 70%.

Biological AOPs (O₃) treatments for the biogas production improvement in vinasse represents a good opportunity for the substitution of fossil fuels, due to energetic value of CH₄ 11350 Kcal.Kg⁻¹ and the increase in the methane production from pre-treated vinasse 70% higher related to row vinasse.

Key words: *Displacement, gas chromatography, AOPs, ozonisation, phenolic compounds, anaerobic digestion.*

1. INTRODUCCIÓN

El afán por reemplazar los combustibles fósiles con biocombustibles ha generado un crecimiento desmesurado en la producción de alcohol carburante, biodiesel y de los residuos propios de cada proceso (Gil, 2011). En el caso preciso del bioetanol, se estima que en el año 2010, se produjeron 23.012 millones de 12 galones de etanol en el mundo, Colombia (séptimo productor de etanol a nivel mundial), produjo 83,2 millones de galones en 2009 (RFA 2011).

La vinaza es un material líquido resultante de la producción de etanol ya sea por destilación de la melaza fermentada o de la fermentación directa de los jugos de la caña de azúcar (García et al, 2008).

Las vinazas son consideradas un residuo por las destilerías de caña de azúcar, estas son un subproducto derivado del proceso de la producción de alcohol, por cada litro de etanol producido se obtienen 13 litros de vinazas (Zolin et al, 2010), en el caso puntual de la industria azucarera del valle geográfico del río Cauca, se obtienen entre 0.8 hasta máximo tres litros de vinaza por cada litro de etanol (ASOCAÑA, 2010), como punto de referencia se toma la producción en el año 2011 en el departamento del Valle del Cauca (Colombia) de 412 millones de litros de etanol (ASOCAÑA, 2011), es decir, aproximadamente 1250 millones de litros de vinazas al año.

Las vinazas forman un efluente ácido con alta carga orgánica e inorgánica, incluyendo ácidos, carbohidratos, fenoles y compuestos insaturados; como resultado, presentan elevada Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO_5), alta concentración de sólidos y su inadecuado manejo puede causar problemas ambientales (especialmente en los ecosistemas acuáticos) y en la salud humana por su toxicidad (Caicedo et al, 2010).

Los ingenios azucareros del valle geográfico del río Cauca productores de etanol han adoptado un manejo riguroso de sus residuos, entre ellos la vinaza, que al estar compuesta por elementos menores como potasio es atractiva para los cultivadores de caña de azúcar, dados los requerimientos importantes de potasio en este cultivo (ASOCAÑA, 2010), sin embargo una manipulación inadecuada del líquido o dosis muy severas generan a largo plazo desbalance de sales en el suelo y por ende detrimento de la calidad de la caña (Acevedo, 2011) además su composición en elementos pesados como Hierro (Fe), Cobre (Cu), Manganeseo (Mn) y Zinc (Zn) pueden llegar a ser contaminantes del suelo y el agua (Girón, 2008), sin embargo debido a los grandes volúmenes producidos anualmente, el uso de estas metodologías no es suficiente.

Los tratamientos biológicos más utilizados para residuos líquidos orgánicos son aerobios, aunque los tratamientos anaerobios tienen la ventaja de generar poco

lodo, no depender de la adición de oxígeno y valorizar el residuo por la obtención de subproductos de alto valor energético e industrial. En un sistema biológico el contenido orgánico de la vinaza (120 g DQO.L^{-1}) puede ser aprovechado y transformado en Metano mediante digestión anaerobia, sin embargo los sistemas biológicos anaerobios son sensibles a la composición química de las vinazas principalmente por la concentración de fenoles y podrían verse afectados en mayor medida que los aerobios (Acevedo, 2011), este hecho hace imprescindible el uso de un tratamiento previo al biológico, que ayude a la degradación de compuestos inhibidores.

Los Procesos Avanzados de Oxidación (PAOs), se han usado como alternativa de descontaminación, siendo capaces de mineralizar por completo los contaminantes orgánicos (Malato et al. 2009). No obstante, estas tecnologías necesitan mayor desarrollo tecnológico para que sean económicamente viables. De esta manera, los acoples con sistemas biológicos representan una de las mejores opciones para disminuir los costos de implementación y los impactos ambientales producidos por los mismos (García-Montaña et al. 2008; Pidou et al. 2009). Por otro lado, la digestión anaerobia presenta las mejores cualidades del tratamiento biológico de efluentes con alta carga orgánica ($\text{DQO} \geq 1000 \text{ mgL}^{-1}$) a bajos costos de operación y la generación de metano como una adicionalidad de gran valor (Chernicharo 2007). El metano como biocombustible de segunda generación tiene un gran potencial (condiciones ecuatoriales) y debería considerarse dentro de las alternativas energéticas del Ministerio de Minas y Energía (Gil, 2011).

El presente estudio tuvo por objeto evaluar el ozono como proceso avanzado de oxidación en el pre-tratamiento de vinazas para la disminución de sus compuestos tóxicos y el consecuente aumento de la biodegradabilidad en sistemas biológicos de tratamiento anaerobio.

2. JUSTIFICACIÓN

Colombia cuenta con una ubicación estratégica que permite albergar entre tantas maravillas una generosa oferta hídrica natural ($2,084 \text{ km}^3 \cdot \text{año}^{-1}$) en relación con los $35 \text{ km}^3 \cdot \text{año}^{-1}$ de demanda (IDEAM, 2004 *citado por* MAVDT, 2010), sin embargo, actualmente más del 50% de este recurso no puede ser utilizado por alteraciones en su calidad (Castaño, 2011 *citado por* Beleño, 2011), por lo que en materia de disponibilidad hídrica Colombia pasó del 4° lugar en 1990 al puesto 24° en 2010 (Beleño 2011).

En términos generales, la contaminación de los recursos hídricos se debe a las descargas de aguas residuales domésticas, agrícolas e industriales, a derrames de hidrocarburos y a la minería (Díaz-Báez, 2002). El elevado contenido de materia orgánica presente en la vinaza hace de ésta un residuo altamente contaminante si se dispone directamente a un cuerpo de agua, ya que los valores de DQO y DBO son de 116 000 y 41 200 ppm respectivamente (García et al, 2008).

El uso más amplio que se le ha dado a la vinaza ha sido como fertilizante, aunque otras alternativas han surgido como respuesta al aumento de sales en los suelos, entre las cuales se destacan la incineración, donde algunas sales minerales presentes en la vinaza, como potasio, son recuperados y pueden ser aplicados en la agricultura sin riesgo de contaminación y la digestión anaerobia donde ocurre una significativa reducción de su carga orgánica garantizando mayor seguridad en su aplicación en la fertirrigación sin alterar sus características nutricionales (Freire et al, *citado por* Piacente, *citado por* Szymanski, 2008), la deshidratación y el compostaje también aparecen como opciones de reúso para este residuo (CENICANA, 2009) sin embargo ninguna de estas alternativas por si sola es viable para manejar todo el volumen de vinaza producido, por tanto es importante contemplar medidas adicionales para su utilización.

La concentración de compuestos fenólicos en las vinazas es aproximadamente 660 ppm (Martin Santos et al, 2005) lo que significa que la vinaza además de ser contaminante por su elevada DQO y DBO también lo es por su composición fenólica. El peligro que causa el fenol en las corrientes de agua es que este compuesto al reaccionar con el cloro que se utiliza en la mayoría de países para el tratamiento de agua potable forma compuestos fenil-policlorados que son más tóxicos y más resistentes a la biodegradación que el mismo fenol (Bravo et al, 2006).

El propósito de esta investigación no fue disminuir la carga orgánica de la vinaza en el proceso de digestión anaerobia, sino, por el contrario degradar a través de un proceso avanzado de oxidación (ozono) los compuestos fenólicos contenidos en la vinaza aumentando de esta manera su biodegradabilidad y aprovechar

contenido orgánico de este residuo en el tratamiento biológico transformándolo en metano.

El método volumétrico o por desplazamiento está ampliamente difundido y aceptado en nuestro medio para la medición de la producción de metano en el tratamiento de aguas residuales domésticas principalmente por su simplicidad y economía, ya que solo se debe hacer pasar el biogás a través de una trampa de NaOH para capturar el CO₂ y permitir el paso y la acumulación del CH₄. La composición del biogás en un sistema de tratamiento anaerobio depende de la naturaleza de la materia prima digerida, es decir, del residuo que se emplea como material de partida para la obtención de biogás (Pistonesi, 2010), por ejemplo, el biogás resultante de un tratamiento de aguas residuales domésticas está compuesto aproximadamente de 70% de CH₄ y 30% de CO₂ (Pistonesi, 2010), en el caso de las vinazas el biogás producido a parte de CH₄ y CO₂ contiene N₂, H₂S, NH₃ entre otros gases (Riberio, 2007), motivo por el cual a demás del método volumétrico el método manométrico o cromatografía de gases fue objeto de evaluación para medir la producción de metano a partir de vinazas.

La razón de emplear ozono como proceso avanzado de oxidación, radica en la selectividad de este oxidante con los compuestos fenólicos (Martin Santos et al, 2005), que puede tener dos posibles vías simultáneas de oxidación para los compuestos fenólicos: una vía directa o reacción molecular y otra vía radical o reacción con el radical hidroxilo, esta oxidación puede producir compuestos residuales de bajo peso molecular, es decir, compuestos más biodegradables que sus precursores, por lo que resulta conveniente el empleo de un pos-tratamiento en combinación con el ozono (Ramírez et al, 2002).

De este modo, esta investigación evaluó el desempeño de acoples es PAOs + digestión anaerobia en vinazas, como mecanismo para incrementar la biodegradabilidad y por ende la producción de metano. Esta investigación permitió generar propuestas a escala piloto, con el fin de desarrollar tecnologías rentables que permitan generar ahorros en los consumos de combustibles fósiles o de energía eléctrica en las destilerías del Valle del Cauca y en otras zonas de Colombia, donde se decida implementar la metanización de vinazas.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. CAÑA DE AZÚCAR

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) tiene su origen genético en Nueva Guinea, es una planta C4 perteneciente a la familia de las gramíneas (pastos), con alta eficiencia fotosintética (la cuota oscila entre 150 y 200% sobre la media de otras plantas). Según variedad y condiciones locales, la planta forma entre 4 y 12 tallos que pueden crecer hasta 3 - 5 m de altura. El contenido de azúcar (sacarosa) oscila entre 11 y 16% (Augstburger et al, 2000).

Colombia es el segundo productor de caña de azúcar en América del Sur después de Brasil (Centro Comercio Internacional, 2003), anualmente produce alrededor de 346,6 millones de litros de alcohol carburante elaborados a partir de este cultivo (Asocaña, 2011). En Colombia el departamento cañero por excelencia es el Valle del Cauca donde la extensión del cultivo de caña representa un 66% del territorio agrícola del departamento, aportando en la producción unos 950.000 litros de Etanol por día (Asocaña, 2007).

3.1.1. Composición Química de la Caña de Azúcar

Los tallos corresponden a la sección anatómica y estructural de la planta de Caña de azúcar que presenta mayor valor económico e interés para la fabricación de azúcar y la elaboración de Alcohol, motivo por el cual su composición química reviste especial significado.

Las tablas 1 y 2 exponen que en la Caña de Azúcar el contenido de agua representa entre el 73 y el 76%. Los Sólidos Solubles Totales oscilan entre 10 y 16% y la Fibra varía entre 11 y 16%. Entre los Azúcares más simples se encuentran la Glucosa y la Fructuosa, que existen en el jugo de cañas con grado avanzado de madurez en una concentración entre 1 y 5%. La calidad del azúcar crudo, el color y el grano dependen en buena parte de la proporción de estos azúcares simples, los cuales cuando aumentan por causa del deterioro o la inmadurez de la planta, pueden producir incrementos en el color y grano defectuoso en el dulce o panela (Chaves, 2004).

Tabla 1. Composición química de los tallos de la Caña de Azúcar.

Constituyente químico	Porcentaje
Agua	73 – 76
Sólidos	24 – 27
Sólidos solubles (Brix)	10 – 16
Fibra (seca)	11 – 16

* El porcentaje se refiere a la planta de caña de azúcar

Tabla 2. Composición química de los jugos de la Caña de Azúcar.

Constituyente químico	Porcentaje
Azúcares:	
Sacarosa	75 – 92
Glucosa	70 – 88
Fructuosa	2 – 4
Sales:	
Inorgánicas	3.0 – 3.4
Orgánicas	1.5 – 4.5
Ácidos orgánicos	1 – 3
Aminoácidos	1.5 – 5.5
Otros No azúcares:	
Proteína	0.5 – 0.6
Almidones	0.001 – 0.050
Gomas	0.3 – 0.6
Ceras, Grasas	0.15 – 0.50
Compuestos Fenólicos	0.10 – 0.80

* El porcentaje del jugo de caña hace referencia a los sólidos solubles.
Fuente: Meade y Chen citados por Chaves, 2004

En la producción de Alcohol, el empleo de Cañas que aún no alcanzaron un estado de madurez satisfactorio puede generar problemas, debido a la posible presencia de sustancias indeseables para la Fermentación, pues, en la producción de Alcohol lo que interesa es la cantidad de Azúcares Fermentables Totales (AFT) (Chaves, 2004).

3.1.2. Proceso de transformación de la caña de azúcar en alcohol carburante

Entre los cultivos bioenergéticos más usados para la producción de etanol, la caña de azúcar es la materia prima más utilizada en países tropicales como Brasil e India.

El proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar comprende la extracción del jugo de caña y su acondicionamiento para hacerlo más asimilable por las levaduras durante la fermentación; del caldo resultante de la fermentación debe separarse la biomasa, para dar paso a la concentración del etanol mediante diferentes operaciones unitarias y a su posterior deshidratación, forma en que es utilizado como alcohol carburante (Cardona et al, 2005).

Específicamente, para el desarrollo de la ingeniería del proceso de la planta de producción de etanol, se tienen ocho secciones (CENICANA, 2006):

1. Sección de molienda.
2. Sección de clarificación y preparación del jugo.
3. Sección de evaporación (concentración del jugo) y clarificación de la meladura
4. Sección de evapo-cristalización y obtención de mieles A y B.
5. Sección de mezclado de jugo, meladura y miel B.
6. Sección de fermentación y desorción del CO₂.
7. Sección de destilación y deshidratación de alcohol.
8. Sección de tratamiento de las vinazas.

En la Figura 1 se muestra el proceso de obtención de etanol a partir de la caña de azúcar.

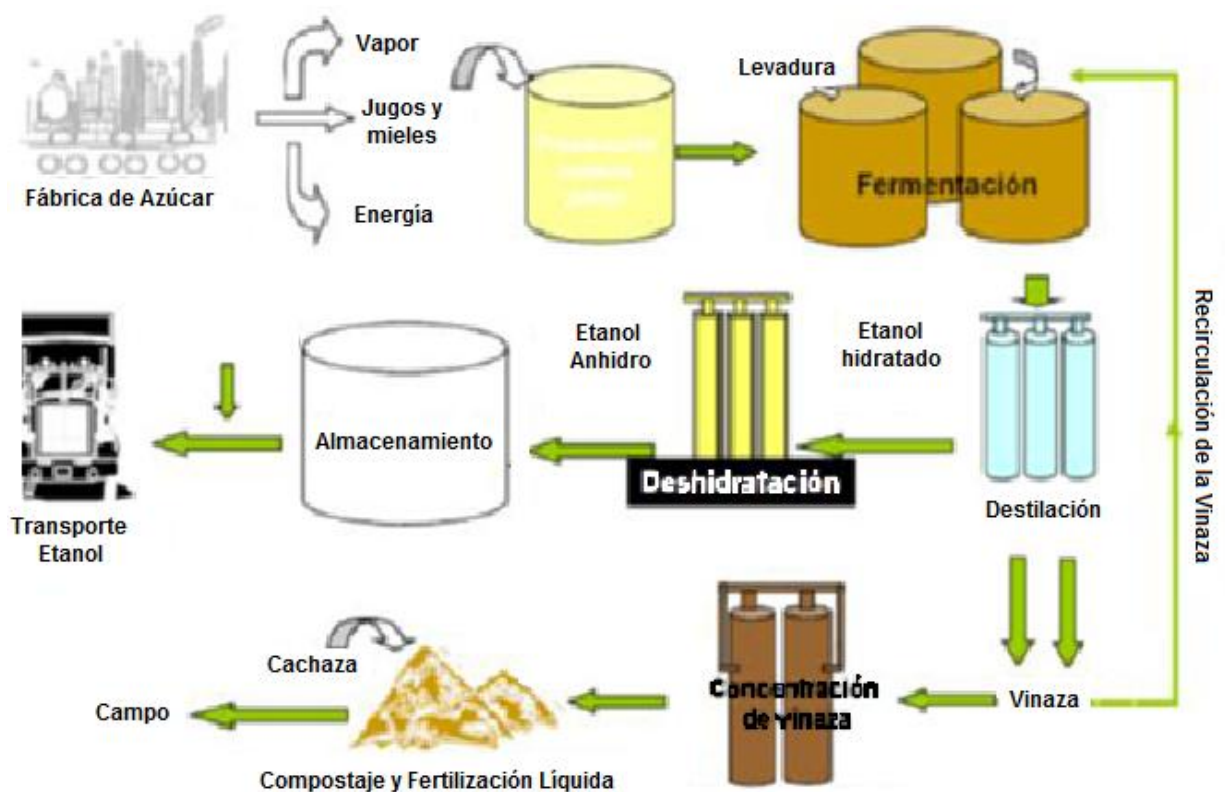


Figura 1. Esquema del proceso de obtención de etanol a partir de caña de azúcar.

