

UNIVERSIDAD DE BURGOS



“TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE RESIDUOS  
SEMISOLIDOS Y EFLUENTES LÍQUIDOS DE LA  
INDUSTRIA DEL PROCESADO DEL LIMÓN”

TESIS DOCTORAL

Walter Daniel Machado López

Bioquímico

DIRECTOR

Dr. Luis Alberto Núñez Recio

BURGOS - 2015

*Caminante, son tus huellas  
el camino y nada más;  
caminante, no hay camino,  
se hace camino al andar.*

*Al andar se hace camino  
y al volver la vista atrás  
se ve la senda que nunca  
se ha de volver a pisar.*

*Caminante no hay camino  
sino estelas en la mar...*

*Antonio Machado*

## AGRADECIMIENTOS

Ocuparía frondosos volúmenes citar a las personas e instituciones que contribuyeron a mi formación y que, directa o indirectamente, me orientaron en el camino por el que arribé al final de esta tesis.

Por ello me permitiré la licencia de nombrar solo unos pocos, no sin antes demandar el perdón de aquellos que no mencionare y que con justa razón merecerían aparecer aquí.

Primero a DIOS, que con frecuencia me recuerda que debo ser humilde si deseo seguir aprendiendo y que un título no me eleva por encima de nadie.

A mi madre Fanny, que con tanta sabiduría y amor me enseñó a caminar en la vida. ¡Ojalá pudiera devolverle una pizca de lo que me dio!

A mi abuela Nelly y a mi papá, Ramón: ¡Mi corazón se inflama de gratitud!

A mi mujer y mi hija del corazón, Marta y Paulita, quienes día a día me impulsan a ser mejor persona.

A mi hermana Fabiana, por el inexplicable orgullo que siente por mí.

A la EEAOC y todos los amigos y compañeros de camino que me proveyó.

A Vicente Trapani S.A., donde conocí los encantos del limón y de su gente.

A Citromax SACI, Citrusvil S.A., S.A. San Miguel, Litoral Citrus S.A. y COTA LTDA, empresas donde, además de aportarme innumerables conocimientos y datos, me permitieron cultivar amistades que siempre me acompañarán.

A la Universidad de Burgos, por brindarme la posibilidad de transitar este doctorado en el cual adquirí competencias y recursos de todo tipo.

A mi tutor Luis Alberto, por su paciencia y buen talante, que me condujo con serenidad a la meta.

## RESUMEN

El presente trabajo abordó diferentes caminos para realizar el tratamiento biológico de los residuos de la industria del procesado del limón, tanto los de naturaleza semisólida como los líquidos.

En primer lugar se estudió el proceso de compostaje de los residuos constituidos por restos de pulpa, cáscara, limones descartados y restos de poda que ingresan a la línea de procesado, incorporando cachaza (un residuo de la industrialización de la caña de azúcar), a los efectos de mejorar la relación C/N de partida y su textura.

Se armó una pila, denominada K, con 50% de cachaza, 50% de pulpa y cáscara. Una segunda pila, llamada H, con 25% de pulpa y cáscara, 25% de limones de descarte y restos de poda, y 50% de cachaza y una tercera pila, P, con 100% de pulpa y cáscara.

La pila P no llegó a ingresar en la etapa termófila de este proceso, afectada, hipotéticamente, por su alta relación C/N, bajo valores de pH y una textura inadecuada para el intercambio gaseoso necesario en el proceso de aereación. Por esta razón, la fermentación que sufrió no se considera técnicamente como un proceso de compostaje.

Sin embargo, las otras dos pilas transcurrieron por todas las etapas teóricas del proceso, arribando a un producto final apto para determinados usos agronómicos, confirmado por su relación C/N final, del orden de 11, con un pH cercano a la neutralidad (7,1 y 7,6 para las pilas K y H, respectivamente), libres de nematodos patógenos y de *Phytophthora*.

Posteriormente se estudió la biodegradabilidad anaerobia de los residuos compuestos fundamentalmente por restos de pulpa y cáscara, empleando reactores de mezcla completa o CSTR (Complete Stirring Tank Reactor). Previamente, se analizaron lodos anaeróbicos recolectados de diferentes orígenes, para seleccionar aquel de mayor actividad metanogénica específica (AME), que estuvo en torno a los 0,17 gDQO/gSSV.d.

En una primera instancia se emplearon digestores de 20 litros para llevar a cabo la digestión anaeróbica separada de la pulpa y de la cáscara, a una temperatura de entre 32°C y 35°C. Se arribó a una velocidad de carga orgánica (VCO) cercana a 2 gDQO/l.d, obteniéndose un abatimiento de la demanda química de oxígeno (DQO) del orden del 85% para ambos casos. Al trabajar en VCO igual a 2 gDQO/l.d, se obtuvieron volúmenes de biogás del orden de los 17 litros diarios, con un 65% de metano.

Seguidamente, se repitió la experiencia a mayor escala, para lo cual se usó un reactor tipo CSTR de 1000 litros, con operaciones de recirculación de lodos, y el sustrato estuvo

constituido por una mezcla de pulpa y cáscara, termostatzado a 35°C. Se consiguió abatir un 82% de la carga orgánica y tener una reducción del 75% de los sólidos totales (ST), trabajando a una VCO de 2 gDQO/l.d.

En la siguiente etapa se estudió la biodegradabilidad anaeróbica de los efluentes líquidos resultantes de la industrialización del limón, empleando un reactor anaeróbico tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) de escala piloto, de 30 litros de capacidad. Se trabajó a una temperatura de 32°C, con 12 litros de inóculo granular. La DQO del efluente mantuvo un rango de 8,0 g/l a 15 g/l y un pH entre 4,4 y 5,8. Se arrancó a una velocidad de 2 kg DQO/m<sup>3</sup>.día y se arribó, al final de la experiencia, a una VCO de casi 8 kg DQO/m<sup>3</sup>.día con velocidades ascensionales del orden de 1,3 m/h. Hubo eficiencias de remoción cercanas al 94%, aunque se redujo al 78% cuando el influente elevó su contenido de sólidos suspendidos.

También se experimentó el tratamiento de efluente cítrico con un montaje similar al anterior, pero partiendo de lodos anaeróbicos floculentos, velocidades ascensionales mínimas de 0,67 m/h y máximas de 0,92 m/h y un influente crudo con 9,0 a 15 g/l de DQO. El resultado fundamental que buscaba esta experiencia fue el de obtener gránulos anaerobios. Se detectaron formaciones granulares de 2 mm de diámetro a partir del tercer mes de trabajo.

Finalmente se elaboró un protocolo de arranque y operación de un reactor industrial tipo UASB, cargado con lodo floculento proveniente del tratamiento anaeróbico de una industria textil. En la parte final de este trabajo se muestran algunos de los datos de operación y funcionamiento del arranque de este reactor.

## ABSTRACT

This paper addressed different paths for the biological treatment of waste processing industry lemon, semisolid nature both as liquids.

First of all, the composting process of waste consisting of remains of pulp, peel, discarded lemons and pruning entering the processing line were studied, incorporating cachaza (a residue of the industrialization of sugar cane), for the purpose of improving the C/N starting and texture.

The “K” stack was assembled with 50% of cachaza, 50% of pulp and peel; “H” stack with 25% of pulp and peel, 25% of lemons culling and pruning , and 50% of cachaza; a “P” stack with 100% of pulp and peel.

The stack “P” did not enter the thermophilic stage of this process, affected, hypothetically, for its high C/N, low pH values and texture inadequate for the required gas exchange in the process of aeration. Therefore, the fermentation is not considered technically suffered as a composting process.

However, the other two stacks passed all the theoretical stages, arriving at a final product suitable for certain agronomic uses, confirmed by the final C/N ratio of the order of 11, with a pH close to neutral (7,1 and 7,6 K for K and H stacks, respectively), pathogen-free nematodes and *Phytophthora*.

Subsequently the anaerobic biodegradability of waste compounds mainly by remnants of pulp and peel was studied, using complete stirring tank reactors (CSTR). Previously, anaerobic sludge collected from different source were analyzed in order to choose the most specific methanogenic activity (SMA ), which was around 0,17 g COD/gVSS.d.

