

Comparación de Dos Métodos de Medición de Actividad Metanogénica Específica en Reactores Anaerobios Aplicados al Tratamiento de Vinazas.

Comparison of Specific Methanogenic Activity Measurement Methods in Anaerobic Reactors on the treatment of vinasse.

Janeth Sanabria¹, María Fernanda Durán² y Nelson Gutiérrez³

Resumen

Se compararon los métodos de desplazamiento de líquido y cromatografía de gases para evaluar Actividad Metanogénica Específica (AME) cuantificando la producción de metano durante 40 días empleando como sustrato vinaza cruda. Los resultados obtenidos indican que el volumen de CH₄ (mL · gDQO L⁻¹) reportado por el método desplazamiento es mayor con respecto al volumen de metano reportado por el método cromatográfico, no obstante, el análisis estadístico aplicado indicó que no se presentaron diferencias significativas (p>0,05) entre los dos métodos de cuantificación de producción de metano evaluados cuando el sustrato empleado es vinaza cruda.

Palabras clave: Actividad Metanogénica Específica; desplazamiento de líquido; cromatografía de gases; producción de metano.

Abstract

The purpose of this study was to carry out tests of displacement of liquid and gas chromatography for the evaluation of the specific methanogenic activity, quantifying the methane production during 40 days using as raw vinasse substrate. The results show that the amount of CH₄ (mL · gDQO L⁻¹) reported by the displacement method is greater with respect to the volume of methane reported by chromatographic method, however, the statistical analysis did not show differences between them (p>0,05).

Keywords: specific methanogenic activity; displacement of liquid; gas chromatography; methane production.

¹ Microbióloga PhD. Docente Universidad del Valle. Cali, Colombia. Calle 13 No 100-00 - janeth.sanabria@correounivalle.edu.co

² Ingeniero Agrícola, Universidad Surcolombiana. Neiva, Colombia Av Pastrana Carrera 1ª - fernandaduram@gmail.com

³ Ingeniero Agrícola PhD. Docente Universidad Surcolombiana. Neiva, Colombia Av Pastrana Carrera 1ª - ngutierrezg@usco.edu.co

1. Introducción

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 (DBO₅), 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).

Una propuesta reciente para tratamientos de efluentes industriales y domésticos considera un reactor anaerobio como unidad principal de depuración; estos tratamientos han sido responsables por el cambio en las condiciones de control y contaminación industrial, pues son tecnologías de bajo costo económico y energético (Anzola et al, 2008) y generan metano como una adición de gran valor (Chemicharo, 2007).

La razón de evaluar la actividad microbiana dentro de la operación de los reactores anaerobios es que de ella depende la degradación de la materia orgánica del residuo. El ensayo de Actividad Metanogénica Específica consiste en evaluar la capacidad de los microorganismos metanogénicos para convertir substrato orgánico en CH₄ y CO₂ (Anzola et al, 2008). Algunos métodos utilizados para la medición de la producción de metano en el ensayo de AME son desplazamiento de líquido, cromatografía gaseosa y respirometría (Chemicharo, 1997 citado por Riberio, 2007).

El método volumétrico o por desplazamiento de líquido 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 además del método volumétrico el método manométrico o cromatografía gaseosa fue objeto de evaluación para medir la producción de metano a partir de vinazas.

2. Materiales y Métodos

2.1. Localización

El estudio se realizó en el laboratorio de Microbiología Ambiental del Programa Ingeniería Sanitaria y Ambiental de la Universidad del Valle, Santiago de Cali – Colombia.

2.2. Descripción del experimento

Para esta investigación se emplearon vinazas del ingenio Mayagüez ubicado en la terraza media del valle geográfico del río Cauca en el municipio de Candelaria – Valle del Cauca, provenientes del proceso de destilación en la producción de alcohol carburante generado a partir de caña de azúcar, como materia prima para la obtención de biogás. Se realizó una mezcla de Ácidos Grasos Volátiles (AGV) en relación 73:23:4 (ácido acético – ácido propiónico – ácido butírico) con el fin de simular el contenido orgánico del agua residual doméstica la cual fue empleada como control dada la amplia experiencia en AME con este residuo. el inóculo empleado proviene del reactor UASB de la planta de tratamiento de agua residual de la central de sacrificio animal de CAVASA S.A ubicado en el municipio de Candelaria - Valle del Cauca, el efluente tratado en esta planta presenta alto contenido de sangre bovina, por lo tanto es rico en proteínas (Gil, 2011).

2.2.1. Caracterización de la vinaza

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).