Fuente: (ASOCAÑA, 2007 citado por Gil, 2011)

3.2. VINAZA

Las vinazas son considerada el principal residuo de la fabricación de etanol, no solo por el gran volumen generado, sino, principalmente por su elevado potencial contaminante (Szymanski, 2010). Para tener una idea de la dimensión del residuo generado, para cada 1000 Ton de caña procesada son generados 360 m³ de vinaza (Theodoro *citado por* Szymanski, 2010) siendo su composición variable de acuerdo al proceso de destilación empleado, la materia prima utilizada, el sistema de preparación del medio, la conducción de la fermentación y el tipo de levaduras empleadas en el proceso (Chaves, 2004).

A pesar de las variaciones que presenta, en general la vinaza se compone de nutrientes como potasio, calcio y azufre, además de presentar un elevado contenido de materia orgánica con una demanda química de oxígeno (DQO) entre 20.000 y 35.000 mg.L⁻¹ y pH que oscila entre 3.7 y 5. Debido a estas características y por presentar un costo relativamente bajo, las vinazas han sido ampliamente utilizadas en fertirrigación de áreas cultivadas con caña (BELAI *citado por* Szymanski, 2010) sin embargo, se debe emplear con cautela ya que se puede contaminar aguas subterráneas y fuentes superficiales debido a la percolación o arrastre de altas concentraciones de magnesio, hierro, potasio, aluminio, cloruros, materia orgánica entre otros (Hassuda *citado por* Szymanski, 2010).

3.2.1. Caracterización de la Vinaza

En las tablas 3 y 4 se presenta la caracterización fisicoquímica y de compuestos orgánicos en vinazas provenientes del ingenio São Martinho, en Brasil (ver Tabla 3) y de la industria Kimel S.A. (ver Tabla 4)

Tabla 3. Características físico-químicas de la vinaza cruda (ingenio São Martinho).

Parámetro (mg/L)	Vinaza Cruda
pH	4.0
DQO	89.000
DBO	41.200
N total	550
N	40
Amoniacal	
Fósforo	17
Sulfato	450
Potasio	1400

Fuente: Magalhães *citado por* Szymanski, 2008

Tabla 4. Compuestos orgánicos presentes en la vinaza.

Compuesto	Concentración
No volátiles	(%, m/m)
Glicerol	2.70
Ácido aconítico	1.76
Sorbitol	1.39
Fructuosa + glucosa	1.30
Ácido láctico	1.28
Ácido cítrico	0.80
Ácido 2,4 dihidroxipentanedioico	0.71
Ácido quínico	0.71
Trehalosa	0.31
Ácido málico	0.23
Sacarosa	0.21
2,3 Butanodiol	0.21
Ácido succínico	0.07
Ácido glicólico	0.06
Fenólicos:	(mg/kg)
3-metoxi-4-hidroxifenilglicerol	54
Ácido p-hidroxi-benzoico	48

Fuente: García et al, 2005 *citados por* Caicedo et al, 2010

3.2.2. Producción de Vinazas en Colombia

Por cada tonelada de caña de azúcar se producen 83 litros de etanol, por consiguiente se estima que por cada tonelada de caña de azúcar destinada para la elaboración de etanol se producen alrededor de 249 litros de vinaza, teniendo en cuenta que para este fin se cosechan al año 121.032 toneladas de caña de azúcar por cada hectárea sembrada en el valle geográfico del río Cauca (CENICAÑA, 2009).

Las destilerías que operan en el valle del Cauca a partir del año 2015 producirán más de 800 millones de litros de etanol al año (ASOCAÑA, 2011). La gran cuestión continua siendo en relación a la elevada producción de vinazas teniendo en cuenta nuevamente que por cada litro de etanol producido se obtienen 3 litros de vinaza (ASOCAÑA, 2010).

3.2.3. Tratamiento de las Vinazas

Las vinazas han sido ampliamente utilizadas en fertirrigación de áreas cultivadas con caña (BELAI *citado por* Szymanski, 2010) sin embargo, se debe emplear con

cautela ya que se puede contaminar aguas subterráneas y fuentes superficiales debido a la percolación o arrastre de altas concentraciones de magnesio, hierro, potasio, aluminio, cloruros, materia orgánica entre otros (Hassuda *citado por* Szymanski, 2010).

Los ensayos de digestión anaerobia realizados a vinazas han tenido por objeto reducir la carga contaminante del residuo (disminución de la DQO) para posterior aplicación al suelo, sin embargo los resultados no han sido muy relevantes debido a los compuestos tóxicos en la vinaza que la hacen poco degradable e inhibidora del consorcio microbiano presente en el reactor (Becerra, 2010).

3.3. DIGESTIÓN ANAEROBIA

Se denomina digestión anaerobia al proceso en virtud del cual la materia orgánica es convertida en metano, dióxido de carbono e hidrogeno, en ausencia de oxígeno a causa de la acción combinada de diferentes poblaciones microbianas. La formación de metano y dióxido de carbono corresponde a la última etapa de una serie de reacciones en las cuales los compuestos orgánicos son degradados completamente (Díaz-Báez et al, 2002).

3.3.1. Degradación Anaerobia de la Materia Orgánica

En el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica intervienen diversos grupos de bacterias anaerobias facultativas y anaerobias estrictas las cuales utilizan en forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo, esta cadena la componen tres grandes grupos tróficos:

Grupo I: Bacterias hidrolíticas y fermentativas
Grupo II: Bacterias acetogénicas
Grupo III: Bacterias metanogénicas

El proceso inicia con la hidrólisis de polisacáridos, proteínas y lípidos por la acción de enzimas extracelulares producidas por las bacterias del grupo I. Los productos de esta reacción son moléculas de bajo peso molecular como los azúcares, los aminoácidos, los ácidos grasos y los alcoholes. Posteriormente son fermentados a ácidos grasos con bajo número de carbonos como los ácidos acético, fórmico, propiónico y butírico, así como compuestos reducidos como el etanol, además de H₂ y CO₂. Los productos de fermentación son convertidos a acetato, hidrogeno y dióxido de carbono por acción de las bacterias del grupo II. Finalmente las bacterias del grupo III convierten el acetato a metano y dióxido de carbono, o reducen el dióxido de carbono a metano (Díaz-Báez et al, 2002).

Estas transformaciones involucran dos grupos metanogénicos que son los encargados de llevar a cabo las transformaciones mencionadas anteriormente. En menor proporción, compuestos como el metanol, las metilaminas y el ácido

fórmico pueden también ser usados como sustrato por el grupo metanogénico (Díaz-Báez et al, 2002); en la figura 2, se observan los pasos de la transformación de la materia orgánica hasta metano.

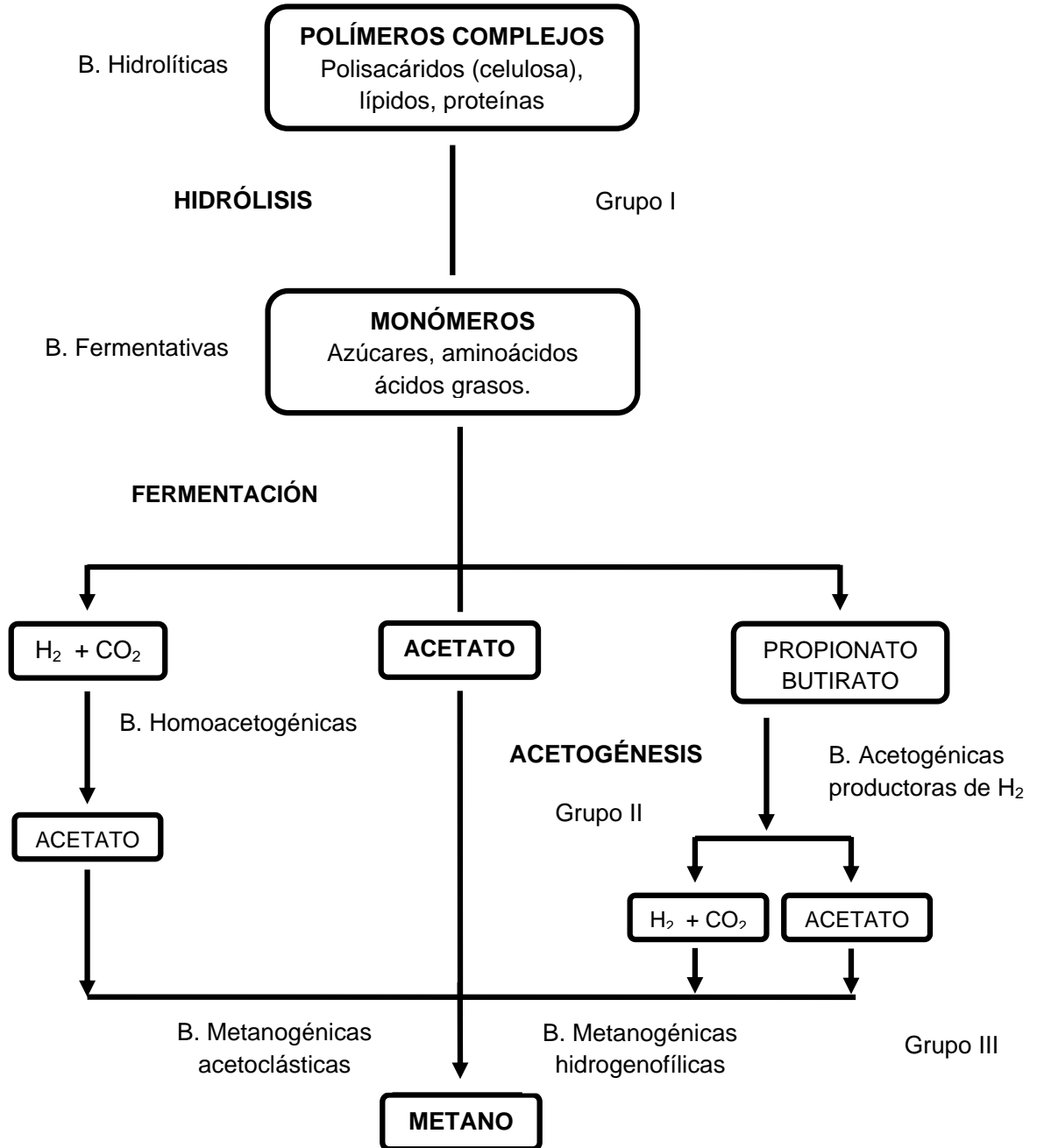


Figura 2. Principales etapas de la digestión anaerobia y grupos bacterianos involucrados.

Fuente: (Madigan et al, 1997 citado por Díaz-Báez et al, 2002)

3.3.2. Bacterias Involucradas en el Proceso de Digestión Anaerobia

Grupo I: Bacterias Hidrolíticas - Fermentativas

Para la degradación de polímeros complejos se requiere que estos microorganismos sean capaces de hidrolizar o romper las moléculas de polisacáridos, proteínas y grasas e hidrolizarlas a compuestos simples como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos. Las bacterias que llevan a cabo estas reacciones son anaerobias facultativas, los géneros más representativos son: *Bacillus*, *Peptostreptococcus*, *Propionibacterium*, *Bacteroides*, *Micrococcus* y *Clostridium*.

Los compuestos liberados durante la hidrólisis son posteriormente fermentados a propionato, butirato, acetato, CO₂ e hidrógeno por acción de bacterias fermentativas (Díaz-Báez et al, 2002).

Grupo II: Bacterias Acetogénicas y Homoacetogénicas

Para que tenga lugar una eficiente metanogénesis, los productos de fermentación como el propionato y el butirato deben ser oxidados a acetato, CO₂ e H₂. Esta oxidación es llevada a cabo por un grupo de microorganismos denominados organismos acetógenos productores obligados de hidrógeno mediante un proceso conocido como acetogénesis. Algunas especies representativas son: *Syntrophomonas sapovorans*, *Syntrophospora bryantii*, *Syntrophus buswellii*, *Syntrophobacter wolinii* (Díaz-Báez et al, 2002).

Por otro lado en condiciones anaeróbicas estrictas se desarrollan las bacterias homoacetoclasticas que emplean el CO₂ como aceptor de electrones y producen acetato como único producto de la fermentación anaerobia. Las especies *Clostridium aceticum*, *Clostridium formicoaceticum* y *Acetobacterium woodii* son algunos representantes.

Grupo III: Bacterias Metanogénicas

Las bacterias metanogénicas pertenecen al grupo actualmente conocido como *Archaea*, cuyos miembros presentan características diferentes a las encontradas en *Bacteria*. Estas diferencias están relacionadas con la composición química de algunas estructuras celulares.

Las bacterias metanogénicas son anaerobias estrictas y producen metano como principal producto del metabolismo energético. A pesar de los requerimientos estrictos de anaerobiosis obligada y el metabolismo especializado de este grupo, estas bacterias se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza (Whitman et al, citados por Díaz-Báez et al, 2002).

Los géneros Methanosaeta y Methanosarcina son los más frecuentemente encontrados en reactores anaerobios.

Con base en el tipo de sustrato utilizados, las bacterias metanogénicas se dividen en: hidrogenofílicas y acetoclásticas.

Metanogénicas Hidrogenofílicas

La reducción de CO₂ a metano es un proceso H₂ dependiente aunque compuestos como el formato, el monóxido de carbono y aún el hierro elemental pueden actuar como donadores de electrones en este proceso.

Metanogénicas Acetoclásticas

En el metabolismo energético, el acetato es activado a Acetil-CoA, el cual interactúa con el monóxido de carbono deshidrogenasa para transferir el grupo metílico a la enzima corrinóide de la vía acetil-CoA. A partir de este punto el grupo metilo es transferido a la tetrahidro-metano-pterina y a la coenzima M para formar el complejo CoM-CH₃. Posteriormente es reducido a metano con los electrones generados en la oxidación del CO a CO₂ por acción de CO deshidrogenasa (Díaz-Báez et al, 2002).

3.3.3. Biodegradabilidad Anaerobia

El análisis de biodegradabilidad anaerobia permite evaluar el potencial de degradación de la materia contaminante de un residuo hasta metano (CH₄) y dióxido de carbono.

El método se basa en medir a lo largo del tiempo (30 – 45 días) la producción de metano generado dentro de un reactor batch con medio mineral, lodo metanogénico activo y la muestra problema. En esta prueba se determina si los microorganismos son capaces de llevar a cabo la degradación de la materia orgánica, lo cual permite hacer una aproximación al comportamiento y la velocidad de reacción de las bacterias en un tratamiento continuo (Díaz-Báez et al, 2002).

Para determinar la cantidad de lodo y sustrato que se deben adicionar en un ensayo de biodegradabilidad anaerobia se otorgan algunas recomendaciones las cuales se muestran en la tabla 5.

Tabla 5. Relación SSV/AGV

Sistema	Lodo SSV (g.L⁻¹)	AGV (g.L⁻¹) DQO
Agitado	2.0 a 5.0	2.0 a 4.0
No agitado	1.0 a 1.5	3.5 a 4.5

Fuente: Field, 1987 *citado por* Díaz-Báez et al, 2002

Para realizar ensayos de biodegradabilidad anaerobia existen diferentes metodologías que difieren principalmente en la forma como se mide el CH_4 producido, entre ellas se presentan en este documento los métodos por desplazamiento y por cromatografía de gases.

3.3.3.1. Método Volumétrico o por Desplazamiento.

El método volumétrico se basa en la cuantificación del volumen de metano producido mediante el uso de una sustancia desplazante como el NaOH o el KOH en un rango de 15 – 20 g/L (Field, *citado por* Torres et al, 2002) por su propiedad de reaccionar con el CO_2 presente en el biogás permitiendo una medición aproximada del volumen del metano producido. Se recomienda verificar que el pH del NaOH sea superior a las 12 unidades para asegurar que éste secuestre el CO_2 producido (Aquino et al, 2007).

El montaje de este sistema (ver Figura 3) consta de dos reactores, el reactor 1 ubicado en un nivel superior al reactor 2 con el fin de que al producirse el biogás, éste pase por un conducto e ingrese al reactor 2 que contiene el NaOH el cual atrapa el CO_2 y deja atravesar y acumular el metano en la parte superior del reactor 2, al ejercer presión, el metano desplaza un volumen de NaOH que será cuantificado con una probeta, el volumen de líquido desplazado fuera del reactor será equivalente al volumen de metano generado por el sistema (Barba Ho, 2002).