In the first instance 20 liter digester was used to perform anaerobic digestion separated from the pulp and peel at a temperature between 32°C and 35°C. It arrived at organic loading rate (OLR) near to 2 gCOD/l.d, resulting in a lowering of the chemical oxygen demand (COD) of around 85% for both cases. Working in OLR equal to 2 gCOD/l.d, biogas volumes on the order of 17 liters were obtained with 65% of methane.

Subsequently, the experience was repeated on a larger scale, for which a CSTR type reactor 1000 liter was used, with return sludge operations, and the substrate was composed of a mixture of pulp and peel, thermostated at 35°C. It managed to bring down 82% of the organic load and have a 75% of total solids (TS), working to a OLR 2 gCOD/l.d.

In the next stage anaerobic biodegradability of the liquid effluents lemon industrialization was studied using an anaerobic reactor UASB pilot scale of 30 liters. It is operated at a

temperature of 32°C, with 12 liters of granular inoculum. Effluent COD remained a range of 8.0 g/l to 15 g/l and a pH between 4,4 and 5,8. It was started at a rate of 2 kg COD/m<sup>3</sup>.d and arrived at the end of the experience, a VCO of almost 8 kg COD/m<sup>3</sup>.d with ascendant velocities of the order of 1,3 m/h. There was removal efficiencies approaching 94%, but dropped to 78% when the influent raised its suspended solids content.

Citric effluent treatment also experimented with a similar to the previous assembly, but from flocculent anaerobic sludge, minimum ascension speeds of 0,67 m/h and maximum of 0,92 m/h and raw influent at 9,0 to 15 g/l COD. The fundamental result of this experience was seeking to obtain anaerobic granules. Granular formations 2 mm in diameter were detected after the third month of work.

Finally a protocol for starting and operating an industrial UASB reactor, charged with flocculent sludge from the anaerobic treatment of a textile industry was developed. In the final part of this work some of the data and operate the start of this reactor is showed.

## **Índice Temático**

<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	I
<b>RESUMEN</b> .....	II
<b>ABSTRACT</b> .....	IV
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	X
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	XIII
<b>SIGLAS Y ABREVIATURAS</b> .....	XVII
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	19
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	21
2.1. Objetivo general .....	21
2.2. Objetivos específicos .....	21
<b>3. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	22
3.1. Contexto de la producción actual de limón en el norte argentino .....	22
3.2. Ubicación del cultivo del limón.....	22
3.3. Superficie cultivada con limón .....	24
3.4. Producción relativa y rendimientos .....	24
3.5. Destino del limón.....	25
3.5.1. Empaque o packing .....	25
3.5.2. Producción industrial .....	26
3.6. Industrialización del limón .....	26
3.6.1. Descripción de subprocesos.....	27
3.6.1.1. Recepción de fruta en industria .....	29
3.6.1.2. Descarte manual.....	30
3.6.1.3. Clasificación por tamaño .....	30
3.6.1.4. Extracción de aceite esencial .....	31
3.6.1.5. Obtención de jugo.....	38
3.6.1.6. Acondicionamiento del porcentaje de pulpa.....	38
3.6.1.7. Concentración del jugo .....	41
3.6.1.8. Recuperación de esencias del jugo.....	42
3.6.1.9. Deshidratación de cáscara.....	43
3.6.1.10. Lavado y sanitización de fábrica.....	44
3.7. Otras alternativas de producción.....	45
3.8. Tratamientos primarios .....	45
3.8.1. Introducción.....	45
3.8.2. Separación sólido-líquido por mallas o tamices .....	46
3.8.3. Sedimentación o decantación primaria .....	48
3.8.3.1. Sedimentación simple .....	48
3.8.3.2. Precipitación química, coagulación y floculación .....	48



3.8.4. Flotación por aire disuelto.....	49
3.9. Pretratamientos .....	50
3.9.1. Introducción .....	50
3.9.2. Pretratamientos físicos .....	50
3.9.2.1. Pretratamiento por ultrasonido.....	50
3.9.2.2. Pretratamiento térmico .....	51
3.9.2.3. Pretratamientos mecánicos.....	52
3.9.3. Pretratamientos químicos .....	53
3.9.4. Pretratamientos enzimáticos o biológicos .....	53
3.10. Tratamiento de residuos orgánicos por compostaje.....	54
3.11. Tratamiento anaerobio de residuos orgánicos .....	57
3.11.1. Introducción .....	57
3.11.2. Principios básicos de la biodigestión anaerobia.....	57
3.11.3. Configuraciones de sistemas anaeróbicos.....	60
3.11.3.1. Reactores tipo UASB.....	63
3.11.3.2. Teorías sobre el proceso de granulación.....	65
3.11.4. Controles en reactores anaeróbicos .....	71
3.11.4.1. Variables a observar en la marcha de reactores anaerobios. ....	71
3.12. Tratamiento de efluentes por sistema de lagunaje.....	80
<b>4. METODOLOGIA Y DESCRIPCIÓN DE ENSAYOS.....</b>	<b>83</b>
4.1. Determinaciones analíticas.....	83
4.2. Evaluación de la actividad metanogénica de inóculos anaerobios (AME).....	84
4.3. Evaluación de la biodegradabilidad anaerobia y potencial de metanización de los residuos citrícolas .....	87
4.4. Análisis de inconsistencia de datos.....	88
4.5. Ensayos de toxicidad .....	89
<b>5. CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS Y EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS.....</b>	<b>91</b>
5.1. Caracterización fisicoquímica de los residuos y balances de masas .....	91
<b>6. TRATAMIENTOS CONVENCIONALES .....</b>	<b>96</b>
6.1. Irrigación .....	96
6.1.1. Introducción.....	96
6.1.2. Generalidades .....	96
6.1.3. Áreas de aplicación .....	96
6.2. Lagunaje .....	98
6.2.1. Caso práctico de bibliografía .....	98
6.2.2. Caso práctico de estudio .....	99
6.2.2.1. Introducción.....	99
6.2.2.2. Materiales y métodos.....	99
6.2.2.3. Resultados y discusión.....	100
6.2.2.4. Conclusiones.....	102

<b>7. TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE RESIDUOS SEMISÓLIDOS</b> .....	103
7.1. Compostaje.....	103
7.1.1. Introducción.....	103
7.1.2. Materiales y métodos .....	103
7.1.3. Resultados .....	104
7.1.4. Conclusiones.....	106
7.2. Tratamiento anaerobio .....	106
7.2.1. Estudio de la actividad metanogénica específica de lodos anaeróbicos .....	106
7.2.1.1. Introducción .....	106
7.2.1.2. Materiales y métodos .....	107
7.2.1.3. Resultados .....	108
7.2.1.4. Conclusiones .....	108
7.2.2. Estudio de la biodegradabilidad anaeróbica de la pulpa y cáscara .....	111
7.2.2.1. Introducción .....	111
7.2.2.2. Materiales y métodos .....	112
7.2.2.3. Resultados y discusión .....	112
7.2.3. Evaluación de la biodigestión anaeróbica de pulpa y de cáscara en reactores tipo CSTR a escala laboratorio .....	115
7.2.3.1. Introducción .....	115
7.2.3.2. Materiales y métodos .....	116
7.2.3.3. Montaje experimental.....	116
7.2.3.4. Arranque de reactores a escala laboratorio .....	117
7.2.3.5. Alimentación y control del proceso .....	119
7.2.3.6. Medición de biogás y porcentaje de metano.....	119
7.2.3.7. Resultados .....	120
7.2.3.8. Conclusiones .....	124
7.2.4. Evaluación de la biodigestión anaeróbica de la mezcla de pulpa y cáscara en reactores tipo CSTR a escala piloto .....	124
7.2.4.1. Introducción .....	124
7.2.4.2. Materiales y métodos .....	124
7.2.4.3. Montaje experimental.....	125
7.2.4.4. Arranque del biodigestor.....	128
7.2.4.5. Alimentación .....	128
7.2.4.6. Proceso en régimen .....	129
7.2.4.7. Resultados y conclusiones.....	129
7.2.4.7.1. Estabilidad en el arranque.....	129
7.2.4.7.2. Estabilidad durante el proceso en régimen .....	130
7.2.4.7.3. Abatimiento de la carga orgánica.....	130
7.2.4.7.4. Producción de biogás.....	131
7.2.4.7.5. Conclusiones .....	132