2.2.2. Comparación de los métodos de medición de producción de metano

Los ensayos de comparación de los métodos de medición de producción de metano a partir de vinazas se realizaron en condiciones de operación exactamente iguales tanto para el método por desplazamiento como por cromatografía (Tabla 1).

Tabla 1. Condición de operación de los reactores en la etapa de comparación.

Método	Cromatografía	Desplazamiento
Sustrato	Vinaza cruda	Vinaza cruda
Nutrientes	-	-
Control*	AGV	AGV
Volumen efectivo (mL)	250	250
Temperatura ($\pm 2^\circ\text{C}$)	30	30
Concentración inóculo (g SSVL-1)	1,5	1,5
Concentración del sustrato (g DQO.L-1)	4	4

*Para AGV el método utiliza nutrientes

En la tabla 2 se presenta la nomenclatura del sustrato empleada para los dos métodos. Se instalaron 10 reactores por triplicado para llevar a cabo el ensayo de AME, 15 por cada método. El ensayo de Actividad Metanogénica Específica 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 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 (POE, 2008).

Tabla 2. Descripción de tratamientos Nomenclatura del sustrato

Sustrato	Nomenclatura
Vinaza cruda + inóculo	Vc+In
AGV + inóculo	AGV+In
Inóculo	In
Vinaza cruda	Vc
AGV	AGV

Método por desplazamiento de líquido:

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 0.64 cm, la trampa tuvo adherida una aguja hipodérmica de 2.54 cm para permitir la salida del NaOH (figura 1).

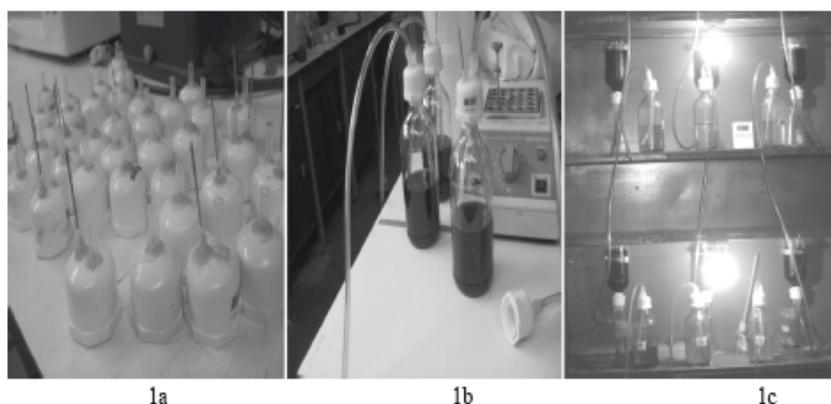


Fig. 1. Sistema de reactores método por desplazamiento. (a). tapones plásticos recubiertos con tapas de PVC. (b). trampas de NaOH. (c). funcionamiento del sistema.

Método por cromatografía gaseosa

El material empleado para los reactores incluye botellas de suero de 500 mL las cuales están selladas con tapa rosca y septo de caucho (figura 2). 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 (Chemicharo, 1997 citado por Riberio, 2007).



Fig. 2. Reactores método cromatografía gaseosa

El sistema completo del método por desplazamiento y por cromatografía de gases se observa en la figura 3.

La mayoría de los digestores anaerobios operan entre 30 – 35°C porque la formación de metano a 20°C es baja (Diaz-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 ± 1°C.



Fig. 3. Condición de operación de los reactores método por desplazamiento y por cromatografía gaseosa.

2.3. Análisis estadístico

Para procesar los resultados del ensayo de Actividad Metanogénica Específica mediante cromatografía de gases y por desplazamiento de líquido, se realizó una prueba 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 la prueba de Levene.

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización del sustrato

En la tabla 3 se observan las características fisicoquímicas de la vinaza empleada en los ensayos realizados en este trabajo proveniente del ingenio Mayagüez, Candelaria - Colombia.

Tabla 3. Caracterización fisicoquímica de la vinaza (Ingenio Mayagüez, Candelaria - Colombia)

Parámetro	Unidades	Medida
DQO	mg L ⁻¹	288,787
DBO ^s	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 DBO^s/DQO: 0,33, las diferencias entre el contenido de DQO y DBO^s 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:

$$0.88 \text{ g NL}^{-1} = 5 \text{ partes de Nitrógeno en el reactor}$$

$$61.6 \text{ g CL}^{-1} = 350 \text{ partes Carbono en el reactor}$$

$$0.195 \text{ g PL}^{-1} = 1 \text{ partes Fosforo en el reactor}$$

$$67.9 \text{ g CL}^{-1} = 350 \text{ partes Carbono en el reactor}$$

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.