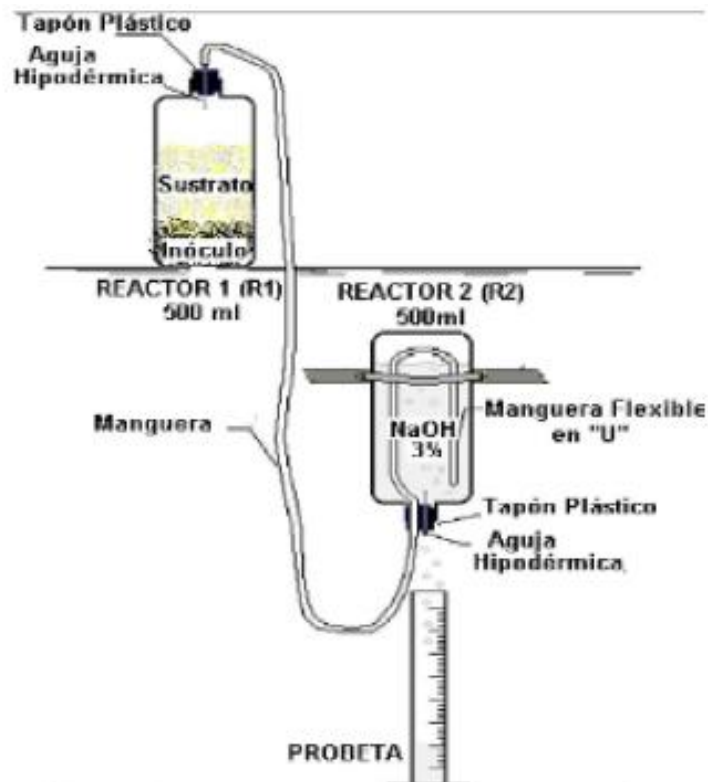


Figura 3. Medición de la actividad metanogénica por desplazamiento.

Fuente: Torres et al, 2002

3.3.3.2. Método Manométrico o por Cromatografía de gases.

Por cromatografía de gases (ver Figura 4) no solo se puede determinar la producción de metano sino las de alcoholes y ácidos grasos volátiles, es un sistema cerrado mediante el uso de botellas serológicas, en las cuales la fase gaseosa corresponde a 2/3 del volumen de la botella donde podrá acumularse el metano producido. Tanto en la preparación del medio de cultivo como la inoculación debe manejarse bajo condiciones anaerobias (evitar contaminación con oxígeno y mantener condiciones reductoras) (Díaz-Báez et al, 2002).

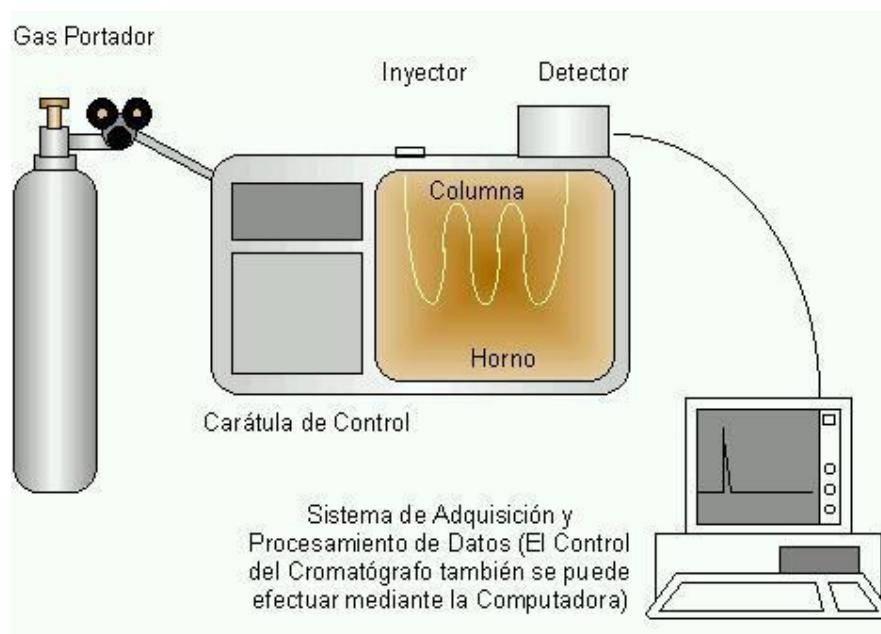


Figura 4. Cromatógrafo de gases

3.4 PROCESOS AVANZADOS DE OXIDACIÓN PAO_s

Los llamados Procesos Avanzados de Oxidación (ver Tabla 6) han demostrado ser una tecnología eficiente en el tratamiento de contaminantes, siendo ampliamente empleados en el tratamiento de aguas del subsuelo y de superficies contaminadas, efluentes industriales, agua potable, lixiviados de rellenos sanitarios e aguas residuales domésticas. Estos procesos son extremadamente eficientes para destruir sustancias orgánicas de difícil degradación y muchas veces en concentraciones bajas (Gonçalves, 2002).

Los PAOs se definen como “aquellos procesos de oxidación que implican la generación de radicales hidroxilo en cantidad suficiente para interaccionar con los compuestos orgánicos del medio”. Se trata de una familia de métodos que utilizan la elevada capacidad oxidante de los radicales HO· y que se diferencian entre sí en la forma en la que los generan (Rodríguez et al, 2006).

Se pueden dividir los PAOs en dos grandes grupos: aquellos que desarrollan reacciones homogéneas usando peróxido de hidrogeno H_2O_2 , ozono O_3 o luz UV y aquellos que promueven reacciones heterogéneas usando óxidos o metales fotoactivos, como el dióxido de titanio (Gonçalves, 2002), siendo las más empleadas las combinaciones entre ozono (O_3), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) radiación ultravioleta y fotocátalisis (Rodríguez et al, 2006).

Tabla 6. Procesos Avanzados de Oxidación.

Procesos homogéneos:

Sin aporte externo de energía:

Ozonización en medio alcalino
Ozonización con peróxido de hidrógeno
Peróxido de hidrógeno y catalizador

Con aporte externo de energía:

Radiación ultravioleta
Ozonización y radiación ultravioleta
Peróxido de hidrogeno y radiación ultravioleta
Foto-fenton

Procesos heterogéneos:

Ozonización catalítica
Ozonización fotocatalítica
Fotocátalisis heterogénea

Fuente: Rodríguez et al, 2006

3.4.1. Ozono

El ozono (O_3) es un gas alótropo del oxígeno. A temperatura y presión del ambiente es un gas inestable que se descompone rápidamente para volver a la molécula de oxígeno (O_2). Debido a esta característica, no se puede almacenar o envasar, sino que debe generarse *in situ* y usarse inmediatamente. Por lo general, la ozonización se utiliza cuando se requiere su propiedad más importante: su elevado potencial oxidante, que permite eliminar los compuestos orgánicos que dan color, sabor u olor desagradable al agua y al mismo tiempo, inactivar los microorganismos patógenos (Wiecheteck et al, 2004).

El ozono teóricamente puede oxidar la mayoría de los compuestos orgánicos y los convierte en dióxido de carbono y agua, pero como es selectivo en cuanto a las sustancias que oxida rápidamente, la cinética de las reacciones del ozono con muchos compuestos será demasiado lenta para que resulte en la conversión de estos a dióxido de carbono durante el tratamiento del agua. Como casi siempre la demanda total de ozono excede su suministro, estas reacciones cesarán mucho

antes de que todas las sustancias orgánicas se hayan oxidado totalmente. En el tratamiento de sustancias orgánicas, el ozono se ha usado principalmente para la ruptura de enlaces múltiples como tratamiento preliminar antes de la filtración y como ayudante para la coagulación (Martín Santos et al, 2005).

3.4.1.1. Efecto del Ozono sobre los Compuestos Fenólicos

Los compuestos orgánicos aromáticos de elevado peso molecular y baja degradabilidad como los fenoles, crean un problema en el tratamiento de las aguas residuales industriales que los contienen, Por tal motivo se busca la degradación de estos compuestos mediante procesos avanzados de oxidación que constituyen uno de los recursos tecnológicos más eficientes para el tratamiento de estos compuestos. Los procesos avanzados de oxidación pueden definirse como procesos que involucran la formación de radicales hidroxilo (OH) de elevado potencial de oxidación y de elevada reactividad con compuestos orgánicos (Ramírez et al, 2002). El más simple de los fenoles C_6H_5OH (ver Figura 5) derivado del benceno llamado fenol o ácido carbólico (Julca, 2006).

Las formas ionizadas o disociadas de los compuestos orgánicos reaccionan más rápidamente con el ozono que las formas neutras. Las reacciones de ozonólisis directa (ver Figura 6) no acostumbran a promover la oxidación completa de los compuestos orgánicos hasta CO_2 y H_2O siendo aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos carboxílicos los principales productos de este tipo de reacción (Mahmoud et al, 2007).

Para el caso de las vinazas es favorable emplear un tratamiento químico previo para eliminar los compuestos fenólicos que obstaculizan o inhiben el tratamiento biológico subsecuente. El tratamiento químico usado debe ser tan selectivo como sea posible para reducir al mínimo la cantidad de oxidante, que es generalmente costoso. Entre los oxidantes predominantes esta el ozono, que puede reaccionar de dos maneras: directamente, en forma molecular; o indirectamente, después de su descomposición en radicales OH y de la promoción de otros radicales (Martín Santos et al, 2005).

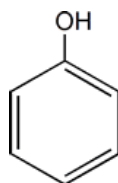


Figura 5. Estructura química del fenol

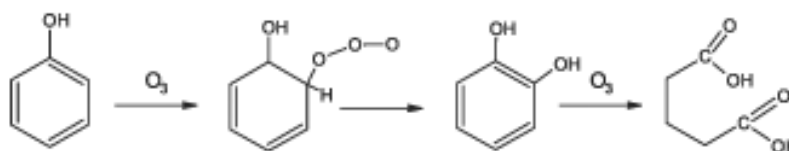


Figura 6. Ejemplo del ataque electrofílico del ozono sobre un compuesto aromático.

Fuente: Mahmoud et al, 2007

3.4.1.2. Generación de Ozono por Descarga de Barrera Dieléctrica

Un sistema típico de generación de ozono está conformado por tres partes principales: celda de descarga, gas de alimentación y suministro eléctrico (Echeverry et al, 2002):

La celda de descarga es conocida también como cámara de descarga, esta celda está conformada por dos electrodos entre los cuales existe un material dieléctrico y un espacio de descarga o “gap” por donde circula el gas de alimentación y donde sucede la descarga y la formación de ozono.

La forma y disposición de los electrodos determina el tipo de cámara de descarga, cilíndrica coaxial o de planos paralelos. Existe gran variedad de formas, tamaños y materiales para la construcción de los electrodos. La mayor parte de los ozonizadores que se construyen actualmente son de electrodos cilíndricos concéntricos, debido a que esta configuración presenta un mejor rendimiento y mayores ventajas en la disipación de calor.

El voltaje al que se inicia la descarga, depende de las dimensiones de los electrodos. A medida que se reduce el diámetro del electrodo interno y la distancia entre los electrodos, se requiere un menor voltaje para iniciar la descarga. Como electrodo interno son utilizados filamentos o tubos cilíndricos.

El espesor y el tipo de material dieléctrico utilizado determina la eficiencia del proceso de formación de ozono y por lo tanto la concentración de ozono obtenida. Los materiales más usados como dieléctrico son: vidrio, cuarzo, cerámicas, PVC y silicona.

Para generar ozono es necesaria la presencia de oxígeno en el gas de alimentación, el aire es la materia prima de la gran mayoría de generadores de ozono; sin embargo la alimentación con aire requiere un proceso de filtrado y secado.

La fuente eléctrica debe suministrar a la celda de descarga los niveles de tensión y potencia necesarios para el proceso de formación de ozono. Cuando un voltaje alterno es aplicado a una muestra de oxígeno, la producción de ozono se duplica

cuando la frecuencia de la fuente es duplicada. La amplitud y la frecuencia de la señal de voltaje se pueden manipular para controlar la cantidad de ozono generado.

3.4.2. Acoples PAOs – Biológico

Los tratamiento biológicos son más económicos que los físico-químicos, no obstante la implementación de acoples PAOs-Biológico (especialmente digestión anaerobia), viabiliza el uso de un proceso físico-químico o pre-tratamiento, ya que mejora la eficiencia del proceso biológico, disminuye los costos de construcción (reactores con cargas volumétricas mayores) y puede mejorar el rendimiento de la producción de metano (Gil, 2011).

Existen acoples de diferentes procesos de oxidación PAOs-PAOs o PAOs-Biológicos o Biológicos-PAOs dependiendo de la materia prima a tratar y el grado de eliminación de los contaminantes presentes en el efluente (Singh et al. 2008). Las combinaciones de O_3 - Biológico se realizan principalmente cuando se requiere descontaminar agua. Estos acoples han sido de utilidad para tratar residuos orgánicos como la pulpa de café en donde se han obtenido remociones del 95% en la DBO (Parra et al. 2000).

El tratamiento con el ozono es capaz de oxidar completa o parcialmente los componentes no biodegradables, de tal manera que puede ser usado como un pretratamiento que mejora la biodegradabilidad o como un paso posterior cuando se quiere disminuir la DQO remanente (Hadavifar et al, 2009).

3.5 EL BIOGÁS

El biogás obtenido en biodigestores anaerobios, resulta de la conversión de la biomasa en energía secundaria por el proceso de digestión anaerobia de residuos agroindustriales y domésticos (Lamo, 1991 citado por Granato, 2003). Debido al proceso de fabricación y composición del efluente el biogás presenta contaminantes inmediatamente después de la producción como H_2S (ver tabla 7) siendo necesario la depuración del mismo a través de procesos de filtración (ver figura 7).

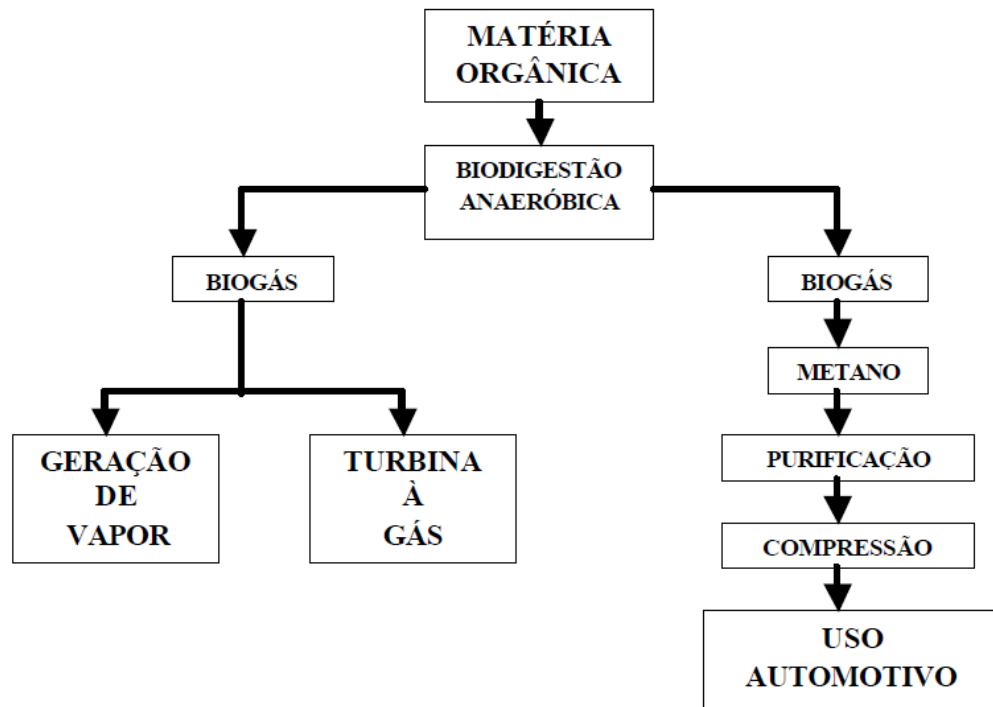


Figura 7. Etapas de producción y utilización del biogás

Fuente: Lamo, 1991 citado por Granato, 2003

Tabla 7. Composición media del biogás proveniente de diferentes residuos orgánicos

Gases	Porcentaje (%)
Metano (CH ₄)	40 – 75
Dióxido de carbono (CO ₂)	25 – 40
Nitrógeno (N ₂)	0,5 – 2,5
Oxígeno (O)	0,1 – 1
Ácido sulfídrico (H ₂ S)	0,1 – 0,5
Amonio (NH ₃)	0,1 – 0,5
Monóxido de carbono (CO)	0 – 0,1
Hidrógeno (H)	1 – 3

Fuente: Castanon, 2002 *citado por* Riberio, 2007

Los sistemas de metanización ofrecen diferentes beneficios, tanto a sus usuarios como al medio ambiente, entre los más destacados se tiene: producción de energía en diferentes formas: calor, electricidad, combustión y ventajas ambientales como protección contra la deforestación (Gil, 2011). Se ha calculado que 1 m³ de biogás utilizado para cocinar evita la deforestación de 0.335 hectáreas de bosques de un promedio de 10 años de vida (Raman et al, 1989 citados por Gil, 2011).

La tabla 8 muestra el potencial de biogás que puede ser generado a partir de vinaza, partiendo de que 1 litro de etanol produce 3 litros de vinaza y 1 m³ de vinaza produce 14.23 m³ de metano.

Tabla 8. Cantidad de biogás producido a partir de vinaza

Producto generado	Cantidad
Etanol / producido en el país año 09/10	3.598.900 m ³
Vinaza	10.796.700 m ³
Biogás	153.637.041 m ³

Consultado en: www.biodiesel.com – 10/05/12

A continuación (ver tabla 9 y 10) se presentan comparaciones a nivel energético y poder calorífico del gas metano con otros combustibles y gases.

Tabla 9. Comparación energética del biogás con otros combustibles.

Combustible	PCI (Kcal/Kg)	Densidad (Kg/m³)
Metano	11350	0,775
Alcohol	7090	0,789
Diesel	10000	830
Gasolina	10600	735
Óleo combustible	10500	880
Gas natural	11440	0,775

Fuente: Souza, 2000 citado por Granato, 2003

A continuación (tabla 10) se presenta el valor del poder calorífico inferior de diferentes gases.