<b>8. TRATAMIENTO BIOLÓGICO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES .....</b>	<b>133</b>
8.1. Biodegradabilidad anaerobia de efluentes líquidos citrícolas .....	133
8.1.1. Introducción .....	133
8.1.2. Materiales y métodos.....	133
8.1.3. Resultados y discusión .....	133
8.2. Ensayos de toxicidad .....	134
8.2.1. Toxicidad del aceite esencial de limón.....	134
8.2.1.1. Introducción.....	134
8.2.1.2. Materiales y métodos.....	135
8.2.1.3. Resultados.....	136
8.2.2. Toxicidad de las sales de amonio cuaternario.....	138
8.2.2.1. Introducción.....	138
8.2.2.2. Materiales y métodos.....	139
8.2.2.3. Resultados.....	139
8.2.2.4. Consideraciones sobre la toxicidad del amonio cuaternario .....	143
8.2.3. Toxicidad de floculantes .....	143
8.2.3.1. Introducción.....	143
8.2.3.2. Materiales y métodos.....	144
8.2.3.3. Resultados.....	144
8.2.3.4. Consideraciones sobre la toxicidad del floculante.....	147
8.3. Evaluación de la biodigestión anaeróbica del efluente líquido citrícola a 32°C usando reactores tipo UASB a escala piloto .....	147
8.3.1. Introducción .....	147
8.3.2. Materiales y métodos.....	147
8.3.3. Resultados y discusión .....	150
8.3.4. Conclusiones.....	153
8.4. Estudio de la granulación de lodos anaeróbicos dispersos en reactores de tipo UASB alimentados con efluente citrícola.....	154
8.4.1. Introducción .....	154
8.4.2. Materiales y métodos.....	154
8.4.3. Resultados y discusiones .....	157
8.4.4. Conclusiones.....	164
8.5. Arranque del proceso de granulación en un reactor industrial.....	164
8.5.1. Introducción .....	164
8.5.2. Materiales y métodos.....	165
8.5.3. Planificación del arranque de granulación a escala industrial .....	167
8.5.4. Inoculación del reactor industrial con lodo floculento .....	167
8.5.5. Arranque.....	168
8.5.6. Resultados .....	169
8.5.7. Conclusiones.....	175

<b>9. COMENTARIOS FINALES</b> .....	176
<b>BIBLIOGRAFIA CITADA</b> .....	178



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 3.1. Caracterización del agua de la pileta de recepción de frutas.....	30
Tabla 3.2. Componentes de una muestra de aceite esencial (Fábrica 1) .....	32
Tabla 3.3. Componentes de una muestra de aceite esencial (Fábrica 2) .....	33
Tabla 3.4. Caracterización del residuo lodoso del centrifugado de emulsión .....	37
Tabla 3.5. Principales características de las líneas con residuos de pulpa.....	40
Tabla 3.6. Composición promedio de la pulpa de limón .....	40
Tabla 3.7. Caracterización del efluente de secadero de cáscara .....	44
Tabla 3.8. Teorías sobre la granulación anaeróbica (Hulshoff Pol, L., <i>et al.</i> 2004).....	66
Tabla 3.9. Concentración de iones para una inhibición del 50% de la actividad metanogénica.....	77
Tabla 4.1. Macro y micronutrientes para el ensayo de AME.....	85
Tabla 4.2. Preparación de la solución de AGV .....	85
Tabla 4.3. Factores de conversión .....	87
Tabla 4.4. Valores críticos de la prueba de Grubbs.....	88
Tabla 5.1. Composición del efluente cítrico no segregado.....	91
Tabla 5.2. Caracterización del efluente cítrico de Citrusvil S.A.....	92
Tabla 5.3. Caracterización del efluente cítrico de Citromax SACI.....	92
Tabla 5.4. Aporte de carga orgánica de cada línea de proceso.....	93
Tabla 5.5. Aporte de sólidos suspendidos totales de cada línea de proceso .....	94
Tabla 5.6. Análisis de los residuos semisólidos.....	95
Tabla 6.1. Profundidades y TRH de las lagunas evaluadas .....	99
Tabla 7.1. Análisis de los ingredientes de las pilas .....	104
Tabla 7.2. Análisis de las pilas K y H al finalizar el proceso de compostaje.....	105

Tabla 7.3. Cálculo de AME.....	108
Tabla 7.4. AME de lodos de diferentes orígenes (Jim Field, 2002) .....	109
Tabla 7.5. AME de lodos de diferentes orígenes (Moreno Andrade, I. <i>et al</i> , 2002).....	110
Tabla 7.6. Caracterización de muestras cítricas realizada en la PUCV (Chile).....	114
Tabla 7.7. Potencial de metanización de muestras cítricas (PUCV – Chile).....	114
Tabla 7.8. Caracterización promedio de pulpa y cáscara .....	117
Tabla 7.9. Porcentaje de abatimiento de la DQO y de reducción de los sólidos totales para distintas VCO .....	131
Tabla 8.1. Valores de DQO promedio según el tiempo de monitoreo .....	134
Tabla 8.2. Composición del aceite esencial usado en ensayos de toxicidad.....	135
Tabla 8.3. Datos del ensayo 1 de toxicidad del aceite esencial .....	137
Tabla 8.4. Datos del ensayo 2 de toxicidad del aceite esencial .....	137
Tabla 8.5. Registro de volumen de producción y acumulado de metano en viales dosificados con 1,25 ppm de amonio cuaternario .....	140
Tabla 8.6. Registro de volumen de producción y acumulado de metano en viales dosificados con 5,2 ppm de amonio cuaternari.....	141
Tabla 8.7. Registro de volumen de producción y acumulado de metano en viales dosificados con 12,5 ppm de amonio cuaternario .....	142
Tabla 8.8. Producción de metano de los viales con 50 ppm de floculante .....	144
Tabla 8.9. Metano acumulado en viales con 50 ppm de floculante.....	145
Tabla 8.10. Pendientes máximas y AMEs de cada vial con 50 ppm de floculante.....	146
Tabla 8.11. Promedio y desviación standard de la AME.....	146
Tabla 8.12. Resultados obtenidos en ensayos de toxicidad .....	146
Tabla 8.13. Caracterización del lodo disperso para ensayo piloto de granulación .....	154
Tabla 8.14. Variables operativas del reactor piloto durante la granulación .....	157
Tabla 8.15. Distribución de tamaños de partículas durante el proceso de granulación .....	163
Tabla 8.16. Parámetros operativos del reactor UASB industrial .....	165
Tabla 8.17. Dimensiones del reactor industrial UASB .....	166

Tabla 8.18. Análisis de los lodos cargados en el reactor.....	167
Tabla 8.19. Tomamuestras, alturas y separación.....	172
Tabla 8.20. Biomasa en el reactor.....	172