3.2. Comparación de los Métodos de Medición de Producción de Metano

La siguiente figura (figura 4) presenta el resultado en mL . gDQO L⁻¹ de metano producido en el ensayo de actividad metanogénica de vinazas crudas durante 40 días mediante los métodos cromatografía de gases y desplazamiento de líquido.

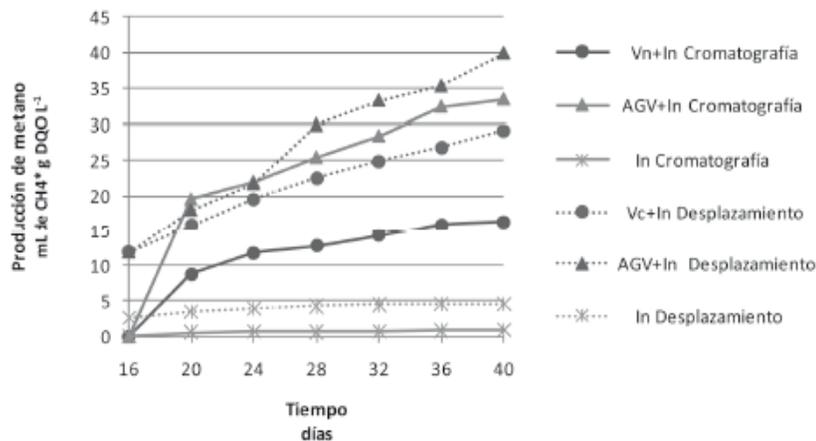


Fig. 4. Producción de CH₄ por cromatografía y desplazamiento a partir de vinaza cruda, AGV e inóculo

Como se observa en la figura 4, la producción de metano obtenido a partir de vinaza cruda tanto por el método por desplazamiento de líquido como por cromatografía gaseosa, es menor que el producido por los Ácidos Grasos Volátiles (aproximadamente 27 mL . gDQO L⁻¹ de CH₄ menos en cromatografía y 10 mL . gDQO L⁻¹ de CH₄ menos en desplazamiento); esto se debe a que los ácidos grasos volátiles con bajo número de carbonos (ácido acético, propiónico y butírico) son fácilmente asimilados por bacterias acetogénicas transformándolos a acetato, hidrógeno y dióxido de carbono, productos de fermentación que dan lugar a una eficiente metanogénesis (Díaz-Báez, 2002), por otro lado, la vinaza está compuesta por elementos inhibidores del crecimiento microbiano lo que hace de ésta un sustrato de difícil digestión, reflejándose en la capacidad de los microorganismos metanogénicos en convertir la vinaza en CH₄. Los valores de biodegradabilidad son 1,7 y 0,33 para los AGV y la vinaza respectivamente.

Los resultados obtenidos en el ensayo de AME para vinaza cruda muestran que el volumen de CH₄ (mL . gDQO L⁻¹) reportado por el método desplazamiento de líquido es mayor con respecto al volumen de metano reportado por el método cromatografía gaseosa, esto puede deberse a la presencia de gases como N₂, H₂S, NH₃ en el biogás resultante de la digestión anaerobia 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 (tabla 4).

Tabla 4. 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 (mL * g DQO L ⁻¹)	CH ₄ cromatografía de gases (mL * g DQO L ⁻¹)
Vinaza cruda	29,23	17,93
AGV	39,87	34,31
Inóculo	4,49	3,705

Como se mencionó anteriormente, el inóculo empleado en los ensayos es rico en proteína, lo que puede explicar el hecho de la producción de metano en los reactores que contienen solo el inóculo, ya que ésta materia orgánica pudo ser asimilada por los microorganismos hidrolíticos e inducir 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 mL . gDQO L⁻¹ de CH₄ para la vinaza cruda y de 0.12 para los AGV (Figura 5) 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.