Tabla 10. PCI de Diferentes Gases

Gas	PCI (Kcal m³)	PCI (kJ m³)
Metano	8.500	35.558
Propano	22.000	92.109
Butano	28.000	117.230
Gas Natural	7.600	31.819
Biometano	5.500	23.027

Fuente: Castanon, 2002 *citado por* Riberio, 2007

Al contrario del propano y el butano, el metano es un gas leve y de densidad más baja, esto hace q ocupe un volumen significativo y dificulte su licuefacción, sin embargo estas características tornan difícil su transporte y almacenamiento. Los sistemas de almacenamiento para el gas metano más comunes se presentan en la tabla 11.

Tabla 11. Sistemas de almacenamiento de metano

Presión (bar)	Almacenamiento	Material
Baja (0.138 – 0.414)	Sello de agua	Acero
Baja	Gas “bag”	Plástico, lona
Media (1.05 – 1.97)	Tanques de propano y butano	Acero
Alta (2.00)	Cilindros comerciales de gas	acero

Fuente Kapdi, 2004 citado por Riberio, 2007

ANTECEDENTES

En Colombia los grupos de investigación GAMA de la corporación universitaria la sallista y GAOX de la Universidad del Valle liderados por Cartagena y Sanabria respectivamente han trabajado con procesos de oxidación avanzada con el objeto de eliminar compuestos contaminantes en aguas residuales, concluyendo que ésta oxidación es adecuada para la degradación de pesticidas y materia orgánica. La Universidad Industrial de Santander en convenio con el instituto colombiano del petróleo, investigación a cargo de Jorge Forero, evaluó el proceso de oxidación con ozono como una alternativa para la remoción de compuestos fenólicos en aguas residuales del proceso de refinación de crudo y la investigación dirigida por Rubiano de la universidad Nacional estudió el efecto de la fotocatalisis heterogénea sobre el fenol en aguas residuales de la industria petroquímica demostrando ambas investigaciones que ésta tecnología es viable para remover compuestos fenólicos.

Martin et al, en el año 2002 realizaron un estudio de comparación cinética de la digestión anaerobia de vinaza cruda y vinaza pre-tratada a una concentración de 34 mg.L^{-1} de O_3 y un tiempo de aplicación mínima de 2 horas con ozono, ozono + UV y ozono + UV en presencia de dióxido de titanio. En todos los tratamientos ocurrió disminución en la DQO y en el TOC y aumento en el coeficiente de producción y el índice específico de la digestión anaerobia en 25%.

Ramírez et al (2002), evaluaron la degradación de compuestos orgánicos aromáticos mediante procesos de oxidación avanzada (Peróxido de Hidrógeno, Ozono, U.V. y la combinación de ellos). La oxidación del fenol con ozono se realizó a pH 5, 7 y 9 a una concentración de 156 mg.L^{-1} de O_3 obteniendo los mejores resultados a pH 9 (31% en remoción de compuestos fenólicos) después de 10 horas de tratamiento.

Martín et al, en el año 2005 estimaron la selectividad del ozono en la remoción de polifenoles presentes en la vinaza. Este estudio evaluó las constantes cinéticas de las reacciones del ozono con los compuestos fenólicos que son entre 20 y 4 veces más altas que la reacción del ozono con el resto de carga orgánica del conjunto, sin embargo concluyeron que la elevada DQO de la vinaza interfiere en esta reacción y por ello arroja valores bajos en remoción de fenoles. Obtuvieron una

selectividad del 12% ozono-fenol en vinazas con una aplicación de 34 mg.L^{-1} de O_3 durante 2 horas.

Mahmoud et al (2007), realizaron una búsqueda de nuevos métodos para mejorar la reacción de oxidación entre el ozono y los contaminantes orgánicos, centrando su atención en la ozonólisis, su actividad y sus mecanismos. Los resultados arrojan que en condiciones ácidas (pH 4) predomina el mecanismo directo (oxidación debido al ozono molecular) y a pH por encima de 10 se torna una reacción indirecta (oxidación debido a los radicales libres), pero, en consecuencia en pH alrededor de 7 ambos mecanismos directo e indirecto pueden ocurrir en igualdad de condiciones.

Caicedo et al (2010) estudiaron el uso de ozono en el tratamiento de vinaza evaluando el efecto de la concentración de ozono, tiempo de ozonización y pH inicial de la muestra sobre el porcentaje de reducción de la demanda química de oxígeno (DQO). Las mayores remociones de DQO y compuestos fenólicos se encontraron a 50 mg.L^{-1} de O_3 después de 2 horas de exposición al tratamiento. Este estudio concluye que el ozono puede ser un excelente pre-tratamiento a procesos biológicos por su capacidad de oxidación de compuestos de baja degradación.

Siles et al, (2011) evaluaron la ozonización de vinaza a una concentración de 34 mg.L^{-1} de O_3 en 15 minutos de aplicación, la concentración de fenoles disminuyó en un 50% por lo tanto biodegradabilidad anaerobia aumento en un 80% con estos resultados concluyen que la integración de tratamientos químicos – biológicos podría ser una opción viable para la purificación de aguas residuales peligrosas.

Gil et al, (2011) estudiaron el incremento de la velocidad de generación de metano y el efecto de los pre-tratamientos Foto-Fenton y Ozono sobre las comunidades metanogénicas presentes en el inóculo con el fin de mejorar la metanización mediante el aumento de la biodegradabilidad de las vinazas. Con un pre-tratamiento de 20 mg.L^{-1} de O_3 durante 30 minutos (ozonólisis) y $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de peróxido de hidrógeno (Foto-Fenton) se obtuvo 45% y 66% de de incremento de producción de metano respectivamente.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el ozono como Proceso Avanzado de Oxidación acoplado a un sistema biológico (PAOs - biológico) como tratamiento para el aumento de la producción de metano (CH_4) a partir de vinazas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Cuantificar la producción de metano a partir de vinaza cruda mediante los métodos desplazamiento y cromatografía de gases.

Comparar los métodos de medición de producción de metano desplazamiento y cromatografía de gases a partir de la digestión anaerobia de vinazas crudas.

Evaluar la degradación de compuestos fenólicos en las vinazas a pH diferentes y con tiempos cortos de aplicación de ozono como pre-tratamiento al proceso de digestión anaerobia.

Cuantificar la producción de metano a partir de vinazas pre-tratadas con ozono en el proceso de digestión anaerobia.

5. METODOLOGÍA

5.1 LOCALIZACIÓN

La comparación de los métodos de medición, los procesos de ozonólisis y digestión anaerobia se realizaron en el laboratorio de Microbiología Ambiental en el edificio 336 del Programa Ingeniería Sanitaria y Ambiental de la ciudadela universitaria Meléndez de la Universidad del Valle “Univalle”, Santiago de Cali – Colombia; la vinaza estudio proviene del ingenio Mayagüez ubicado en la terraza media del valle geográfico del río Cauca en el municipio de Candelaria – Valle del Cauca.

5.2 DESCRIPCIÓN DEL EXPERIMENTO

Para esta investigación se emplearon vinazas del ingenio Mayagüez provenientes del proceso de destilación en la producción de alcohol carburante (materia prima: caña de azúcar) como materia prima para la obtención de biogás. Se seleccionaron dos métodos de cuantificación de producción de metano con el fin de determinar el método más indicado para vinazas. Posterior a la comparación se llevo a cabo el pre-tratamiento con ozono con el fin de disminuir compuestos tóxicos en la vinaza, aumentando la biodegradabilidad de la vinaza y la producción y generación de metano en la digestión anaerobia. En la figura 8 se presenta la esquematización del proyecto.

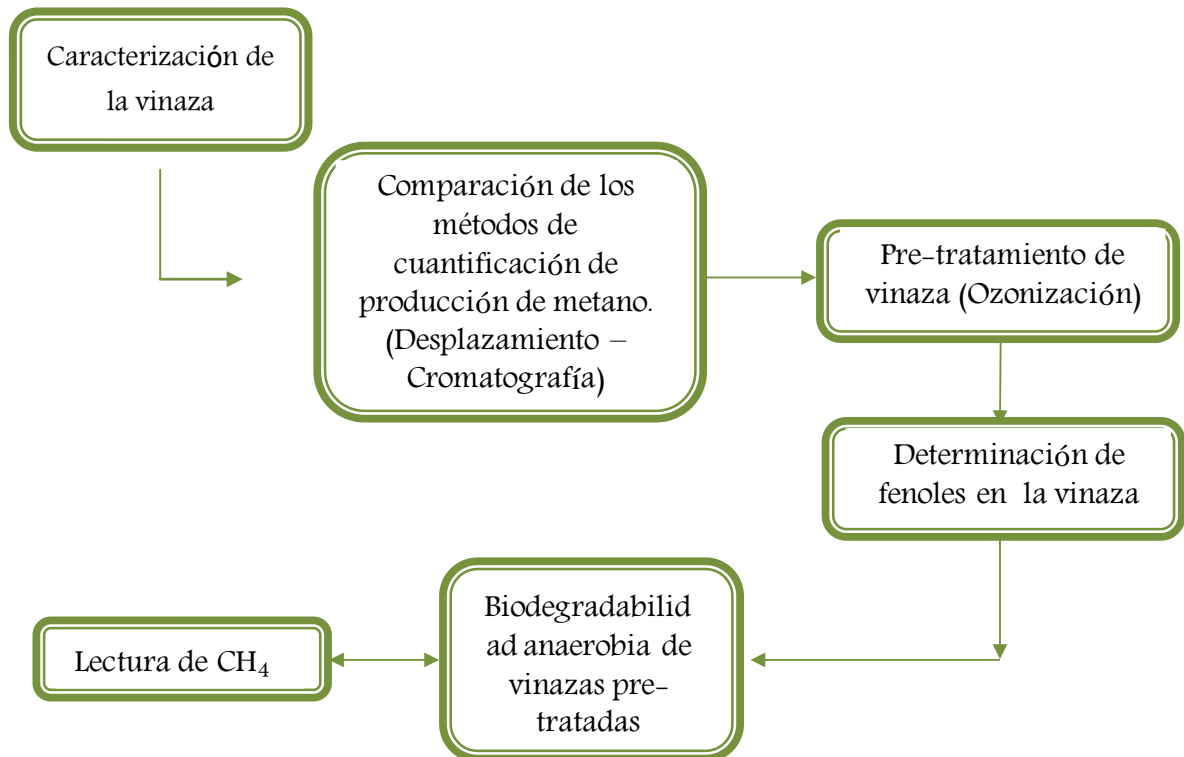


Figura 8. Esquematización del proyecto

Sustrato

La vinaza empleada en esta investigación proviene de la destilería del Ingenio Mayagüez, esta destilería tiene una capacidad instalada de 150.000 L d⁻¹ de alcohol carburante y un esquema de producción con una relación 2:1 L de vinaza / etanol anhidro (CENICAÑA 2006). Todos los ensayos descritos en este documento emplearon la misma muestra de vinaza, la cual fue conservada en refrigeración (4°C), hasta su etapa de pre-tratamiento.

Inóculo

El inóculo fue tomado del reactor UASB de la central de sacrificio animal de CAVASA, ubicado en el municipio de Candelaria, Valle del Cauca. Es un inóculo granular, referente de digestión anaerobia en el Valle del Cauca por su alta eficiencia en la remoción de carga contaminante (Gil, 2011). Los gránulos de este tipo de inóculo albergan microorganismos de todos los niveles tróficos involucrados en la digestión anaerobia. Los efluentes tratados por este reactor son aguas residuales con alto contenido de sangre bovina, por lo tanto rico en proteínas (Gil, 2011). La concentración de SSV fue de 118,18 g L⁻¹, según metodología APHA (2005).

5.2.1 Caracterización de las vinazas

La vinaza fue caracterizada mediante los parámetros de DQO (288.787 mg L⁻¹), pH (4.42), SST (52.000 mg L⁻¹) y DBO₅ (96,030 mg L⁻¹) según metodología APHA (2005). Posterior al pre-tratamiento las vinazas fueron caracterizadas nuevamente.

5.2.2 Comparación de los métodos de medición de producción de metano

La comparación de los métodos de medición de producción de metano a partir de vinazas se realizó en condiciones de operación exactamente iguales tanto para el método por desplazamiento como por cromatografía (ver Tabla 12).

Tabla 12. Condición de operación de los reactores en la etapa de comparación.

Método	Cromatografía	Desplazamiento
Sustrato	Vinaza cruda	Vinaza cruda
Nutrientes	-	-
Control	AGV	AGV
Nutrientes	+	+
Volumen efectivo (mL)	250	250
Temperatura (± 2°C)	30	30
Concentración lodo (g SSV.L ⁻¹)	1,5	1,5
Concentración del sustrato (g DQO.L ⁻¹)	4	4

Se emplearon 15 reactores por cada método: vinaza + lodo (por triplicado), Ácidos Grasos Volátiles + lodo (por triplicado), lodo (por triplicado) y los controles (vinaza y AGV), para un total de 30 reactores empleados en la fase de comparación.

La prueba de producción de metano se realizó durante 40 días en reactores de 500 mL, la siembra fue realizada en cámara de anaerobiosis. La fase líquida (volumen útil) estuvo compuesta por 236 mL de agua destilada, 3.5 mL del inóculo ($1.5 \text{ g SSV. L}^{-1}$) y 10.5 mL del sustrato (vinaza cruda, 4 g DQO. L^{-1}) (Díaz-Báez et al, 2002). Todas las botellas fueron sometidas a desplazamiento de O_2 con N_2 .

Método por desplazamiento:

Los reactores y las trampas de NaOH se sellaron con tapones plásticos recubiertos con tapas de PVC, el reactor y la trampa se unieron mediante una manguera de $\frac{1}{4}$ ", la trampa tuvo adherida una aguja hipodérmica de 1" para permitir la salida del NaOH (ver figura 9)



Figura 9. Tapones en pvc y trampas de NaOH sistema de reactores método por desplazamiento.

Método por cromatografía:

El material empleado para los reactores incluye botellas de suero de 500 mL los cuales están sellados con tapa rosca y septo de caucho (ver figura 10).



Figura 10. Reactores método por cromatografía de gases

El montaje completo del método por desplazamiento y por cromatografía de gases se observa en la siguiente figura (ver figura 11)



Figura 11. Condición de operación de los reactores método por desplazamiento y por cromatografía.

La mayoría de los digestores anaerobios operan entre 30 – 35°C porque la formación de metano a 20°C es baja (Díaz-Báez et al, 2002). La temperatura promedio de la ciudad de Cali durante el periodo de estudio osciló entre 24 y 26°C (Protiempo, 2012) por lo que se adecuó el montaje con bombillos de 60 W los cuales proporcionaron una temperatura de $32 \pm 1^\circ\text{C}$.

5.2.3. Reducción de compuestos fenólicos mediante PAOs

Las vinazas fueron pre-tratadas mediante un proceso avanzado de oxidación (PAOs): Ozonólisis

La ozonización se llevó a cabo en sistemas diseñados y construidos por los estudiantes del grupo de investigación GRALTA de la Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica de la Universidad del Valle.

El pre-tratamiento con ozono se realizó en una columna de vidrio 40 cm de alto y 5 cm de diámetro, la cual opera con un flujo de 0.5 L/min de mezcla Oxígeno/Ozono bajo condiciones de temperatura ambientales (26°C); la concentración de ozono empleada fue de $50 \text{ mg O}_3 \text{ L}^{-1}$. La vinaza se dispuso cruda (55% de SST) en la columna de vidrio. Con el objetivo de evaluar el sistema de burbujeo y garantizar el flujo de ozono a través de la muestra se recirculará la espuma generada durante el proceso, de ésta manera se logra un contacto constante entre la vinaza y el flujo de ozono (ver figura 12).



Figura 12. Sistema de ozonización de las vinazas.

El difusor empleado es de vidrio poroso de burbuja fina en la cual la eficiencia de transferencia del ozono se maximiza incrementando el área interfacial (Gogate et al, 2004).

Según Caicedo et al (2010) la concentración de ozono más eficiente para eliminación de compuestos fenólicos en vinazas es de 50 mg.L⁻¹ y el tiempo de exposición al cual hubo una reducción considerable del contenido orgánico en el sustrato fue de 2 horas; siendo el objetivo de este proyecto la reducción de los compuestos fenólicos en vinazas causando el menor cambio en la composición orgánica para ser aprovechada en la digestión anaerobia, se propuso exponer el sustrato al ozono con periodos cortos de aplicación; se evaluó el pre-tratamiento a pH 7.47 y 4.42. Las condiciones en las cuales fue realizada la ozonización se presentan en la tabla 13.

Tabla 13. Condiciones de operación para el proceso de ozonólisis

Pre – tratamiento	sustrato	Tiempo de aplicación (min)	pH	Concentración de ozono (mg.L ⁻¹)	Flujo de oxígeno/Ozono (L/min)
1	Vinaza	7	7.47	50	0.5
2	Vinaza	7	4.42	50	0.5
3	Vinaza	15	7.47	50	0.5
4	Vinaza	15	4.42	50	0.5
5	Vinaza	30	7.47	50	0.5
6	Vinaza	30	4.42	50	0.5

5.2.4. Determinación de la concentración de fenoles en la vinaza

La determinación de fenoles se llevó a cabo mediante el método de Folin – Ciocalteau según el procedimiento 5530E del *Standard Methods* (ver anexo F).