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Región citrícola en la provincia de Tucumán .....	23
Figura 3.2. Fotografía aérea de una plantación de limón en Tucumán .....	23
Figura 3.3. Evolución de la superficie neta con cítricos en Tucumán.....	24
Figura 3.4. Diagrama del proceso de industrialización del limón .....	28
Figura 3.5. Línea de descarte manual y clasificación por tamaño .....	31
Figura 3.6. Extractor de jugo y aceite esencial para cítricos marca Speciale .....	35
Figura 3.7. Vista lateral del extremo de un cartucho de ultrafiltro .....	39
Figura 3.8. Vista en sección de las membranas de ultrafiltración .....	39
Figura 3.9. Pulpa de limón.....	40
Figura 3.10. Evaporador tipo TASTE.....	42
Figura 3.11. Modelo de malla para retención de sólidos gruesos .....	47
Figura 3.12. Tamices parabólicos.....	47
Figura 3.13. Tamiz de tambor rotativo tipo regainer trommel.....	47
Figura 3.14. Separador sólido líquido o decanter .....	49
Figura 3.15. Esquema de una planta de tratamiento por flotación con aire disuelto.....	50
Figura 3.16. Proceso de aireación o volteo de la pila de compostaje .....	56
Figura 3.17. Compost terminado .....	57
Figura 3.18. Bioquímica de la digestión anaerobia .....	58
Figura 3.19. Gránulos anaerobios (Hulshoff Pol, L.W. <i>et al</i> , 2004) .....	63
Figura 3.20. Esquema de un reactor UASB.....	65
Figura 3.21. Modelo de gránulo de capa múltiple .....	70
Figura 4.1. Viales de biodigestión en incubadora .....	84
Figura 4.2. Sistema de medición de metano .....	86
Figura 5.1. Distribución porcentual de la carga orgánica en efluente cítrico .....	93
Figura 5.2. Distribución porcentual de SST en efluente cítrico .....	94
Figura 5.3. Muestras de residuos semisólidos.....	95
Figura 6.1. Evolución de la DQO en lagunas 2, 3 y 4 .....	100
Figura 6.2. Evolución de los SS en lagunas 2, 3 y 4.....	100
Figura 6.3. Evolución de la DQO en laguna 5 y descarga final.....	101
Figura 6.4. Evolución de los SS en laguna 5 y descarga final .....	101
Figura 7.1. Pulpa en playa de compostaje previo al armado de una pila .....	103

Figura 7.2. Evolución de la temperatura durante el proceso de compostaje.....	105
Figura 7.3. Recolección de lodos anaeróbicos de fondo de lagunas.....	107
Figura 7.4. Estudio de la AME en diferentes muestras de lodos .....	108
Figura 7.5. Estudio de la biodegradabilidad en cáscara .....	112
Figura 7.6. Estudio de la biodegradabilidad en pulpa.....	113
Figura 7.7. Producción de metano por digestión de pulpa y cáscara.....	113
Figura 7.8. Perfiles de degradación de muestras cítricas en ensayo de potencial de metanización (PUCV – Chile).....	114
Figura 7.9. Biodigestor (blanco) y recipiente colector del biogás (azul).....	117
Figura 7.10. Reactores ubicados en el gabinete termostatzado .....	118
Figura 7.11. Vista exterior del gabinete termostatzado.....	118
Figura 7.12. Sistema de purificación del biogás .....	119
Figura 7.13. Correlación entre reducción de DQO y VCO .....	120
Figura 7.14. Correlación entre la VCO y razón alfa .....	120
Figura 7.15. VCO eliminada y metanizada en función de la VCO de alimentación (Reactor de pulpa).....	121
Figura 7.16. VCO eliminada y metanizada en función de la VCO de alimentación (Reactor de cáscara) .....	121
Figura 7.17. Reducción porcentual de ST en los reactores .....	122
Figura 7.18. Reducción de SV en los reactores .....	122
Figura 7.19. Evolución de SV (cáscara y pulpa).....	123
Figura 7.20. Mineralización .....	123
Figura 7.21. Representación del biodigestor piloto con su sistema de calefacción, sistema de agitación y circuito de biogás hasta llegar al quemador..	126
Figura 7.22. Perspectiva del biodigestor y sedimentador .....	126
Figura 7.23. Vista externa del biodigestor escala piloto.....	127
Figura 7.24. Vista interna del biodigestor piloto donde destaca el eje central y el serpentín para calefaccionar.....	127
Figura 7.25. Parte superior del biodigestor donde destaca el manómetro, el motor del agitador, la salida de biogás (manguera azul) y la boca de alimentación (cerrada) .....	128
Figura 7.26. Evolución de la relación alfa para diferentes VCO.....	130
Figura 7.27. Biogás acumulado a VCO 1 .....	131
Figura 8.1. Producción de metano por biodigestión de efluente cítrico.....	133
Figura 8.2. Perfil del abatimiento de DQO en función del tiempo .....	134
Figura 8.3. Acumulación de metano en el primer ensayo de toxicidad .....	136

Figura 8.4. Acumulación de metano en el segundo ensayo de toxicidad.....	137
Figura 8.5. Producción de metano en viales con 1,25 ppm de amonio cuaternario.....	140
Figura 8.6. Producción de metano en viales con 5,2 ppm de amonio cuaternario.....	141
Figura 8.7. Producción de metano de viales con 12,5 ppm de amonio cuaternario.....	142
Figura 8.8. Inhibición de la AME a diferentes dosis de amonio cuaternario .....	143
Figura 8.9. Metano acumulado en el vial N°1 .....	146
Figura 8.10. Esquema de la planta piloto para tratar efluente citrícola .....	148
Figura 8.11. Foto de la planta piloto para tratar efluente industrial citrícola .....	149
Figura 8.12. Comparación de la DQO del efluente crudo y tratado y evolución de la VCO semanal .....	150
Figura 8.13. Estrategia de arranque .....	151
Figura 8.14. Evolución del pH de entrada y de salida.....	152
Figura 8.15. Abatimiento de DQO .....	152
Figura 8.16. Relación entre VCO eliminada y VCO de alimentación .....	153
Figura 8.17. Esquema de caudales del reactor .....	157
Figura 8.18. Evolución del pH de entrada y salida.....	158
Figura 8.19. Evolución del TRH y de la VCO.....	158
Figura 8.20. Evolución de DQO, entrada y salida, y eliminación .....	159
Figura 8.21. Relación entre la VCO y la velocidad de carga eliminada.....	159
Figura 8.22. Fotografías de los lodos del reactor correspondientes al primer mes (A) y segundo mes (B).....	160
Figura 8.23. Fotografía de los lodos del reactor correspondientes al tercer mes (C) y al sexto mes (D).....	160
Figura 8.24. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 1 .....	161
Figura 8.25. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 2 .....	161
Figura 8.26. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 3 .....	162
Figura 8.27. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 6 .....	162
Figura 8.28. Tamaño promedio de las partículas durante el proceso de granulación.....	163
Figura 8.29. Vista del reactor UASB industrial (1) .....	166

Figura 8.30. Vista del reactor UASB industrial (2) .....	166
Figura 8.31. Parámetros operativos del reactor industrial .....	169
Figura 8.32. Estabilidad ácido-base del proceso.....	170
Figura 8.33. Variación de DQO y VCO.....	170
Figura 8.34. Eliminación promedio .....	171
Figura 8.35. Variación de los sólidos suspendidos totales .....	171
Figura 8.36. Evolución de los SSV del reactor .....	173
Figura 8.37. Evolución de las AME, eliminación y VCO máximas teóricas.....	174
Figura 8.38. Desarrollo del tamaño promedio de los gránulos del toma 4 .....	174

## **SIGLAS Y ABREVIATURAS**

AGV: ácidos grasos volátiles.

AMC: American Machinery Corporation.

AME: actividad metanogénica específica.

APHA: American Public Health Association.

CE: conductividad eléctrica.

CIC: capacidad de intercambio catiónico

C/N: relación carbono/nitrógeno.

CSTR: complete stirred tank reactor (reactor de mezcla completa).

DBO: demanda bioquímica de oxígeno.

DQO: demanda química de oxígeno.

ECC: efluente cítrico crudo.

ECCA: efluente cítrico crudo acondicionado.

ECT: efluente cítrico tratado.

EAAOC: Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres.

FMC: Food Machinery and Chemical Corporation.

GEI: Gases de Efecto Invernadero

KHz: kilo hertz.

NOA: Noroeste argentino.

PEC: polímero extracelular.

PPM: partes por millón.

PUCV: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Qa: caudal de alimentación.

Qe: caudal de entrada.

RPM: revoluciones por minuto.

SF: sólidos fijos.

SSF: sólidos suspendidos fijos.

SST: sólidos suspendidos totales.

SSV: sólidos suspendidos volátiles.

ST: sólidos totales.

SV: sólidos volátiles.

TASTE: Temperature Accelerated Short Time Evaporator.

TRC: tiempo de residencia celular

TRH: tiempo de residencia hidráulico.

TRS: tiempo de residencia de sólidos.

UASB: upflow anaerobic sludge blanket (manto de lodo de flujo ascendente).

Va: velocidad ascensional.

VCO: velocidad de carga orgánica.

VTSA: Vicente Trapani S.A.