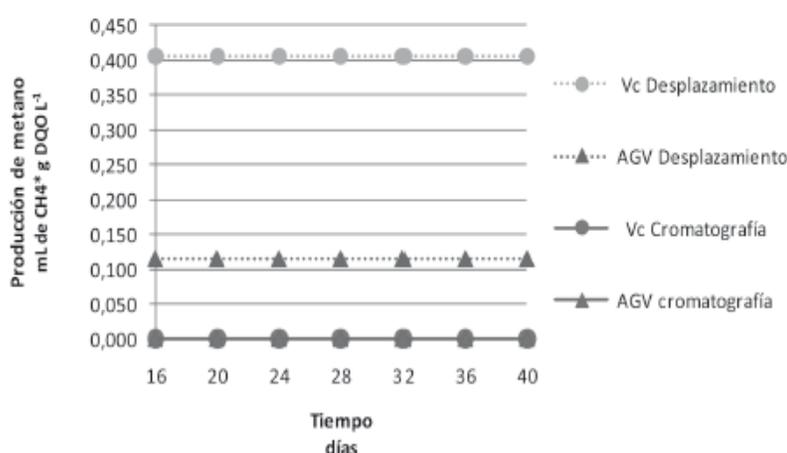


Fig. 5. Producción de CH₄ por cromatografía y desplazamiento a partir de los controles vinaza cruda y AGV sin inóculo

3.2.1. Análisis estadístico

En la tabla 5 se presenta el resumen de la producción de metano obtenida en los ensayos de Actividad Metanogénica Específica realizados mediante los métodos de medición cromatografía gaseosa y desplazamiento de líquido. En la tabla se presentan las medias y desviaciones estándar y el valor de p para cada caso, basados en la lectura final (40 días).

La tabla 5 muestra que los valores de p para los sustratos vinaza cruda y AGV (73:23:4) medidos por cromatografía de gases y por desplazamiento de líquido 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 cuando el sustrato evaluado es vinaza cruda.

La producción de metano reportada para el inóculo (inóculo control) por el método desplazamiento de líquido es cuatro veces superior al promedio reportado por cromatografía, por lo que el análisis estadístico indica que si existe diferencia ($p < 0,05$) entre las mediciones reportadas por los dos métodos para este caso.

Tabla 5. Resumen de la producción de metano (mL . gDQO L⁻¹) medido por los métodos desplazamiento y cromatografía de gases.

Sustrato	Método		P
	Cromatografía	Desplazamiento	
Vinaza Cruda	16,36 ± 2,26a	29,23 ± 9,11a	0,144
AGV	33,39 ± 2,30 a	39,87 ± 7,04 a	0,272
Inóculo	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 ($p < 0,05$)

4. Conclusiones

Para vinazas, la producción máxima de metano (40 días) fue 29,23 mL . gDQO L⁻¹ reportada mediante el método por desplazamiento frente a 16,36 mL . gDQO L⁻¹ de metano obtenido por el método cromatográfico.

El análisis estadístico indica que los métodos desplazamiento de líquido y cromatografía de gases no presentan diferencias representativas ($p > 0,05$) en cuanto a la cuantificación de la producción de metano cuando el sustrato es vinaza cruda.

Los resultados obtenidos en el ensayo de AME para vinaza cruda muestran que el volumen de CH₄ (mL . gDQO L⁻¹) reportado por el método desplazamiento de líquido es mayor con respecto al volumen de metano reportado por el método cromatografía de gases, esto puede deberse a la presencia de gases como N₂, H₂S, NH₃ en el biogás resultante de la digestión anaerobia 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 del metano producido.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al grupo de investigación GAOX y la Universidad del Valle, por la financiación y facilitar la realización de este estudio.

5. Referencias Bibliográficas

1. Anzola, M.P., Oliveira, A., Zaiat, M. 2008. Atividade Metanogénica Específica em um Reator Anaeróbio-Aeróbio Aplicado ao Tratamento de Água Residual Doméstica. Revista Interciencia. Vol. 33 N°4. pp 284 – 289.
2. APHA. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21st ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
3. ASOCAÑA. 2010. Sector Azucarero Colombiano: Informe Anual de Mercados. Área Económica.

4. ASOCAÑA. 2011. Sector Azucarero Colombiano: Informe Anual de Mercados. Área Económica.
5. 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.
6. Chemicharo, C. A. 2007. Principios do Tratamento Biológico de Águas Residuárias. Reactores anaeróbios, Universidade Federal de Minas Gerais., Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. Brasil.
7. Díaz-Báez, C., Espitia, E., Molina, F. 2002. Digestión Anaerobia, una Aproximación a la Tecnología. Instituto de Biotecnología Universidad Nacional de Colombia.
8. 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.
9. Hsieh, C.F. 2009. Toxicidad Metanogénica de Purín de Cerdo Mediante Ensayos Discontinuos. Tesis de grado. Facultad de Ingeniería, Universidad de la Serena, Chile.
10. Pistonesi, C., Haure, JI., 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.
11. 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>>
12. 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.
13. 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. *Jornal Water*, (19), pp 22-28.