Para las pruebas de determinación de fenoles en la vinaza (cruda y pre-tratada) fue empleado un montaje de destilación extractiva, que consta de un balón aforado a 500 mL, una columna de destilación, un condensador en espiral y un recipiente receptor del destilado (ver figura 13).



Figura 13. Montaje de destilación extractiva

Con el fin de preservar la vinaza, se adicionó de 5 a 3 mL de H_3PO_4 dependiendo del pH de la muestra pre-tratada, el ácido fosfórico elimina interferencias debidas a sustancias oxidantes, reductoras y a compuestos azufrados (H_2S y SO_2) (COVENIN, 92;) todos los pre-tratamientos se ajustaron a pH 3.9, sin embargo para que el reactivo de folin Ciocalteu reaccione con los compuestos fenólicos, la muestra debe estar a pH básico, por lo que antes de proceso de destilación las muestras de vinaza pre-tratada fueron llevadas a un pH de 8, la destilación se realizó sin dilución previa de la vinaza.

Para llevar a cabo el proceso de destilación se adicionaron 50 mL de vinaza un balón aforado de 500 mL que contenía 25 piedras de ebullición. El balón se dispuso sobre una manta de calentamiento a $100^\circ C$, 15 minutos después del inicio de la ebullición de la vinaza se tomó 500 μL del destilado y se pasó a un tubo de ensayo de 10 mL al cual se le añadieron 500 μL del reactivo de Folin Ciocalteu, 1.5 mL de carbonato de calcio ($CaCO_3$) al 20% y 2.5 mL de agua destilada. Posterior a 2 horas de reacción se analizó la absorbancia de la muestra por espectrofotometría a 765 nm (ver figura 14).



Figura 14. Análisis por espectrofotometría

5.2.5. Producción de metano

5.2.5.1. Montaje del ensayo de biodegradabilidad anaerobia

Teniendo en cuenta la producción de metano producida y cuantificada por cada método (desplazamiento y cromatografía, parámetros descritos en los resultados) se estableció que por practicidad y precisión para cuantificar el metano producido, se empleará el método cromatográfico para evaluar la biodegradabilidad anaerobia de vinazas pre-tratadas.

El ensayo de digestión anaerobia fue realizado en reactores de 120 mL, los cuales llevan tapa rosca y septo de caucho ajustado con sello metálico de 20 cm de diámetro, se usó la agrafadora y la desagrafadora para colocar y retirar los sellos respectivamente (ver figura 15b), la siembra fue realizada en cámara de anaerobiosis. La fase líquida (volumen útil) estuvo compuesta por 33.5 mL de agua destilada, 1.52 mL del inóculo (1.5 g SSV. L⁻¹), 0.4 mL de solución de vitaminas (ver anexo A) y entre 0.56 – 0.84 mL del sustrato ya que todos los sustratos presentaron concentraciones de DQO diferentes (ver resultados – tabla 16), no obstante se garantizó la misma carga (4 g DQO. L⁻¹) en todos los reactores mediante balances de masa por volumen.

Todos los reactores fueron sometidos a desplazamiento de O₂ con N₂ (ver figura 15a). Las pruebas se realizaron en ausencia de nutrientes, debido a que el balance de nutrientes realizado a las vinazas demostró que cumplen con la relación C/N/P requerida por los microorganismos anaerobios 350 - 5 - 1 (Chernicharo, 1997 citado por Riberio, 2007).

Se realizaron 6 tratamientos, con 3 réplicas cada uno y con controles para el inóculo, para los AGV (73:23:4) y para cada sustrato. Las réplicas se mantuvieron a lo largo del experimento (25 días). Los reactores fueron inoculados en anaerobiosis (ver figura 16) e incubados durante el ensayo a 35°C en posición invertida, de esta manera se generó un sello hidráulico hacia el tapón de caucho (ver figura 17).



Figura 15. a) desplazamiento de O_2 con nitrógeno. b) cierre de los reactores con sello metálico.



Figura 16. a) cámara de anaerobiosis. b) siembra de los reactores en anaerobiosis.



Figura 17. a) reactores inoculados. b) posición de incubación invertida.

5.2.5.2. Seguimiento de la producción de metano

El metano producido cada 3 días se midió usando cromatografía de gases (Shimadzu GC 14, FID, ver figura 18); con una columna Carbowax 20M (3%), H₃PO₄ (1%) y supelco 80/100. Los picos de metano se detectaron alrededor de 0,5 segundos, mediante el software Peak Simple 3.0. Las condiciones de operación del cromatógrafo fueron: H₂= 40 psi, Aire= 30 psi, carrier 1= 300 psi y carrier 2= 140 psi. El gas de arrastre de ambos carriers fue Nitrógeno molecular (N₂).



Figura 18. Cromatógrafo de gases Shimadzu GC-14

La lectura de metano se realizó por duplicado, el volumen de inyección fue de 1 mL, se utilizó una jeringa con válvula para gases.

5.2.6. Análisis estadístico de los resultados

5.2.6.1. Comparación de metodologías

Para procesar los resultados de los ensayos de biodegradabilidad anaerobia por cromatografía de gases y por desplazamiento, se realizó una prueba de t de Student de comparación de medias con nivel de confianza del 95%, se realizaron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianza mediante las pruebas de Shaphiro Wilks, el estadístico F (Ronald Fisher) y la prueba de Levene.

5.2.6.2. Evaluación del pre-tratamiento de la vinaza

Se realizaron pruebas de ANOVA compuesta considerando como factor 6 tratamientos, como factores el pH y el tiempo de ozonización y como variable respuesta concentración de fenoles en mg.L^{-1} ácido gálico, se utilizó un nivel de confianza del 95%. Se realizaron comprobaciones de normalidad, homocedasticidad e independencia de las observaciones, la determinación de grupos homogéneos se realizó mediante la prueba de HSD Tukey. Se utilizaron los paquetes estadísticos Minitab y StatGraphics Plus 5.1 para Windows (Manugistics, Inc., Rockville MD, USA.)

5.2.6.3. Producción de metano

Se realizaron pruebas de ANOVA compuesta considerando como factor 6 tratamientos y como factores el pH y el tiempo de ozonización, como variable respuesta la producción de metano en mL g DQO. L^{-1} , se utilizó un nivel de confianza del 95%. Se realizaron comprobaciones de normalidad, homocedasticidad e independencia de las observaciones, la determinación de grupos homogéneos se realizó mediante la prueba de HSD Tukey. Se utilizaron los paquetes estadísticos Minitab y StatGraphics Plus 5.1 para Windows (Manugistics, Inc., Rockville MD, USA.)

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. CARACTERIZACIÓN DEL SUSTRATO

En la tabla 14 se observa las características fisicoquímicas de la vinaza proveniente del ingenio Mayagüez, Candelaria - Colombia empleada en todos los ensayos de ésta investigación.

Tabla 14. Caracterización fisicoquímica de la vinaza (Ingenio Mayagüez, Candelaria - Colombia)

Parámetro	Unidades	Medida
DQO	mg L ⁻¹	288,787
DBO ₅	mg L ⁻¹	96,030
pH	-	4.42
Nitrógeno	mg L ⁻¹	888
Fósforo	mg L ⁻¹	194

De acuerdo a esta caracterización la biodegradabilidad anaerobia de la vinaza es DBO₅/DQO: 0,33, las diferencias entre el contenido de DQO y DBO₅ son grandes, lo que indica que existe una alta proporción de componentes no biodegradables. Por otro lado, los valores obtenidos de carbono, nitrógeno y fósforo arrojan una proporción óptima para el crecimiento de los microorganismos anaerobios 350:5:1 (Díaz-Báez, 2002) de acuerdo con la siguiente relación:

$$0.88 \text{ g N L}^{-1} = 5 \text{ partes de Nitrógeno en el reactor}$$
$$61.6 \text{ g C L}^{-1} = 350 \text{ partes Carbono en el reactor}$$

$$0.195 \text{ g P L}^{-1} = 1 \text{ partes Fosforo en el reactor}$$
$$67.9 \text{ g C L}^{-1} = 350 \text{ partes Carbono en el reactor}$$

Teniendo en cuenta que el contenido de Carbono en la vinaza es de 289 g L⁻¹ y el máximo requerido para cumplir la relación C/N/P (350:5:1) es 67.9 g L⁻¹ no es necesario la adición de elementos en los reactores biológicos de tratamiento anaerobio ya que el sustrato no presenta limitante en cuestión de nutrientes.

6.2. COMPARACIÓN DE LOS MÉTODOS DE MEDICIÓN DE PRODUCCIÓN DE METANO

La siguiente figura presenta el resultado en mL de metano producido del ensayo de biodegradabilidad anaerobia de vinazas crudas durante 40 días mediante los métodos cromatografía de gases y desplazamiento.

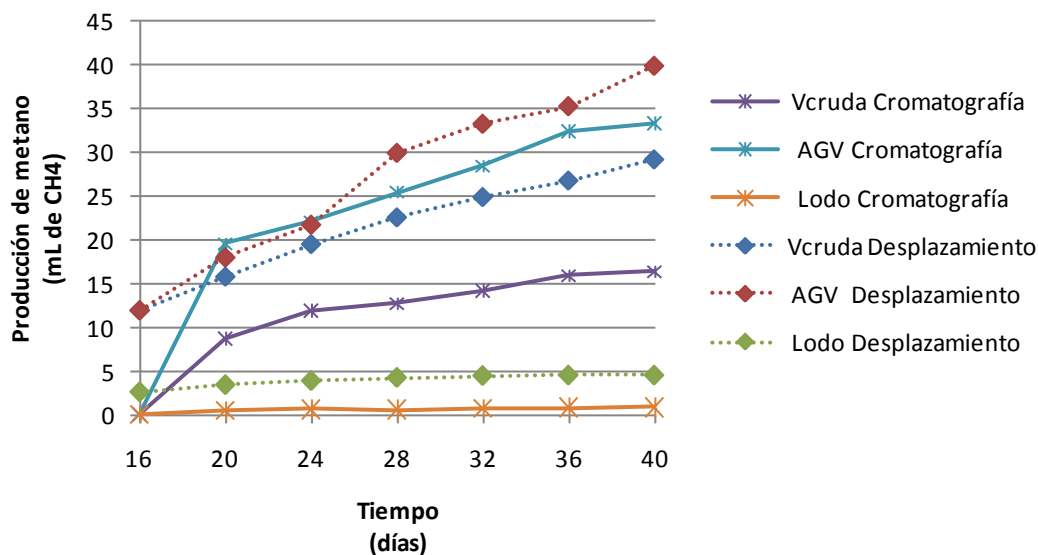


Figura 19. Producción de CH_4 por cromatografía y desplazamiento a partir de vinaza cruda, AGV y lodo

Como se observa en la figura 19, para el caso de la vinaza cruda tanto por el método por desplazamiento como por cromatografía el valor obtenido de producción de metano es menor que el producido por los Ácidos Grasos Volátiles (AGV 73:23:4) (aproximadamente $27 \text{ mL g DQO.L}^{-1}$ de CH_4 en cromatografía y $10 \text{ mL g DQO.L}^{-1}$ de CH_4 por desplazamiento - ver anexo B - C); esto se debe a que los ácidos grasos con bajo número de carbonos (ácido acético, propiónico y butírico) son fácilmente asimilados por las bacterias acetogénicas productoras de hidrógeno transformándolos a acetato, hidrógeno y dióxido de carbono (Díaz-Báez, 2002), por otro lado, la vinaza está compuesta por elementos inhibidores como los fenólicos que hacen de ésta un sustrato de difícil digestión. Los valores de biodegradabilidad son 1,7 y 0,33 para los AGV y la vinaza respectivamente.

Los resultados obtenidos en el ensayo de biodegradabilidad anaerobia para vinaza cruda (ver anexo B - C) muestran que el volumen de CH_4 (mL . g DQO.L^{-1}) reportado por el método desplazamiento es mayor con respecto al volumen de metano reportado por el método cromatografía de gases, esto puede deberse a la presencia de gases como N_2 , H_2S , NH_3 en el biogás resultante de la digestión de la vinaza (Ribeiro, 2007), que al no reaccionar con el hidróxido de sodio tienden a acumularse en la trampa de NaOH y sobreestimar el valor de metano producido, ya que al analizar el gas contenido en la trampa mediante cromatografía de gases el valor obtenido es menor que el valor reportado por el volumen desplazado (ver anexo D).

El inóculo empleado proviene de la planta de tratamiento de aguas residuales del beneficiadero animal de CAVASA S.A, por lo tanto, el afluente tratado en estas plantas de tratamiento son aguas residuales con alto contenido de materia orgánica, lo que puede explicar el hecho de la producción de metano en los reactores que contienen solo el inóculo, ya que la materia orgánica es utilizada por

los microorganismos como fuente de energía e induce a la producción de gas y a la actividad metanogénica (Hsieh, 2009).

Los reactores que sirvieron como control de vinaza cruda y AGV sin inóculo no reportaron producción de metano por el método cromatográfico. Por el método desplazamiento se obtuvo un valor máximo de $0.41 \text{ mL} \cdot \text{g DQO} \cdot \text{L}^{-1}$ de CH_4 para la vinaza cruda y de 0.12 para los AGV (ver Figura 20) lo cual puede ser efecto de la estabilización de los reactores ya que el volumen desplazado se obtuvo en los primeros 2 y 4 días del ensayo.

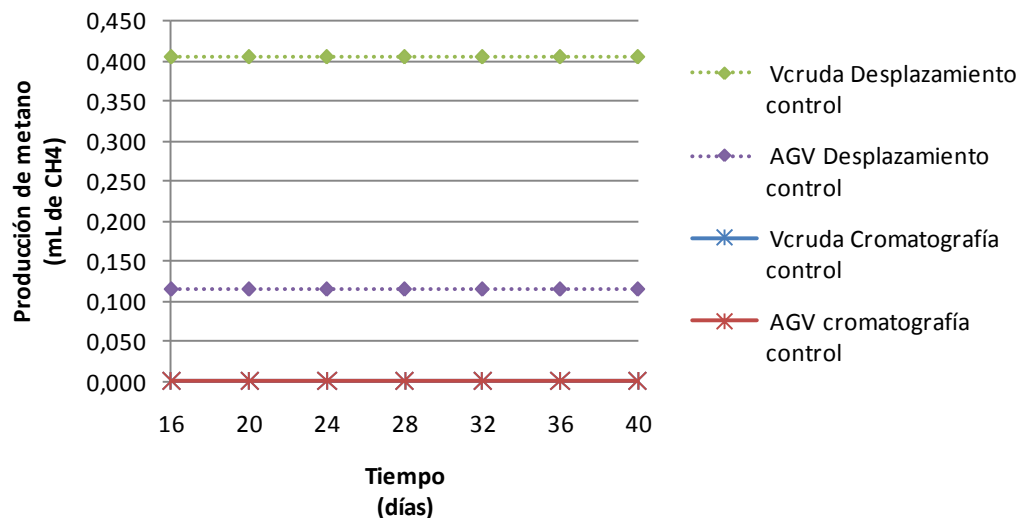


Figura 20. Producción de CH_4 por cromatografía y desplazamiento a partir de los controles vinaza cruda y AGV sin inóculo

6.2.1. Análisis Estadístico

En la tabla 15 se presenta el resumen de la producción de metano obtenida en los ensayos de biodegradabilidad anaerobia realizados mediante los métodos de medición cromatografía de gases y desplazamiento. La tabla se encuentra organizada por promedios aritméticos, desviaciones estándar y el valor de p basados en la lectura final (40 días).

Se realizó la prueba t student para determinar si existe diferencia entre los dos métodos de medición de metano teniendo en cuenta que la hipótesis nula ($P > 0,05$) indica que no existen diferencias entre los métodos.

En la tabla 15 se puede observar que los valores más bajos (media estadística) de la producción total de metano ($\text{mL} \cdot \text{g DQO} \cdot \text{L}^{-1}$ de CH_4 - 40 días) son obtenidos mediante el ensayo de biodegradabilidad anaerobia medido por cromatografía de gases, también se observa que la producción de metano reportada para el lodo (control) por el método desplazamiento es cuatro veces superior al promedio

reportado por cromatografía, por lo que el análisis estadístico indica que si existe diferencia entre las mediciones reportadas por los dos métodos.

La tabla 15 muestra que los valores de p para los sustratos vinaza cruda y AGV (73:23:4) medidos por cromatografía de gases y por desplazamiento analizados estadísticamente mediante la prueba t student son mayores que 0,05 por lo tanto no hay suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula, es decir, no existen diferencias entre los dos métodos anteriormente mencionados, por lo que cualquiera de ellos puede ser empleado en la etapa posterior de biodegradabilidad anaerobia de vinazas pre-tratadas.

Tabla 15. Resumen de la producción de metano medido por los métodos desplazamiento y cromatografía de gases.

Sustrato	Método		p
	Cromatografía	Desplazamiento	
Vinaza Cruda	16,36 ± 2,26 ^a	29,23 ± 9,11 ^a	0,144
AGV	33,39 ± 2,30 ^a	39,87 ± 7,04 ^a	0,272
Lodo	0,84 ± 0,24 ^a	4,49 ± 0,37 ^b	0,007

Media ± desviación estándar (n=3)

Datos con diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa (p<0,05)

6.3. REDUCCIÓN DE COMPUESTOS ORGÁNICOS MEDIANTE PAOs

A partir de la vinaza cruda (ver tabla 14) se realizó el pre-tratamiento con ozono a tiempos cortos de aplicación (7, 15 y 30 minutos), los valores de la concentración de DQO y compuestos fenólicos se observan a continuación (tabla 16 – tabla 17).