## 1. INTRODUCCIÓN

La provincia de Tucumán, situada en la región norte de Argentina, cuenta como uno de sus principales pilares económicos, a la producción de limón y los productos que se obtienen de su industrialización. Aproximadamente 850.000 toneladas de limón se destinan a la producción de aceite esencial, jugo concentrado y cáscara deshidratada, principalmente, y unas 300.000 toneladas se exportan como fruta fresca (Ploper, Fadda, 2010).

En la década de 1990 la industria cítrica argentina tuvo un importante crecimiento impulsado por el incremento de la producción de limón en Tucumán. Este avance permitió que la Argentina se convirtiera en el principal país productor industrial de limón a nivel mundial (Paredes, V., *et al.*, 2011).

Actualmente, el procesado industrial del limón en Tucumán se lleva a cabo en nueve plantas y deja residuos orgánicos semisólidos y líquidos, todos ellos constituidos principalmente por vestigios de la fruta original.

En los inicios de la actividad industrial, a mediados del siglo pasado, los residuos generados, insignificantes en comparación con los valores actuales, se disponían en suelos o en cursos de agua sin recibir un tratamiento previo importante.

Con el transcurrir de los años y con la aplicación más rigurosa de las leyes ambientales que regulan estas actividades, se comenzaron a ensayar otros métodos para disponer los residuos orgánicos.

Para los residuos de naturaleza semisólida, formados fundamentalmente por restos de pulpa y cáscara, la alternativa más viable era usarlos como alimento de ganado. Los intentos de aplicarles un proceso de compostaje no tenían demasiado éxito.

En cuanto a los efluentes líquidos, su naturaleza ácida truncaba la posibilidad de usarlo para riego.

Posteriormente se comenzaron a implementar incipientes procesos de lagunaje, con lo cual, de alguna manera, se dio origen al tratamiento biológico de estos residuos.

En general, los residuos que genera el procesado industrial del limón incluyen tres elementos que deben ser tenidos en cuenta a la hora de diseñar un manejo adecuado: su elevado contenido de sólidos en suspensión, la presencia de restos de aceites esenciales y su bajo pH, del orden de 3,5.

La mayoría de las plantas industriales no segregan sus líneas internas de residuos y efluentes, y adoptaron sistemas de rejillas y tamices para despojar a los efluentes líquidos de los sólidos en suspensión. Algunas plantas complementan estos procedimientos con procesos de coagulación-floculación y posterior sedimentación. Además, una de las plantas industriales incorporó un eficiente proceso de flotación por aire disuelto (DAF), que provee un efluente de escaso contenido de sólidos en suspensión (inferior a 200 ppm), muy apto, desde el punto de vista del contenido de sólidos y de su pH, para un posterior tratamiento biológico.

Los sólidos separados durante el tratamiento primario, formados principalmente por restos de pulpa y cáscara, sumados a otros restos vegetales provenientes de otras etapas del proceso industrial, requieren un tratamiento específico. No es conveniente aplicar al suelo materia orgánica fresca, o no suficientemente bioestabilizada, porque puede causar severos trastornos en el crecimiento vegetal debido a la falta de nitrógeno o a la producción de metabolitos tóxicos.

Al tratarse de residuos orgánicos, surge como primera opción su tratamiento por procesos de compostaje, aunque su naturaleza ácida y su baja proporción de nitrógeno dificultan esta aplicación. Sin embargo, se verá que es posible emplear este método adecuando ciertos aspectos.

Por otro lado, la biodegradabilidad de estos desechos también permite abordar su tratamiento por digestión anaeróbica, proceso que también se describe en este trabajo.

El efluente líquido industrial, ya disminuido en sus contenidos de sólidos en suspensión, resulta también tratable por digestión anaeróbica, lo cual redundará, no solo en beneficios ambientales sino también energéticos, por la posibilidad de aprovechar el biogás generado.

Con la paulatina reducción de la carga orgánica a disponer, la actividad industrial provincial mejoró su desempeño ambiental.

La biodigestión anaerobia puede aportarle opciones o herramientas para mejorar la sustentabilidad de la actividad. Además, el desarrollo de estas tecnologías permite incorporar conocimiento y experiencia para aplicarla en el tratamiento de desechos de otras actividades.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo general**

Estudiar los procesos de tratamientos biológicos aplicables a los residuos orgánicos semisólidos y a los efluentes líquidos generados en el procesamiento industrial del limón.

### **2.2. Objetivos específicos**

- a) Estudiar una alternativa para desarrollar un proceso de compostaje efectivo de los residuos semisólidos provenientes de la industrialización del limón, tema que se resuelve en el capítulo 7.
- b) Evaluar la eficiencia y los parámetros operativos del proceso de biodigestión anaeróbica de los residuos de pulpa y de cáscara empleando reactores de mezcla completa a escala laboratorio y a escala piloto, abordados en el capítulo 7.
- c) Evaluar los parámetros operativos del proceso de biodigestión anaeróbica del efluente líquido proveniente de la industrialización del limón, empleando reactores de tipo UASB a escala piloto, expuesto en el capítulo 8.
- d) Estudiar la factibilidad y condiciones de operación para producir la granulación de lodos anaeróbicos dispersos empleando reactores de tipo UASB alimentados con efluente cítrico, propuesto en el capítulo 8.

### **3. REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **3.1. Contexto de la producción actual de limón en el norte argentino**

En las dos últimas décadas, Tucumán (Argentina) ha sido escenario de una fuerte transformación de la actividad citrícola. En este período, el limón ha desplazado fuertemente a los otros citrus, instalándose en antiguas zonas cañeras y constituye hoy el segundo sector agroindustrial de la provincia de Tucumán, después de la actividad sucroalcoholera.

Los limoneros tucumanos ocupan alrededor de 37.400 hectáreas con una productividad superior a la del resto del país lo que permite la obtención de un producto de buena calidad a un costo razonable.

El 70% de la producción de limones se destina a la elaboración de jugo concentrado, aceites esenciales, aromas y cáscara deshidratada, los que prácticamente se exportan en su totalidad.

De la fruta fresca, alrededor de un 70%, que constituye la fruta de mejor calidad, se destinan a la exportación, mientras que el resto se consume en el mercado interno. (Pérez, D.R., 2001).

#### **3.2. Ubicación del cultivo del limón**

En la Argentina, los cítricos se producen en dos regiones: en el Noreste y en el Noroeste, siendo esta última la zona de mayor actividad ya que concentra el 65 % de la producción cítrica nacional.

En la provincia de Salta y Jujuy se cultivan pomelos y naranjas, y en Tucumán principalmente limones.

La provincia de Tucumán lidera la producción argentina de limón al generar el 95 % de la producción nacional.

En la figura 3.1 se observan las regiones donde se ubican las fincas de limón en la provincia de Tucumán. La figura 3.2 muestra una imagen fotográfica aérea de una finca de limón.

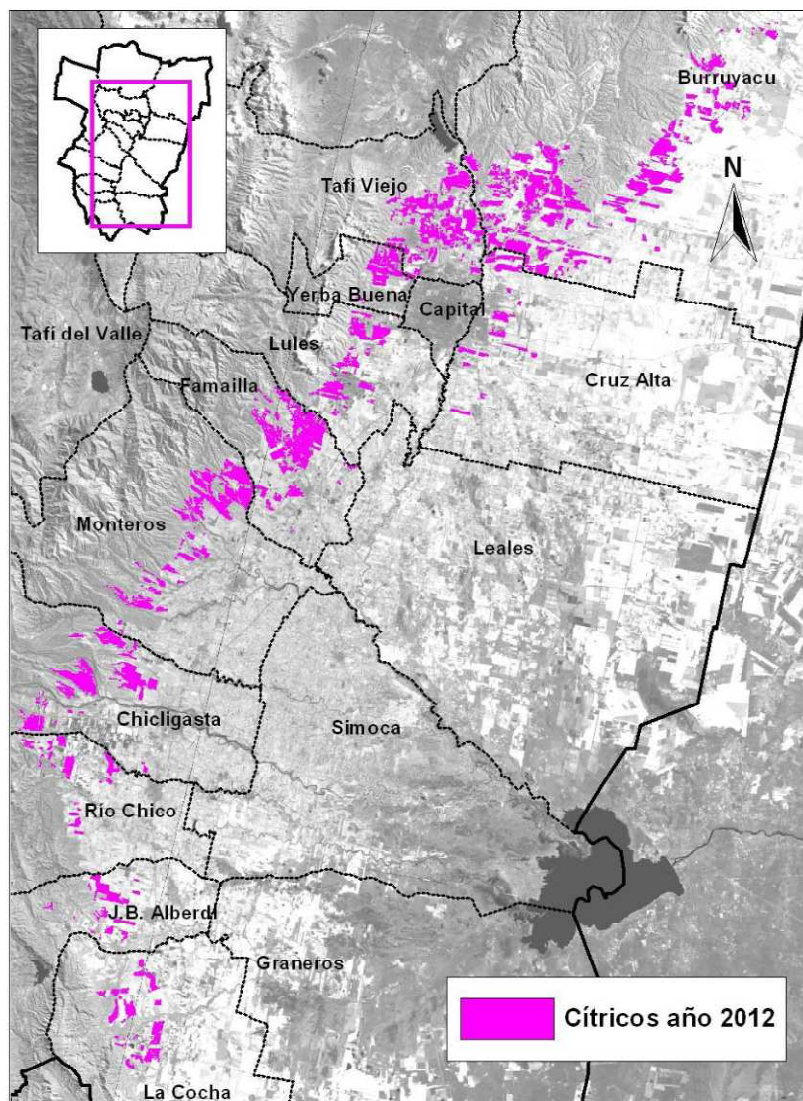


Figura 3.1. Región cítrica en la provincia de Tucumán.



Figura 3.2. Fotografía aérea de una plantación de limón en Tucumán.

### 3.3. Superficie cultivada con limón

La Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) realiza periódicamente la estimación de superficie con cítricos en producción.

Según datos obtenidos por el relevamiento satelital, la superficie bruta ocupada con plantaciones de citrus de dos y más años en la provincia de Tucumán fue de 36.800 hectáreas para el año 1999.

Con la finalidad de visualizar la tendencia que presenta la superficie plantada con cítricos en Tucumán en las campañas de la última década se incluyó la figura 3.3, que contiene la información de los años 2001 a 2012.

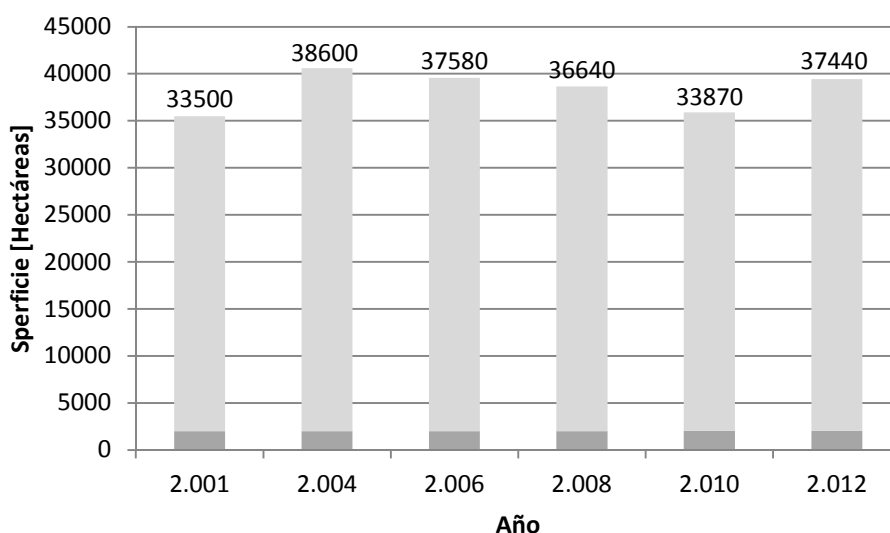


Figura 3.3. Evolución de la superficie neta con cítricos en Tucumán

Se observa que en el año 2004 la superficie cítrica tuvo un importante incremento con respecto al 2001. A partir de allí se inicia una tendencia decreciente, que se mantiene hasta el año 2010.

En 2012 se registra un importante incremento, que determina un valor de superficie levemente inferior a la registrada en 2006 (Fandos, *et al.*, 2012).

### 3.4. Producción relativa y rendimientos

Durante la década del 90, la producción de limón en Tucumán experimentó un crecimiento anual promedio de cerca del 10%, pasando de 338.898 toneladas en 1988 a 935.832 toneladas en 1999. Este sostenido aumento se debió por un lado a la incorporación de superficie pero también a una fuerte mejora de los rindes.

Argentina, principal productor de limón durante la campaña 2010, produjo 1.113.375 toneladas. Durante el período 2000-2009 Tucumán representó el 88% de la producción nacional.

En 2010, debido a las condiciones climáticas desfavorables (sequía y heladas), la producción solo alcanzó las 936.000 toneladas, lo que representó el 84% de la producción nacional (Fandos, *et al*, 2012).

### **3.5. Destino del limón**

La fruta que se obtiene en las fincas, una vez cosechada, puede derivarse al empaque o bien, si no reúne condiciones para ofrecerse como fruta fresca, pasar directamente de la finca a fábrica para ser industrializada.

La fruta que llega al empaque es clasificada, acondicionada y embalada para consumo fresco del mercado interno o externo (exportación).

Por otra parte, de la industrialización del limón se obtiene jugos concentrados, aceites esenciales, cáscara deshidratada y otros productos en menor proporción.

Por este motivo, para describir la producción de limón es conveniente diferenciar los siguientes momentos:

- a) La producción primaria en campo: tiene lugar en las fincas, después de los apropiados cuidados agronómicos, desde la etapa de floración hasta el momento de la cosecha del fruto.
- b) El empaque o packing: sitio donde la fruta es sometida a un exhaustivo proceso de selección de las unidades que cumplen los requisitos para ser embaladas y comercializadas, generalmente al mercado externo.
- c) La industria: lugar donde se recibe el limón proveniente directamente de fincas o, también, aquel proveniente del empaque, que no superó los procesos de selección. En la industria se procesa la fruta mediante diferentes operaciones hasta obtener aceite esencial, jugo concentrado, cáscara deshidratada y esencias aromáticas.

#### **3.5.1. Empaque o packing**

En el campo el limón sufre su primera selección. Allí los lotes con fruta de calidad inferior son destinados a la industria mientras que la fruta de mejor calidad pasa al empaque donde se hace la clasificación definitiva.

Los limones seleccionados son exportados o vendidos en el mercado interno, mientras que el limón descartado es derivado para su industrialización.

Tucumán puede procesar alrededor de 3000 toneladas de fruta fresca por día en las aproximadamente 25 plantas de empaque que posee.

### **3.5.2. Producción industrial**

La provincia de Tucumán cuenta con 8 fábricas ya consolidadas, y otra en sus primeros pasos, de diferentes capacidades, que procesan alrededor 850.000 toneladas de limón (promedio de la última década según comunicaciones personales de la ATC).

De la industrialización del limón se obtienen, en números redondos, 50.000 toneladas de jugo concentrado, 3.400 toneladas de aceite esencial y 51.000 toneladas de cáscara deshidratada. El principal destino de todos estos productos es el mercado externo.

Existen plantas industrializadoras en la mesopotamia argentina y una en la provincia de Jujuy que producen jugo concentrado de naranja y aceite esencial, pero sólo las fábricas tucumanas producen cáscara deshidratada.

El rendimiento por tonelada de fruta de las fábricas tucumanas se encuentra en el siguiente rango:

- 4 - 6,5 litros de aceite esencial
- 300 - 360 kg de jugo de 7º Brix con 8% de pulpa (representa unos 60 kg de jugo concentrado)
- 60 kg de cáscara deshidratada
- 3 - 5 m<sup>3</sup> de efluentes.

### **3.6. Industrialización del limón**

La actividad citrícola en Tucumán es de naturaleza estacional, adquiriendo su máxima intensidad en el período que va desde mediados de abril hasta fines de septiembre, o sea, engloba una fracción del otoño y a toda la época invernal para el hemisferio sur.