Tabla 16. Reducción de materia orgánica en los pre-tratamientos, en términos de DQO

Pre-tratamiento	DQO inicial (g L ⁻¹)	DQO final (g L ⁻¹)	% remoción de DQO
Vin Oz 7' (pH 7.4)	288.787	277.058	4.1
Vin Oz 15' (pH 7.4)	288.787	265.015	8.23
Vin Oz 30' (pH 7.4)	288.787	201.805	30.12
Vin Oz 7' (pH 4.4)	288.787	261.910	9.31
Vin Oz 15' (pH 4.4)	288.787	215.175	25.49
Vin Oz 30' (pH 4.4)	288.787	191.945	33.53

El porcentaje de remoción de materia orgánica usando ozono como pre-tratamiento es más representativo en vinazas con pH ácido, alcanzando los valores más altos de remoción 25.49 – 33.53 para el pre-tratamiento aplicado a 15 y 30 minutos a pH 4.4 respectivamente. Las eficiencias de remoción de DQO a pH ácido están de acuerdo con lo reportado por Caicedo y colaboradores en 2010 donde se concluye que el pH natural de la vinaza (4.42) es el adecuado para aplicar una ozonización con fines de disminuir de la carga orgánica en este sustrato, sin embargo a pesar de esta disminución, la eficiencia obtenida al aplicar este pre-tratamiento es baja, de acuerdo Martin Santos et al (2003), la ozonización de vinazas no presenta altas tasas de remoción de materia orgánica, sino transformación de compuestos presentes en el residuo, por lo que es conveniente optar por esta tecnología para transformar compuestos de difícil degradación a compuestos más simples, sin disminuir en alto grado la concentración orgánica del residuo.

Tabla 17. Reducción del contenido de fenoles en los pre-tratamientos.

Pre-tratamiento	Contenido inicial de fenol (g ácido gálico L ⁻¹)	Contenido final de fenol (g ácido gálico L ⁻¹)	% remoción de fenol
Vin Oz 7' (pH 7.4)	306.12	158.07	48.36
Vin Oz 15' (pH 7.4)	306.12	134.20	56.16
Vin Oz 30' (pH 7.4)	306.12	115.09	62.40
Vin Oz 7' (pH 4.4)	306.12	243.18	20.56
Vin Oz 15' (pH 4.4)	306.12	213.32	30.31
Vin Oz 30' (pH 4.4)	306.12	196.77	35.72

Martín Santos et al, (2003) mencionan que un pre-tratamiento con ozono en vinazas con pH natural (4.42) es indicado para la remoción de compuestos fenólicos, en esa ocasión se evaluó la vinaza a un pH ácido (4.5) y pH alcalino (8.8) donde se evidencia que la reacción directa de oxidación (oxidación mediante el ozono molecular) es más eficiente para disminuir fenoles frente a la reacción

indirecta (oxidación a través de los radicales hidroxilo). Sin embargo los resultados obtenidos en esta investigación (ver tabla 17) indican que a pH cercanos a la neutralidad la disminución de compuestos fenólicos se da en mayor proporción que a pH ácidos, este hecho puede explicarse debido a que una condición de pH neutro favorece ambas reacciones de oxidación (directa e indirecta) concordando con Singer y Gurol (1983) quienes demuestran que la reacción de oxidación del fenol por ozono está influenciada por el pH, incrementando la reacción a medida que aumenta el pH y con Jeworski y heinzle (2000) quienes indican que la eficiencia del proceso de ozonización es mayor a pH neutros por la cantidad de ozono requerido para oxidar moléculas orgánicas; Martín y colaboradores (2005) exponen que el ozono es un oxidante selectivo para eliminar compuestos fenólicos en la vinaza, (reacción ozono-fenol entre 20 y 4 veces más rápida que con el resto de compuestos orgánicos presentes en el residuo) sin disminuir demasiado la carga orgánica transformable a metano. Siles y colaboradores (2011), mencionan que la ozonización tiene una alta afinidad y selección por los compuestos fenólicos obteniendo subproductos de esta reacción que son fácilmente asimilables por las comunidades microbianas presentes en los procesos anaerobios, tales como aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos carboxílicos.

El porcentaje de remoción de compuestos fenólicos en la vinaza alcanzó un 62% a pH 7.4 y 35% a pH 4.4 frente a 89% de remoción alcanzado por la reacción de oxidación de ozono en una solución pura de fenol (Ver Anexo E) indicando que la vinaza contiene sustancias inhibitoras a este tipo de reacción.

Tabla 18. Aumento en la biodegradabilidad anaerobia de la vinaza

Pre-tratamiento	DQO (g L⁻¹)	DBO₅ (g L⁻¹)	DBO₅/ DQO
Vin Oz 7' (pH 7.4)	277.058	148.026	0.53
Vin Oz 15' (pH 7.4)	265.015	138.103	0.52
Vin Oz 30' (pH 7.4)	201.805	160.473	0.79
Vin Oz 7' (pH 4.4)	261.910	134.490	0.51
Vin Oz 15' (pH 4.4)	215.175	107.001	0.50
Vin Oz 30' (pH 4.4)	191.945	102.436	0.53
Vinaza Cruda	288.787	96.030	0.33
AGV	800	1657.343	2.07

A partir de los resultados de la relación DBO₅/DQO (ver tabla 18) se estimó que la biodegradabilidad de la vinaza aumenta 46% a pH neutro y 20% a pH ácido después de la ozonización, indicando que en el proceso de oxidación ocurren transformaciones en los compuestos orgánicos, concordando con Forero y colaboradores (2005) quienes indican que los procesos avanzados de oxidación producen cambios profundos en la estructura química de los contaminantes, ya que debido a la acción del ozono, sustancias como aminas, pesticidas y compuestos aromáticos son transformados y llevados a un estado en el cual su

biodegradabilidad puede realizarse fácilmente. Los fenoles son un grupo de sustancias potencialmente susceptibles a la ozonización, ya que estos compuestos se caracterizan por la presencia de un grupo donador OH sobre el núcleo aromático que lo hace fuertemente reactivo hacia el ozono (Forero, 2005), siendo los principales productos de esta oxidación aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos carboxílicos (Mahmoud et al, 2007).

6.3.1. Análisis Estadístico

De acuerdo con el análisis de varianza (ver tabla 19), la disminución de la concentración de compuestos fenólicos en la vinaza no depende de la interacción entre el tiempo de aplicación de ozono y el pH, depende por el contrario de la intensidad de los factores, es decir, los factores tiempo de aplicación de ozono y pH influyen individualmente sobre la disminución del fenol en el sustrato.

Tabla 19. ANOVA de dos vías: concentración de fenol frente al tiempo de ozonización y pH

Factor	Suma de cuadrados	F	P
Tiempo de ozonización	2877,2	39,89	0,000
pH	22904,0	635,14	0,000
Tiempo - pH	183,1	91,6	0,159

La tabla 20 muestra la variación de la concentración de fenol para los diferentes tiempos de aplicación de ozono (7 – 15 – 30 minutos). En la tabla se observa que los compuestos fenólicos disminuyen a medida que el tiempo se hace más prolongado. El porcentaje de remoción de la concentración de compuestos fenólicos en la vinaza es de 34% en el minuto 7 y 43% - 46% en los minutos 15 y 30 respectivamente.

Tabla 20. Variación de la concentración de fenol frente al tiempo de ozonización

Tiempo de ozonización (min)	7	15	30
Concentración de fenol (mg.L⁻¹ ácido gálico)	200,57±44,43 ^a	173,53±46,11 ^b	164,0±56,55 ^b

Media ± desviación estándar (n=4)

Datos con diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa (p<0,05)

De la misma manera la tabla 21 muestra la variación de la concentración del fenol a diferentes pH (7.4 – 4.4). En la tabla se observa que los compuestos fenólicos presentan una mayor disminución a pH 7.4 lo que indica que la reacción de oxidación entre el ozono y el fenol aumenta cuando la vinaza presenta un pH

cercano a la neutralidad con un porcentaje de remoción 62% y 35% para pH 7.4 y 4.4 respectivamente.

Tabla 21. Variación de la concentración de fenol frente al pH del sustrato

Ph	7.4	4.4
Concentración de fenol (mg.L⁻¹ ácido gálico)	135,68±19,87 ^a	223,06±16,15 ^b

Media ± desviación estándar (n=6)

Datos con diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa (p<0,05)

6.4. PRODUCCIÓN DE METANO

La siguiente figura presenta los resultados del ensayo de biodegradabilidad anaerobia para vinazas pre-tratadas con ozono a una concentración de 50 mg.L^{-1} con tiempos de aplicación 7, 15 y 30 minutos en un medio ácido (pH 4.4) y en un medio neutro (pH 7.4) durante 25 días medido por cromatografía de gases.

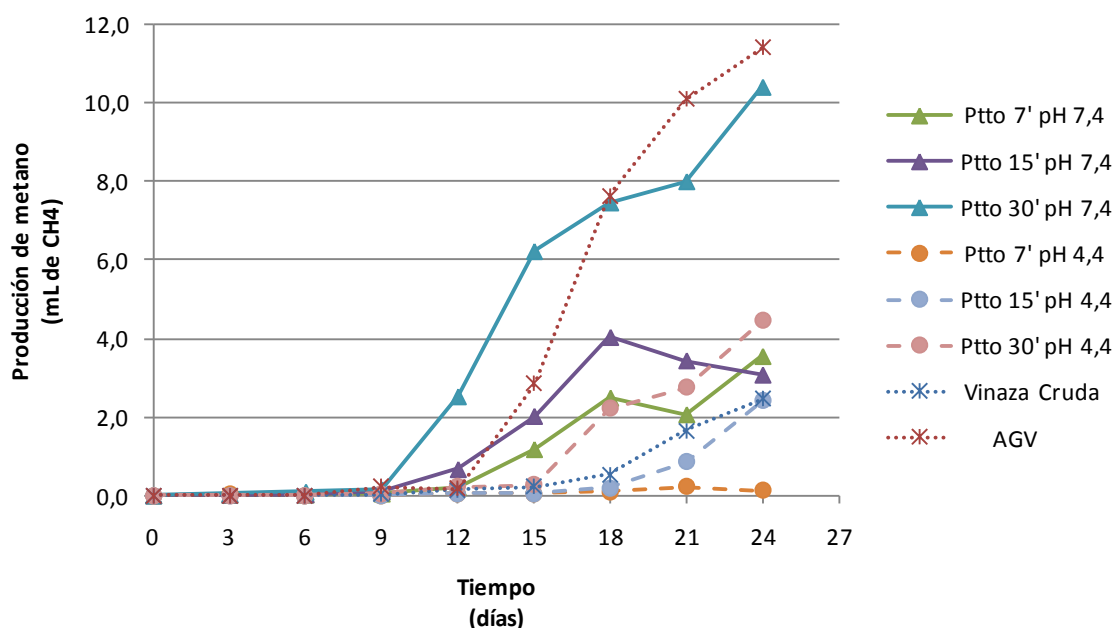


Figura 21. Producción acumulada de CH_4 a partir de Vinaza pre-tratada con ozono a 7, 15 y 30 minutos.

En la figura 21 se presentan las producciones acumuladas de metano de los tratamientos. En ésta figura se observa que la producción de metano acumulada más alta la presentó el tratamiento con 30 minutos de aplicación de ozono (50 mg.L^{-1}) a un pH neutro (7.4) alcanzando un rendimiento de producción similar al de los ácidos grasos volátiles (Ptto 30' pH 7.4: $10,43 \text{ mL. g DQO.L}^{-1}$ de CH_4 – AGV: $11,43 \text{ mL. g DQO.L}^{-1}$ de CH_4). Los demás tratamientos tuvieron una producción de metano entre 4,5 a 2,5 mL. g DQO.L^{-1} (Ptto 30' pH 4.4; Ptto 15' pH 7.4; Ptto 15' pH 4.4; Ptto 7' pH 7.4 respectivamente); solo el tratamiento de vinaza a un pH 4.4 y 7 minutos de aplicación de ozono presentó una muy baja producción de metano ($0,12 \text{ mL. g DQO.L}^{-1}$) lo que refleja que el sustrato requiere más de 7 minutos para llevar a cabo una eficiente reacción de oxidación, en este caso una reacción directa a través del ozono molecular debido al pH ácido del medio.

La producción de metano reportada en el ensayo de biodegradabilidad anaerobia para vinaza cruda es significativamente baja ($2,87 \text{ mL. g DQO.L}^{-1}$) con respecto a los AGV ($11,43 \text{ mL. g DQO.L}^{-1}$) esto se debe a la presencia de compuestos poco degradables en el sustrato, lo que traduce una difícil asimilación por parte de los

microorganismos. La figura 21 indica que el pre-tratamiento con ozono representa una gran ventaja para la transformación de compuestos de difícil degradación, es decir, el ozono torna más biodegradable la vinaza sin disminuir demasiado la carga orgánica transformable a metano (Martín Santos et al. 2005), lo que permite concluir que el tratamiento PAOs (O₃) - biológico resulta rentable para vinazas ya que no genera una desvalorización del residuo, sino por el contrario una valorización.

En la tabla 22 se presenta un resumen de las producciones de metano de todas las pruebas de biodegradabilidad anaerobia realizadas durante los 25 días del ensayo. La tabla se encuentra organizada por promedios aritméticos y desviaciones estándar basados en la lectura final (25 días).

Tabla 22. Resumen de la producción de metano en los tratamientos.

Sustrato	Media (mL. g DQO.L ⁻¹)
Vin Oz 7' (pH 7.4)	3,55 ± 1,66
Vin Oz 7' (pH 4.4)	0,12 ± 0,02
Vin Oz 15' (pH 7.4)	4,27 ± 0,39
Vin Oz 15' (pH 4.4)	2,40 ± 3,70
Vin Oz 30' (pH 7.4)	10,43 ± 2,75
Vin Oz 30' (pH 4.4)	4,45 ± 0,94
Vinaza Cruda	2,87 ± 1,97
AGV	11,43 ± 0,84

Media ± desviación estándar (n = 3)

En la figura 22, se puede observar que el valor más bajo (media estadística) de la producción total de metano (mL. g DQO.L⁻¹ de CH₄ - 25 días) es presentado por las pruebas de biodegradabilidad anaerobia cuyo sustrato era vinaza pre-tratada durante 7 minutos a pH 4.4 con una concentración de 50 mg.L⁻¹ O₃. Por otra parte, el tratamiento que mayor producción de metano presentó fue la vinaza pre-tratada durante 30 minutos a pH 7.4. Se observa también que los valores de producción de metano son mejores a pH cercanos a la neutralidad comparados con la producción de metano a pH ácidos, al igual que el mejor rendimiento se obtuvo a los 30 minutos comparado con el tiempo de aplicación de ozono a los 7 y 15 minutos.

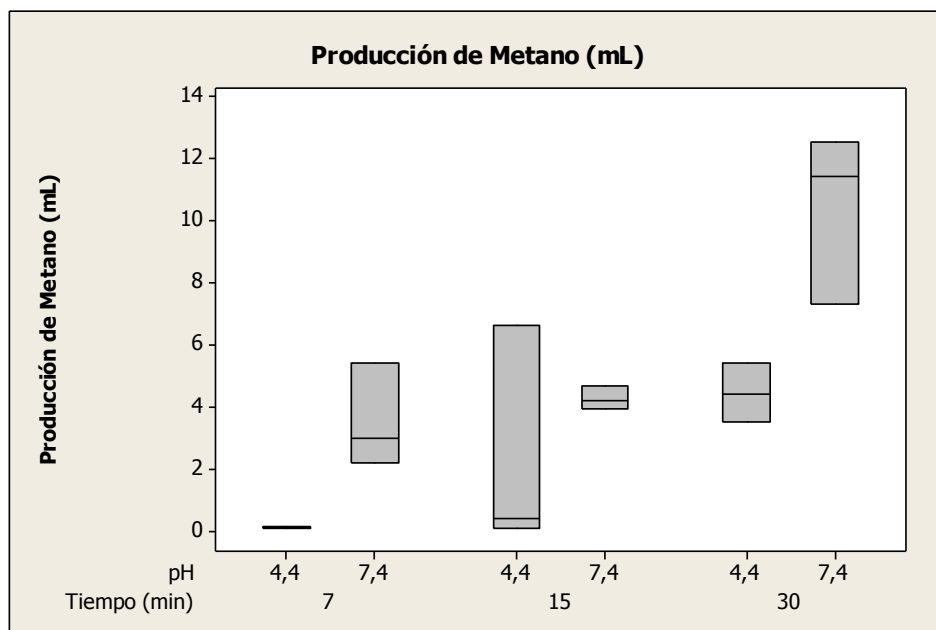


Figura 22. Resumen de la producción de metano en los tratamientos

6.4.1. Análisis Estadístico

De acuerdo al análisis de varianza de los resultados de la producción de metano para todos los tratamientos (ver tabla 23), el aumento de la producción de metano para vinaza pre-tratada no depende de la interacción entre el tiempo de aplicación de ozono y el pH en los tratamientos, lo que indica que tiempo de aplicación de ozono y pH actúan individualmente sobre la producción de metano.