La duración de este período, conocido como “temporada alta” o “zafra”, está supeditada a las condiciones climáticas, fundamentalmente en lo que a lluvias se refiere.

En el período estival (interzafra) algunas firmas suelen procesar fruta, aunque los volúmenes son significativamente menores, por lo que también se aprovecha esta etapa

para reprocesar jugos, convenientemente almacenados en cámaras frigoríficas, y para hacer reparaciones y mantenimiento de equipos.

Como resultado de la industrialización del limón se obtienen jugos concentrados, cáscara deshidratada, aceites esenciales y otros productos en menor escala.

La obtención de cada uno de estos productos constituye un subproceso fabril que, a su vez, genera un residuo o efluente de características particulares.

### **3.6.1. Descripción de subprocesos**

El limón generalmente llega desde las fincas a la fábrica transportado por camiones cargados a granel o en contenedores plásticos o de madera (bins).

Las etapas de industrialización del limón se enuncian a continuación y se pueden visualizar en la figura 3.4:

- a) Recepción de fruta y descarte de lotes defectuosos.
- b) Descarte manual
- c) Clasificación por tamaño.
- d) Extracción de aceite esencial
  - i. Obtención de emulsión primaria
  - ii. Separación de aceite y lodo por centrifugaciones sucesivas
  - iii. Descerado del aceite, loteo y envasado
- e) Obtención de jugo
  - i. Extracción por copas
  - ii. Acondicionamiento del porcentaje de pulpa en el jugo
  - iii. Concentración del jugo, recuperación de esencias, loteo y envasado
- f) Deshidratación de cáscara
  - i. Molino para reducir y homogeneizar el tamaño de la cáscara
  - ii. Triple lavado con agua
  - iii. Prensado para reducir humedad
  - iv. Secado y embolsado

El esquema de industrialización del limón que se muestra en la figura 3.4 es una representación simplificada, donde se muestra cada etapa que genera productos y los residuos correspondientes.

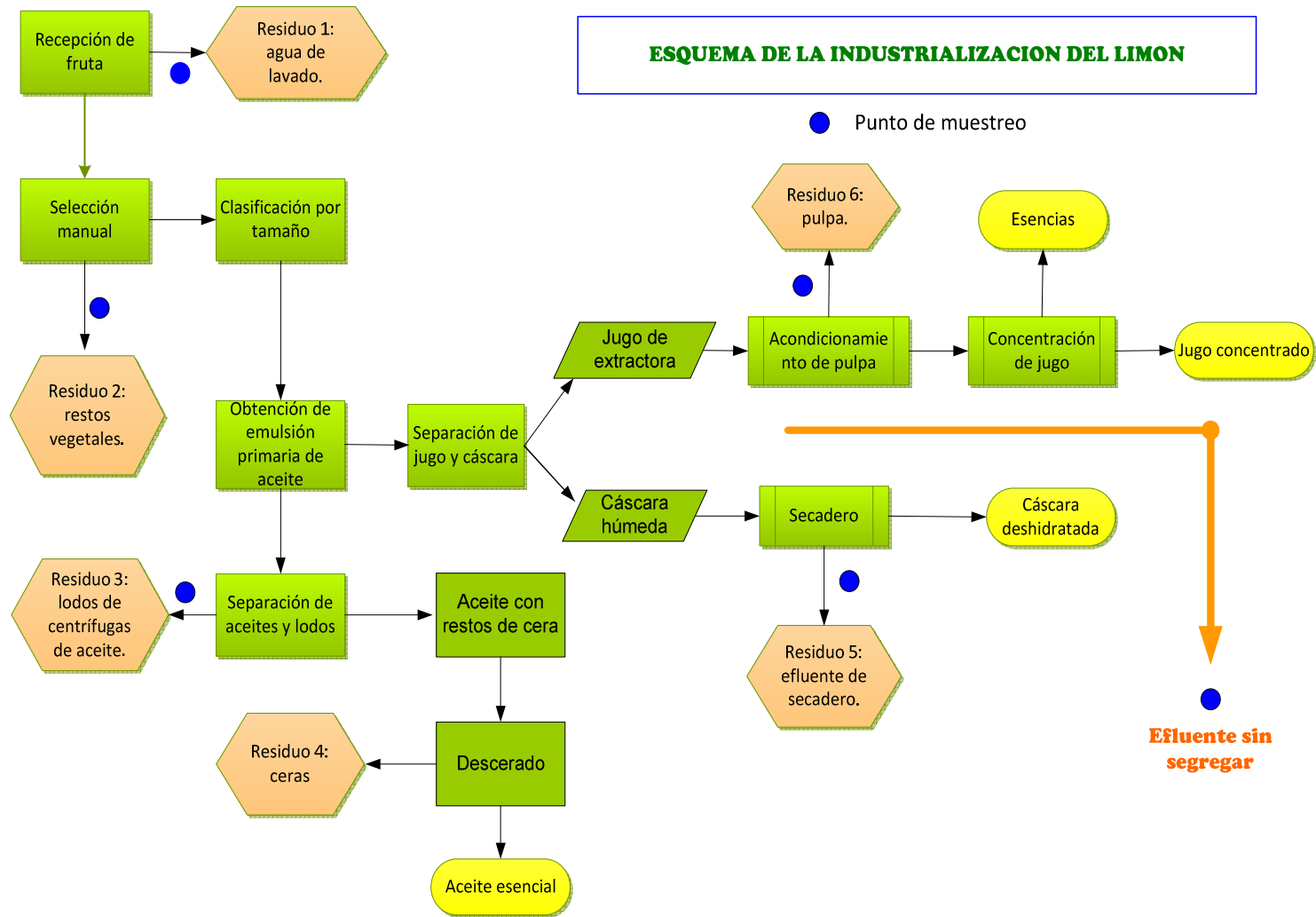


Figura 3.4. Esquema de la industrialización del limón



### 3.6.1.1. Recepción de fruta en industria

La fruta que será procesada industrialmente puede tener los siguientes orígenes:

- Fruta directa de finca.
- Fruta descartada en el proceso de pre-empaque de fruta fresca.
- Fruta descartada en el proceso de empaque de fruta fresca.

La fruta que proviene de pre-empaque y empaque puede tener aplicación de pesticidas de diferentes tipos y en diferentes dosis.

Algunos de estos pesticidas son liposolubles, razón por la cual suelen concentrarse en el aceite de limón que se obtiene al procesarlos industrialmente, situación que reduce el valor comercial de este producto.

La recepción de la fruta en industria puede organizarse de diferentes maneras. Una de ellas es descargar la fruta en el interior de una pileta con agua, lo cual amortigua los golpes y atenúa las lesiones que pudieran producirse en la piel.

Estas piletas poseen un sistema cerrado que contiene agua que se recircula mediante bombas. Aquí tiene lugar la separación de tejidos vegetales y restos de la actividad de cosecha que acompañan a la fruta (hojas, ramas, tierra, etc.).

La corriente de agua generada por las bombas conduce la fruta hasta un sistema de cangilones que la eleva hacia los silos de almacenamiento en donde esperará para ser procesada industrialmente.

Opcionalmente, la fruta puede ingresar directamente desde la pileta al proceso industrial, por medio de otra línea de cangilones, sin almacenarse en silos de espera.

La materia en suspensión del agua de la pileta, en general restos vegetales, se puede separar empleando rejillas o tamices simples. Los restos de tierra son separables en un sedimentador.

Un conjunto de valores característicos en el agua de lavado de frutas, de una planta que procesa 1000 toneladas diarias de limón y que posee pileta para su recepción se indica en la tabla 3.1.

Los restos vegetales sólidos se pueden recoger y enviar para su compostaje en campo.

Tabla 3.1 Caracterización del agua de la pileta de recepción de frutas

Parámetros	Valores medios
Caudal	140 m <sup>3</sup> /d
pH	7,5
Oxígeno disuelto	6 mg/l
Sólidos sedimentables	160 ml/l
DQO	0,2 g/l
DBO	0,15 g/l

Las fábricas que no poseen piletas, pueden acopiar la fruta recibéndola en silos de almacenaje transitorio, quedando aquí a la espera de ser procesada o pueden descargar directamente en tolvas de alimentación a la línea de proceso.