Tabla 23. ANOVA de dos vías: producción de metano frente al tiempo de ozonización y pH

Factor	Suma de cuadrados	F	P
Tiempo de ozonización	101,114	12,11	0,001
pH	63,600	15,23	0,002
Tiempo - pH	12,901	1,55	0,253

La tabla 24 muestra la variación de la producción de metano para los diferentes tiempos de aplicación de ozono (7 – 15 – 30 minutos). En la tabla se observa que la producción de metano aumenta a medida que el tiempo de ozonización es más prolongado, sin embargo, estadísticamente no existen diferencias entre los resultados de producción de metano obtenidos a los 15 y 30 minutos, lo que lleva a concluir que al minuto 15 es más eficiente el tratamiento debido a la cantidad de energía y ozono empleada.

Tabla 24. Variación de la producción de metano frente al tiempo de ozonización

Tiempo de ozonización (min)	7	15	30
Producción de metano (mL de CH₄)	1,833 ± 2,154 ^a	3,33 ± 2,56 ^b	7,44 ± 3,76 ^b

Media ± desviación estándar (n=6)

Datos con diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa (p<0,05)

De la misma manera la tabla 25 muestra la variación de la producción de metano frente al pH 7.4 y 4.4. En la tabla se observa que la producción de metano presenta mayor rendimiento a pH 7.4 lo que indica que la disminución de compuestos tóxicos en la vinaza se da en mayor proporción a un pH cercano a la neutralidad, esto puede ser retribuido a que la reacción de oxidación entre el ozono y el fenol está influenciada por el pH, siendo una relación directamente proporcional, es decir a medida que aumenta el pH aumenta la reacción de oxidación (Singer y Gurol, 1983).

Tabla 25. Variación de la producción de metano frente al pH del sustrato

Ph	4.4	7.4
Producción de metano (mL de CH₄)	2,323 ± 2,677 ^a	6,08 ± 3,65 ^b

Media ± desviación estándar (n=6)

Datos con diferentes letras en la misma fila indican diferencia significativa (p<0,05)

7. CONCLUSIONES

Para vinazas, la producción máxima de metano durante los 40 días del experimento reportada mediante el método por desplazamiento fue 29,23 mL. g DQO.L⁻¹ de CH₄ frente a 16,36 mL. g DQO.L⁻¹ de CH₄ reportado por el método cromatográfico.

El análisis estadístico indica que los métodos desplazamiento y cromatografía de gases no presentan diferencias representativas en cuanto a la cuantificación de la producción de metano cuando el sustrato es vinaza cruda.

En el proceso de ozonización de la vinaza la influencia del pH en la velocidad de reacción Ozono – Fenol es evidente. En las mismas condiciones de tratamiento (50 mgL⁻¹ O₃ – 30 min) la remoción de compuestos fenólicos es 62% a pH 7.4 y 35% a pH 4.4.

La reacción de oxidación por parte del ozono es 27% más lenta a pH 7.4 y 54% a pH 4.4 en vinazas comparada con una solución pura de fenol (89% de remoción). Esta diferencia se debe principalmente a la naturaleza de las mezclas de compuestos fenólicos en el sustrato y al elevado contenido de materia orgánica que pueden actuar como inhibidores (Forero et al, 2005).

La remoción de la concentración los compuestos fenólicos y de DQO presenta una tendencia lineal con el tiempo, sin embargo la velocidad de reacción de la DQO es baja y varía solo 30% comparado con la remoción del fenol que alcanzó un 62% al igual que la DBO₅ que aumentó 67 y 40% a pH 7.4 y 4.4 respectivamente indicando que se generan compuestos intermedios de reacción en el pre-tratamiento aplicado.

El uso del ozono (50 mg.L⁻¹) como tratamiento avanzado de oxidación aumenta la biodegradabilidad de la vinaza, aproximadamente en 46% a pH 7.4 y 20% a pH 4.4.

En cuanto a eficiencia económica y energética la mejor producción de metano se obtuvo de la vinaza tratada con Ozono 50 mg.L⁻¹ a 15 minutos de aplicación y pH 7.4.

El tratamiento PAOs (O₃) - biológico para el mejoramiento de la producción de biogás en la vinaza representa una buena oportunidad para la sustitución de combustibles de origen fósil, debido al valor energético del CH₄ 11350 Kcal.Kg⁻¹ y al aumento en la producción de metano a partir de vinaza pre-tratada 70% mayor con respecto a la vinaza cruda.

8. BIBLIOGRAFÍA

ACEVEDO, 2011. Evaluación de Tecnologías para la Valoración de Residuos Orgánicos en la Producción de AGV. Tesis de maestría. Posgrado en ciencias biomédicas. Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st Ed. Ed., American Public Health Association, Washington D.C.

AQUINO, F., CHERNICHARO, C., FORESTI, E., FLORÊNCIO DOS SANTOS, M., MONTEGGIA. L. 2007. Metodologias para Determinação da Atividade Metanogênica Específica (AME) em Lodos Anaeróbios.

ASOCAÑA, LONDOÑO, L.F. 2007. Producción de Etanol en Colombia. Sector Azucarero Colombiano.

ASOCAÑA. 2010. Sector Azucarero Colombiano: Informe Anual de Mercados. Área Económica.

ASOCAÑA. 2011. Sector Azucarero Colombiano: Informe Anual de Mercados. Área Económica.

AUGSTBURGER, F., BERGER, J., CENSKOWSKY, U., HEID, P., MILZ, J., & STREIT, C. 2000. Agricultura Orgánica en el Trópico y Subtrópico: Producción Orgánica de Caña de Azúcar. Asociación Naturland - 1ª edición.

BARBA HO. L. 2002. Guía de laboratorio: Actividad Metanogénica. Escuela de Ingeniería de los recursos Naturales y del Ambiente, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

BECERRA, C., GÓMEZ, D., MARRIAGA, N. 2010. Tratamiento de Vinazas. Universidad del Valle, Santiago de Cali – Colombia.

BELEÑO I. 2011. El 50% del Agua Potable es de Mala Calidad. En: UN periódico, Publicación de la Universidad Nacional de Colombia. Bogotá D.C. N° 141. Pág. 14.

BRAVO, S., GIRALDO, S., CENTENO, A., PÁEZ, E. 2006. Catalizadores para Purificación de Aguas Industriales que Contengan Compuestos Resistentes a la Biodegradación. Centro de Investigaciones en Catálisis. Universidad Industrial de Santander.

CAICEDO, N., MACHUCA-MARTINEZ, F., MUÑOZ, Y., ECHEVERRY, D., CIFUENTES, W., ARCE, A., BETANCOURT, L. 2010. Pre-tratamiento con Ozono de Vinazas Crudas Provenientes de la Industria de Caña de Azúcar. Tesis de grado. Ingeniería Química. Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

CARDONA, C., SÁNCHEZ, O., MONTOYA, M., QUINTERO, J. 2005. Simulación de los Procesos de Obtención de Etanol a Partir de Caña de Azúcar y Maíz. *Scientia*, (28), 187-192.

CENICAÑA. 2006. Proyectos de Investigación sobre Uso y Manejo de Vinazas. *Director*, 1-11.

CENICAÑA. 2009. Informe anual. Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia. Cali. 2010.

COLOMBIA. MINISTERIO DE AMBIENTE, VIVIENDA Y DESARROLLO TERRITORIAL - MAVDT. Política Nacional para la Gestión Integral del Recurso Hídrico. Bogotá, D.C. Colombia, Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial 124 pág. 2010.

COVENIN. 1992. Aguas Naturales, Industriales y Residuales: Determinación de Fenol. Norma Venezolana 2917-92.

CHAVES, M. 2004. La Caña de Azúcar como Materia Prima para la Producción de Alcohol Carburante. Liga Agrícola Industrial de la Caña de Azúcar dirección de investigación y extensión de la Caña de Azúcar. *Director*, (506).

CHERNICHARO, C. A. 2007. Principios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Reactores anaeróbios, Universidade Federal de Minas Gerais., Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Brasil.

DÍAZ-BÁEZ, C., ESPITIA, E., MOLINA, F. 2002. Digestión Anaerobia, una Aproximación a la Tecnología. Instituto de Biotecnología Universidad Nacional de Colombia.

ECHEVERRY, D., CARMONA, F. 2002. Aplicación de la Alta Tensión con Fines Sociales – Generación de Ozono por Descarga Corona. Tesis de grado. Escuela de Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

FERREIRA, M. 2006. Tratamento da Vinhaca em Reator Anaeróbio Operado em Batelada Sequencial Contendo Biomassa Imobilizada sob Condições Termofílicas e Mesofílicas. Universidade de Sao Paulo.

FORERO, J.E., ORTIZ, O.P., RIOS, F. 2005. Aplicación de Procesos de Oxidación Avanzada como Tratamiento de Fenol en Aguas Residuales Industriales de Refinería. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal CT&F Ciencia, Tecnología y Futuro. Vol 3 N° 001.

GARCÍA-MONTAÑO, J., DOMÈNECH, X., GARCÍA-HORTAL, J. A., TORRADES, F., AND PERAL, J. 2008. "The Testing of Several Biological and Chemical Coupled Treatments for Cibacron Red FN-R azo dye removal." *Journal of Hazardous Materials*, 154(1-3), 484-490.

GIL, J.J. 2011. Evaluación de la Producción de Metano en la Digestión Anaerobia de Vinazas Pretratadas con un Proceso Avanzado de Oxidación. Tesis de maestría. Posgrado en Ingeniería. Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

GIRON, M.A. 2008. Evaluación de la Posible Contaminación del Suelo y Agua Subterránea con Elementos Pesados por el Uso de Vinaza en el Cultivo de la Caña de Azúcar. Tesis de maestría. Posgrado en Consultoría Ambiental. Universidad Politécnica de Cataluña, España.

GOGATE, P. PANDIT, A. 2004. A Review of Imperative Technologies for Wastewater Treatment I: Oxidation Technologies at Ambient Conditions. *Advances in Environmental Research*, Vol. 8. Pág. 501–551.

GONÇALVES, M., PINHEIRO, S. L., LOPES DOS SANTOS, C., AZEVEDO, S. 2002. Utilização de Processos Oxidativos Avançados (POAs) no Tratamento de Líquidos Percolados Provenientes do Aterro Sanitário de Uberlândia-MG/Brasil. Trabalho apresentado no Congresso Iberoamericano de Engenharia Sanitaria y Ambiental, México.

GRANATO, E. 2003. Geração de Energia através da Biodigestão Anaeróbica da Vinhaça. Tese de mestrado. Pós-graduação em Engenharia. Universidade Estadual Paulista, São Paulo – Brasil.

HADAVIFAR, M., ZINATIZADEH, A. 2009. Fenton and Photo-Fenton Treatment of Distillery Effluent and Optimization of Treatment Conditions With Response Surface Methodology. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 5(3): 454-464.

HSIEH, C.F. 2009. Toxicidad Metanogénica de Purín de Cerdo Mediante Ensayos Discontinuos. Tesis de grado. Facultad de Ingeniería, Universidad de la Serena, Chile.

INGENIO MAYAGÜEZ. Energía en evolución. En: *Productos: Alcohol Carburante*. [En línea]. [Consultado el lunes, 12 de marzo de 2012]. Disponible en <<http://www.ingeniomayaguez.com/productos/alcohol-carburante>>

JEWORSKI, M., HEINZLE, E. (2000). Combined Chemical – Biological Treatment of Wastewater Containing Refractory Pollutants. *Biotechnology Annual Review*, V6. p 163 – 196.

JULCA, J. 2006. Procedimiento y Esquemas, Bromación del Fenol. Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Trujillo.

MAHMOUD, A., FREIRE, R. 2007. Métodos Emergentes para Aumentar a Eficiência do Ozônio no Tratamento de Águas Contaminadas. *Química Nova* 30(1), 198-205. Instituto de química, Universidade de São Paulo. SP/Brasil.

MALATO, S., FERNÁNDEZ-IBÁÑEZ, P., MALDONADO, M. I., BLANCO, J., AND GERNJAK, W. 2009. "Decontamination and Disinfection of Water by Solar Photocatalysis: Recent Overview and Trends." *Catalysis Today*, 147(1), 1-59.

MARTIN, MA., RAPOSO, B., BORJA., MARTIN A. 2002. Kinetic Study of the Anaerobic Digestion of Vinasse Pretreated with Ozone, Ozone Plus Ultraviolet Light, and Ozone Plus Ultraviolet Light in the Presence of Titanium Dioxide. *Jornal Process Biochemistry* 37 (02) 699 – 706.

MARTIN SANTOS, MA., FERNÁNDEZ J.L., MARTIN, A., GARCÍA, I. 2003. Ozonation of Vinasse in Acid and Alkaline Media. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 78:1121 – 1127.

MARTÍN SANTOS, MA., BONILLA, J., MARTÍN, A., GARCÍA, I. 2005. Estimating the Selectivity of Ozone in the Removal of Polyphenols From Vinasse. *Chemical Technology*, 438, 433-438. doi:10.1002/jctb.1222

MARTINS DE CARVALHO, A. 2004. Efficient Algorithms for Structured Motifs Extraction in DNA Sequences. Tese de Mestrado. Faculdade de Engenharia. Universidade Técnica de Lisboa.

MICROBIAL SYSTEMS. 2009. Extracción y Purificación del ADN para el Análisis por PCR. Mito y Realidades. Newsletter. N° 3. 01-02-09.

PADILLA. C., DIEZ. J., MARTÍNEZ. E., BÁRCENA. J., GARCÍA. C. 2004. Electroforesis de Ácidos Nucleicos en Geles de Agarosa. Aislamiento y Caracterización Electroforética de DNA Plasmídico. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, Universidad de Córdoba, Colombia.

PARRA, S., SARRIA, V. 2000. Photochemical Versus Coupled Photochemical-Biological Flow System for the Treatment of Two Biorecalcitrant Herbicides: Metobromuron and Isoproturon. *Applied Catalysis B: Environmental* 27(3): 153-168.

PIDOU, M., PARSONS, S. A., RAYMOND, G., JEFFREY, P., STEPHENSON, T., AND JEFFERSON, B. 2009. "Fouling Control of a Membrane Coupled Photocatalytic Process Treating Greywater." *Water Research*, 43(16), 3932-3939.

PISTONESI, C., HAURE, JL., D'ELMAR, R. 2010. Energía a Partir de las Aguas Residuales – Diferentes Alternativas a los Procesos de los Tratamientos de Aguas Residuales para Obtener Energía Ecológicamente Limpia. Universidad Tecnológica Nacional – Argentina.

Procedimiento Operativo Estándar. 2008. Extracción de DNA (Power Soil DNA Isolation Kit. MO BIO Laboratories, Inc.)

Procedimiento Operativo Estándar. 2008. PCR para Muestras Ambientales – Lodos Anaerobios.

Protiempo. 2012. Tiempo y Clima En América del Sur. [En línea]. [Consultado el martes, 5 de junio de 2012]. Disponible en <<http://www.protiempo.es/resultados.php>>

RAMÍREZ, C., HERNÁNDEZ, I., ORTIZ, C., ALONSO, M. 2002. Oxidación de Fenoles con Peróxido de Hidrógeno y Ozono. Trabajo Presentado en el Congreso Iberoamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, México.

RFA, *Renewable Fuels Association*. 2011. World Ethanol Production Outlook.

RIBERIO, K. 2007. Avaliação Técnico-Econômica e Ambiental da Utilização do Biogás Proveniente da Biodigestão da Vinhaça em Tecnologias para Geração de Eletricidade. Tesis doctoral. Posgrado en Ingeniería Mecánica. Universidad Federal de Itajubá, Itajubá – Brasil.

RODRÍGUEZ, A., LETÓN, P., ROSAL, R., DORADO, M., VILLAR, S., SANZ, J. 2006. Tratamientos Avanzados de Aguas Residuales Industriales. Universidad de Alcalá, IV Programa Regional de Ciencia y Tecnología de la Consejería de Educación de la Comunidad de Madrid.

RUBIANO, H., LAGUNA, C., ZAPATA, W., MARÍN, C. 2005. Estudio Sobre las Posibilidades de Aplicación de la Fotocatálisis Heterogénea a los Procesos de Remoción de Fenoles en Medio Acuoso. *Gestión y Ambiente*, V8 # 1 (05) p 105 – 121. Universidad Nacional de Colombia. Medellín – Colombia.

SCAPIN, F. (2003). Técnicas Citogenéticas. Porto Alegre. Editora Artmed, 2ª edición.

SILES, J.A., GARCIA-GARCIA, I., MARTIN, A., MARTIN M.A. 2011. Integrated Ozonation and Biomethanization Treatments of Vinasse Derived from Etanol Manufacturing. *Jornal of Hazardous Materials* 188 (11) 247 – 253.

SINGER, P.C., GUROL, M.D. 1983. Dynamics of the Ozonation of Phenol. *Experimental Observations. Wat. Res.*, Vol.17, No. 9: 1163-1171.

SINGH, R., SINGH, N. 2008. In Vitro Antioxidant Activity of Pet Ether Extract of Black Pepper. *Indian Journal of Pharmacology* 40(4): 147-151.

SZYMANSKI, S., BALBINOT, R. 2008. Utilização do Sistema de Biodigestão Anaeróbia para a Vinhaça: uma Revisão Sobre os Potenciais Energéticos e Créditos de Carbono. VI Semana de Estudos de Ingeniería Ambiental, Unicentro, Paraná/Brasil.

SZYMANSKI, S., BALBINOT, E., NAGEL, W. 2010. Biodigestão Anaeróbia da Vinhaça: Aproveitamento Energético do Biogás e Obtenção de Créditos de Carbono – Estudo de Caso. Seminário: Ciências Agrárias, Londrina, 31(4) 901-912.

TORRES, P., RODRÍGUEZ, J., CAJIGAS, A., VIDAL, A. 2002. La Actividad Metanogénica Como Herramienta para Optimización del Proceso Anaerobio en el Tratamiento de Aguas Residuales Fácilmente Acidificables. Trabajo Presentado en el Congreso Iberoamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, México.

VELASCO, R. 2004. La Biología Molecular y el ADN. Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agropecuarias. *Jornal Scienti* vol 2 N°1.04.

WIECHETECK, G., PEREIRA, F., TROFINO, J., DI BERNARDO, L. 2004. Estudo da Pré-Oxidação com Ozônio, Peróxido de Hidrogênio, Peroxônio e Dupla Filtração na Remoção de Substâncias Húmicas. Universidade Estadual de Ponta Grossa. PR/Brasil.

ZOLIN, C., JANAINÁ, P., PAULINO, J., BERTONHA, A., FREITAS, P., FOLEGATTI, M. 2011. Estudo Exploratório do Uso da Vinhaça ao Longo do Tempo. I. Características do Solo. *Water*, (19), 22-28.

ANEXOS

ANEXO A. Medio de Cultivo para Prueba de Biodegradabilidad en Anaerobios

Para 1000 mL

Solución mineral de Balch sin sulfatos	50 mL
Solución oligoelementos sin sulfatos	10 mL
K ₂ HPO ₄	3 g
Solución de resazurina (0.1%)	1.0 mL

Se completa volumen a 1 litro, se ajusta pH a 7.0 con NaOH 1N, agregar 10% en volumen de agua destilada, hervir hasta llegar al volumen inicial y enfriar bajo atmosfera de nitrógeno.

Cuando esté a temperatura ambiente agregar:

NaHCO ₃	2 g
Cisteína	0.5 g

Dosificar bajo corriente de nitrógeno. Se debe gasear con N₂ el recipiente antes de servir el medio de cultivo. Servir 13 mL en botellas de 60 mL, hacer intercambio de fase N₂ – CO₂ (80% - 20%) durante un minuto, debe retirarse primero la aguja con la cual se está gaseando para evitar una sobrepresión. Llevar a autoclave durante 15 minutos (121°C – 15 PSI) antes de utilizar agregar:

Na ₂ S (2%)	0.2 mL
solución de Vitaminas	0.2 mL

Tabla 26. Composición de la Solución de vitaminas

Nombre	mg L ⁻¹
Biotina (vit. H)	2
Acido para amino benzóico	0.5
Cianocobalamina	0.1
Tiamina HCl (vit. B1)	5
Pantotenato de calcio	5
Acido nicotínico	5
Piridoxina HCl (vit B6)	10
Acido fólico	2
Rivoflavina	5
Acido lipóico	5

La solución de vitaminas fue aplicada para reactivar los inóculos y que éstos resistieran la carga orgánica aplicada (se adicionó 0.4 mL por reactor).

ANEXO B. Resultados de la Producción de Metano por Cromatografía de Gases

Tabla 27. Presión en mbar en los reactores durante los días del experimento.

sustrato	reactor	día 16	día 20	día 24	día 28	día 32	día 36	día 40
V. Cruda	2	274	394	442	474	487	499	507
V. Cruda	8	331	497	508	515	539	551	567
V. Cruda	4	529	532	549	562	582	603	610
AGV	13	715	758	787	829	846	862	864
AGV	14	652	696	725	762	794	802	810
AGV	12	686	725	732	719	790	812	815
Lodo	21	148	187	202	217	219	223	230
Lodo	17	94	129	148	164	186	208	216
Lodo	19	125	193	208	146	219	237	236
control AGV	24	244	277	284	296	288	223	324
control V.cruda	25	369	415	429	413	424	433	418

V. cruda: vinaza sin tratamiento ni dilución

AGV: ácidos grasos volátiles

Lodo: inóculo empleado

Tabla 28. Valor de Metano reportado por el cromatógrafo en ppmv durante los días del experimento.

sustrato	reactor	día 16	día 20	día 24	día 28	día 32	día 36	día 40
V. Cruda	2	0	174,3306	288,4294	313,5202	333,2441	375,0035	373,4834
V. Cruda	8	0	225,9111	323,0451	326,5969	359,7608	376,7608	382,2438
V. Cruda	4	0	319,5121	332,9018	343,6439	368,9892	402,8154	409,5028
AGV	13	0	362,4023	388,9734	442,1204	476,3753	546,8076	548,0511
AGV	14	0	378,7115	427,9469	455,2408	472,1678	537,4023	558,3733
AGV	12	0	337,4231	365,7612	427,0247	459,3385	486,3356	506,7466
Lodo	21	0	30,1923	30,2296	31,1452	32,2293	33,5231	33,7281
Lodo	17	0	50,8187	51,3744	51,9385	53,0007	53,7492	54,5114
Lodo	19	0	48,7526	53,1973	55,4804	56,1538	58,9796	60,1486
control AGV	24	0	0	0	0	0	0	0
control V. cruda	25	0	0	0	0	0	0	0

$$PV = nRT \longrightarrow \frac{\mu\text{mol}}{\text{m}^3} = \text{ppmv} * \left(\frac{\text{Presión}}{1,013} \right) * \frac{1000}{R * \frac{T_{std}}{T_{30}}} * \frac{\text{Vol efectivo}}{1000}$$

T 30°C = 303.15 °K

T estándar = 273.15 °K

R = 0.082

Volumen efectivo = 0,00025 m³

Tabla 29. Valor de la producción de Metano en μmol

sustrato	reactor	día 16	día 20	día 24	día 28	día 32	día 36	día 40
V. Cruda	2	0	229,426	425,829	496,383	542,081	625,042	632,488
V. Cruda	8	0	375,031	548,151	561,814	647,703	693,410	723,930
V. Cruda	4	0	567,769	610,466	645,087	717,315	811,328	834,372
AGV	13	0	917,557	1022,510	1224,245	1346,148	1574,399	1581,641
AGV	14	0	880,422	1036,337	1158,695	1252,247	1439,617	1510,716
AGV	12	0	817,120	894,297	1025,546	1212,085	1319,062	1379,499
Lodo	21	0	18,859	20,397	22,575	23,576	24,970	25,912
Lodo	17	0	21,897	25,397	28,452	32,928	37,343	39,329
Lodo	19	0	31,429	36,959	27,056	41,077	46,690	47,414
control AGV	24	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
control V. cruda	25	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

1 mol de gas ideal ocupa 22.4 L CNPT \longrightarrow $CH_4 \text{ (mL)} = (\mu\text{mol} * 22,4 \text{ L}) * 1000$

Tabla 30. Valores de la producción de Metano en mL

sustrato	reactor	día 16	día 20	día 24	día 28	día 32	día 36	día 40
V. Cruda	2	0	5,139	9,539	11,119	12,143	14,001	14,168
V. Cruda	8	0	8,401	12,279	12,585	14,509	15,532	16,216
V. Cruda	4	0	12,718	13,674	14,450	16,068	18,174	18,690
AGV	13	0	20,553	22,904	27,423	30,154	35,267	35,429
AGV	14	0	19,721	23,214	25,955	28,050	32,247	33,840
AGV	12	0	18,303	20,032	22,972	27,151	29,547	30,901
Lodo	21	0	0,422	0,457	0,506	0,528	0,559	0,580
Lodo	17	0	0,490	0,569	0,637	0,738	0,836	0,881
Lodo	19	0	0,704	0,828	0,606	0,920	1,046	1,062
control AGV	24	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
control V. cruda	25	0	0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

ANEXO C. Resultados de la Producción de Metano por Desplazamiento

Cálculo del Aumento Observado de la Actividad del Lodo (IOAA)

$$IOAA = \frac{(AME_2 - AME_1)}{AME_1}$$

AME₁ = actividad metanogénica específica del lodo medida durante la primera alimentación (0.361 g DQO_{CH4} . g SSV . d)

AME₂ = actividad metanogénica específica del lodo medida durante la segunda alimentación (0,952 g DQO_{CH4} . g SSV . d)

$$IOAA = 1,64$$

IOAA > 2 * ITEAA, la actividad de la segunda alimentación es equivalente a la actividad del lodo

IOAA < 2 * ITEAA, la actividad de la primera alimentación es equivalente a la actividad del lodo

Cálculo del Aumento Teórico de la Actividad del Lodo (ITEAA)

$$ITEAA = \frac{(0.02 * DQO_{AGV} * 3.0)}{(SSV * AME_1)}$$

Donde

0.02 = producción celular metano – bacterias (gSSV/gDQO)

DQO_{AGV} = Concentración del sustrato empleado en la primera alimentación (g DQO. L⁻¹)

3.0 = Actividad celular de las metano – bacterias puras (g DQO_{CH4}/ g SSV * d)

SSV = Concentración del Lodo en el ensayo (g SSV. L⁻¹)

AME₁ = actividad metanogénica específica del lodo medida durante la primera alimentación (g DQO_{CH4} . g SSV . d)

$$ITEAA = \frac{(0.02 * 4 * 3.0)}{(1.5 * 0.361)} * 2 = 0,886$$

El valor de IOAA es mayor que 2 * ITEAA por lo tanto la actividad de la segunda alimentación es equivalente a la actividad del lodo.

Tabla 31. Volumen de metano desplazado acumulado en mL de CH₄ reportado.

sustrato	reactor	día 16	día 20	día 24	día 28	día 32	día 36	día 40
V. Cruda	1	160,6	220,6	290,6	343	375,6	403,5	439,3
V. Cruda	9	309,2	406,4	477,6	552,5	612	660,7	724,5
V. Cruda	5	179,1	234	297,8	338,2	374	401,5	434,5
AGV	11	168,7	230	328,6	412,5	484	535,3	628,8
AGV	15	208,7	397,5	440,9	655,4	706,8	738,9	872
AGV	10	274,9	355,3	417,6	568,2	627	654,1	679,6
Lodo	18	48,3	62,9	71,4	77,4	81,2	82,9	82,9
Lodo	20	53,9	68,8	77,1	83,8	87,5	88	88
Lodo	16	42	55,8	63,6	70,3	74,1	74,6	74,6
control AGV	26	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
control V.cruda	27	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1

$$mL \text{ de } CH_4 = \frac{Vol \text{ de } CH_4 \text{ reportado. } d * \frac{24h}{1d}}{Fc * Presión}$$

Fc: factor de conversión de g de DQO a mL de CH₄

Presión corregida a elevaciones mayores de 760 mmHg.

Tabla 32. Variación de la presión atmosférica de acuerdo a la altura sobre el nivel del mar

Metros	Atm	Pa	hPa-mb	kPa	Bar	kg/cm2	In Hg	Mm Hg
-200	1.02	103,751	1,037.5	103.8	1.04	1.05	30.6	778
0	1.00	101,325	1,013.3	101.3	1.01	1.03	29.9	760
200	0.98	98,945	989.5	98.9	0.99	1.01	29.2	742
400	0.95	96,611	966.1	96.6	0.97	0.98	28.5	725
600	0.93	94,322	943.2	94.3	0.94	0.96	27.8	707
800	0.91	92,076	920.8	92.1	0.92	0.94	27.2	691
1000	0.89	89,875	898.7	89.9	0.90	0.91	26.5	674
1200	0.87	87,716	877.2	87.7	0.88	0.89	25.9	658
1400	0.84	85,599	856.0	85.6	0.86	0.87	25.3	642
1600	0.82	83,524	835.2	83.5	0.84	0.85	24.6	626
1800	0.80	81,489	814.9	81.5	0.81	0.83	24.0	611
2000	0.78	79,495	795.0	79.5	0.79	0.81	23.5	596
2200	0.77	77,541	775.4	77.5	0.78	0.79	22.9	582
2400	0.75	75,626	756.3	75.6	0.76	0.77	22.3	567
2600	0.73	73,749	737.5	73.7	0.74	0.75	21.8	553
2800	0.71	71,910	719.1	71.9	0.72	0.73	21.2	539
3000	0.69	70,109	701.1	70.1	0.70	0.71	20.7	526
3200	0.67	68,344	683.4	68.3	0.68	0.69	20.2	513
3400	0.66	66,615	666.2	66.6	0.67	0.68	19.7	500
3600	0.64	64,922	649.2	64.9	0.65	0.66	19.2	487
3800	0.62	63,264	632.6	63.3	0.63	0.64	18.7	475

Fuente: Atmospheric Calculator (www.newbyte.co.il)

Tabla 33. Factores de conversión para el cálculo del contenido de DQO a gas metano

Temperatura °C	Fc (1 g DQO L ⁻¹ igual a mL de CH ₄ reportado)
10	363
15	369
20	376
25	382
30	388
35	395
40	401
45	408
50	414

Fuente: Field et al, 1992

Tabla 34. Valores de la producción de metano en mL

sustrato	reactor	día 16	día 20	día 24	día 28	día 32	día 36	día 40
V. Cruda	1	8,810	12,101	15,941	18,816	20,604	22,134	24,098
V. Cruda	9	16,962	22,294	26,199	30,308	33,572	36,244	39,743
V. Cruda	5	9,825	12,836	16,336	18,552	20,516	22,025	23,835
AGV	11	9,254	12,617	18,026	22,628	26,550	29,365	34,494
AGV	15	11,448	21,805	24,186	35,953	38,772	40,533	47,835
AGV	10	15,080	19,490	22,908	31,169	34,395	35,881	37,280
Lodo	18	2,650	3,450	3,917	4,246	4,454	4,548	4,548
Lodo	20	2,957	3,774	4,229	4,597	4,800	4,827	4,827
Lodo	16	2,304	3,061	3,489	3,856	4,065	4,092	4,092
control AGV	26	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406	0,406
control V.cruda	27	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115	0,115

ANEXO D. Análisis del Gas Contenido en la Trampa de NaOH Mediante Cromatografía de Gases.

Al final del ensayo (día 40) de la trampa de NaOH de cada reactor empleado en el método por desplazamiento se tomó una muestra y se analizó mediante cromatografía de gases, con el fin de evaluar si el gas atrapado en la trampa era en su totalidad metano. Debido a la diferencia entre los valores obtenidos (ver tabla 34), se concluye que el gas retenido puede contener otro tipo de gases generados en la digestión anaerobia de la vinaza que tienden a acumularse en la trampa de NaOH.

Tabla 35. Valor promedio de la producción de metano (40 días) reportada por el método desplazamiento comparado con el análisis del gas contenido en la trampa de NaOH mediante cromatografía.

Sustrato	CH ₄ desplazamiento	CH ₄ cromatografía de gases
Vinaza cruda	29,23	17,93
AGV	39,87	34,31
Lodo	4,49	3,705

ANEXO E. Ozonización de Solución Pura de Fenol.

Con el fin de evaluar la velocidad de reacción entre el ozono y el fenol, se ozonizó una solución pura de fenol (1000 – 600 – 200 mg.L⁻¹ ácido gálico) a 50 mg.L⁻¹ de concentración de ozono y tiempo de aplicación 7 – 15 – 30 minutos (condiciones iguales de ozonización de la vinaza), en promedio porcentaje de remoción del fenol en la solución fue de 56% a 7 minutos, 73% a 15 minutos y 89% a 30 minutos de reacción. Los resultados se presentan en las siguientes tablas (ver tablas 35 – 36 – 37).

Tabla 36. Variación del contenido d fenol en una solución pura de aproximadamente 1000 ppm

Tiempo de aplicación O ₃ (min)	0	7	15	30
Concentración de fenol (mg.L ⁻¹ ácido gálico)	976	369	281	102

Tabla 37. Variación del contenido d fenol en una solución pura de aproximadamente 600 ppm

Tiempo de aplicación O ₃ (min)	0	7	15	30
Concentración de fenol (mg.L ⁻¹ ácido gálico)	590	366	206	66

Tabla 38. Variación del contenido d fenol en una solución pura de aproximadamente 200 ppm

Tiempo de aplicación O ₃ (min)	0	7	15	30
Concentración de fenol (mg.L ⁻¹ ácido gálico)	227	74	41	36

ANEXO F. PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE FENOLES EN UNA MUESTRA DE VINAZA (MODIFICADO DEL PROCEDIMIENTO 5530 STANDARD METHODS)

Principio: Los compuestos fenólicos destilados reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu a pH básico dando lugar a una coloración azul susceptible de una determinación espectrofotométrica a 750 nm.

Materiales y equipos:

Equipo de destilación: manta de calentamiento, beaker 100 mL, columna de destilación, condensador, termómetro.

Balón aforado 500 mL
Perlas de ebullición
Tubos de ensayo
Espectrofotómetro
pH metro

Procedimiento:

1. Ajustar el pH de la muestra a 8 – 9
2. a un balón aforado de 500 mL adicionar 25 piedras de ebullición y 50 mL de vinaza sin diluir.
3. disponer el balón sobre una manta de calentamiento a 100°C
4. permita que la vinaza alcance el punto de ebullición, descarte los 10 primeros mililitros de destilado.
5. Tome 500 μ L del destilado y deposítelos en un tubo de ensayo de 10 mL
6. Agregue en el tubo de ensayo que contiene el destilado 500 μ L del reactivo Folin Ciocalteau, 1.5 mL de CaCO_3 al 20% y 2.5 mL de agua MilliQ
7. Dejar reaccionar durante 2 horas
8. Analizar la absorbancia de la muestra por espectrofotometría a 765 nm.