### 3.6.1.2. Descarte manual

La fruta recién descargada, o la que está almacenada en silos, se transporta hacia la etapa de preparación para su procesamiento.

Esta etapa incluye un descarte manual de las frutas lesionadas o en estado de putrefacción, las cuales se retiran de la línea de proceso, evitando comprometer la calidad de los productos a obtener. También se retiran restos de cosecha que hubieran llegado hasta allí.

Los restos vegetales o de fruta separada pueden enviarse a campo para su compostaje, previa reducción de tamaño en máquina picadora.

Luego de la selección manual, la fruta es lavada mediante un chorro de agua y cepillos suaves.

### 3.6.1.3. Clasificación por tamaño

Mediante una calibradora o tamañadora mecánica, apta para frutos esféricos irregulares, la fruta se clasifica, generalmente en dos tamaños adecuados para las dimensiones de las copas extractoras a las que ingresarán posteriormente, permitiendo una mayor eficiencia de extracción, y por ende, una menor producción de desechos (Figura 3.5).



Figura 3.5. Línea de descarte manual y clasificación por tamaño.  
(Vicente Trapani S.A., 2014)

Después de su paso por la tamañadora, la fruta está en condiciones de ingresar en la etapa de extracción de aceite esencial.

#### 3.6.1.4. Extracción de aceite esencial

En general, se pueden obtener cuatro tipos diferentes de productos aromáticos provenientes del flavedo o epicarpio del limón, los cuales se originan en diferentes etapas del proceso de industrialización (Marti Klyver, *et al.*, 1992):

- a. Aceite "Prensado en frío" o "Cold Pressed": o simplemente aceite esencial, obtenido por expresión en frío del epicarpio de la fruta.
- b. "Esencia" o "Essence Oil": es conocida como esencia de fase oleosa. Se trata del mismo aceite prensado en frío que no puede ser extraído y que fuga hacia el jugo natural. Posteriormente, durante el proceso de evaporación del jugo, se lo obtiene por flasheo evaporativo.
- c. "Aroma": también conocido como esencia de fase acuosa, que proviene de los condensados acuosos originados también durante el proceso de evaporación del jugo.
- d. "Stripper Oil": se obtiene por destilación de diferentes desechos provenientes de la producción del aceite prensado en frío, como ser descargas de centrífugas, ceras separadas durante el "winterizado", etc.

El aceite esencial se encuentra en los minúsculos sacos o vesículas que posee la piel del limón o flavedo.

El rendimiento promedio oscila entre 4,0 a 6,5 litros de aceite por tonelada de limón.

El color de este producto puede variar entre amarillo y verde esmeralda oscuro dependiendo de la variedad de limón y de su maduración.

En el aceite se pueden cuantificar alrededor de 55 componentes, aunque si se suman las sustancias trazas, este número puede superar los 100.

En las tablas 3.2 y 3.3 se exhiben los resultados del análisis de dos muestras de aceites esenciales, obtenidos por cromatografía gaseosa, provenientes de dos plantas fabriles diferentes.

Tabla 3.2. Componentes de una muestra de aceite esencial (Fábrica 1).

COMPUESTOS	[%]	COMPUESTOS	[%]
ALFA-TUYENO	0,3703	CITRONELAL	0,0561
ALFA- PINENO	1,7184	TERPINEN-4-OL	0,0676
CANFENO	0,0486	ALFA-TERPINEOL	0,2193
SABINENO	1,8101	DECANAL	0,046
BETA-PINENO	10,0104	NEROL	0,0567
MIRCENO	1,6327	NERAL	0,9889
OCTANAL	0,0651	GERANIOL	0,0354
ALFA - FELANDRENO	0,0356	GERANIAL	1,5718
ALFA TERPINENO	0,1721	AC. DE BORNILO	0,0288
PARA CIMENO	0,0972	UNDECANAL	0,0229
LIMONENO	70,064	CITRONERIL ACETETO	0,0154
(Z) BETA OXIMENO	0,0435	ACETATO DE NERILO	0,4476
(E) BETA OXIMENO	0,0796	ACETATO DE GERANILO	0,1865
GAMA-TERPINENO	7,8499	BETA CARIOFILENO	0,1979
HIDRATO DE SABINENO	0,048	ALFA BERGAMOTENO	0,3736
TERPINOLENO	0,3513	BETA BISABOLENO	0,5952
LINALOL	0,156	CITROPTENO	0,0812
NONANAL	0,0994		

Las principales familias químicas presentes en el aceite se pueden agrupar como:

- Compuestos alifáticos de bajo peso molecular como alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos.
- Monoterpenos: terpenos de diez átomos de carbono. Ejemplos:  $\alpha$ -pineno,  $\gamma$ -terpineno, mentol, geraniol, limoneno.
- Sesquiterpenos: terpenos de quince átomos de carbono. Ejemplos:  $\beta$ -cariofileno,  $\beta$ -bisaboleno.

Tabla 3.3 Componentes de una muestra de aceite esencial (Fábrica 2).

COMPUESTOS	[%]	COMPUESTOS	[%]
ALFA THUJENO	0,41233	ENDO BORNEOL	0,00643
ALFA PINENO	1,92612	NONANOL	0,00574
CANFENO	0,06154	TERPINEN-4-OL	0,03653
SABINENO	2,13472	ALFA TERPINEOL	0,19741
BETA PINENO	12,52968	DECANAL	0,04843
BETA MIRCENO	1,50449	NEROL	0,02987
OCTANAL	0,08073	NERAL	0,77487
FELLANDRENO	0,03782	GERANIOL	0,02645
DELTA-3-CARENO	0,00267	GERANIAL	1,25337
ALFA TERPINENO	0,19011	UNDECANAL	0,02506
PARA CIMENO	0,08651	CITRONELLIL ACETATO	0,02681
D- LIMONENO	66,39343	NERIL ACETATO	0,50762
OCIMENO	0,10833	GERANIL ACETATO	0,28798
GAMMA TERPINENO	8,59867	CARIOFILENO	0,21108
HIDRATO DE CIS SABINENO	0,04832	BERGAMOTENO	0,38031
OCTANOL	0,00000	BETA FARNESENO	0,03299
TERPINOLENO	0,36431	BISABOLENO	0,60615
LINALOL	0,09529	NORBONANOL	0,01960
HIDRATO DE TRANS SABINENO	0,03785	CAMPERNOL	0,02395
NONANAL	0,09057	ALFA BISABOLOL	0,03281
CITRONELAL	0,09011	CITROPTENO	0,06050

El aceite prensado en frío suele extraerse mediante dos metodologías:

1) Raspando o punzando la piel (flavedo) bajo un chorro de agua como vehículo para arrastrar el aceite. Con esta modalidad se busca solamente la obtención del aceite, dejando el resto de la fruta para la separación del jugo y la cáscara en etapas posteriores. Se pueden citar los siguientes sistemas (Sinclair, 1984):

a) Extracción por rolos (Pipkin): consiste en dos rolos de acero inoxidable, de separación graduable, que giran en sentidos opuestos. La fruta pasa entre los rolos, los que ejercen la presión apenas suficiente para pinchar las vesículas de aceite sin raspar la piel.

El aceite liberado corre a través de numerosos canalículos o estrías distribuidos en la superficie de los rolos.

b) Extracción por tornillo prensa: este sistema resulta adecuado cuando se debe extraer un pequeño volumen de líquido a partir de un gran volumen de sólido, como es el caso del aceite proveniente de citrus o semillas.

Se conduce la piel, separada de la fruta después de la extracción de jugo, a un tornillo prensa estrecho, rotando en una sección cónica truncada, o mampara. Tal como la piel es alimentada en la prensa, el tornillo giratorio presiona la piel contra la mampara perforada rompiendo las vesículas de aceite y permitiendo que este fluya. Usualmente la mampara es rociada con agua para arrastrar el aceite de la piel.

c) Otros: hay métodos que involucran variantes de los ya descritos. Por ejemplo, los equipos diseñados por Fraser-Brace Engineering Company, de Tampa, Florida, remueven el flavedo por abrasión empleando rolos cubiertos de carborundum.

American Machinery Corporation (AMC), de Orlando, Florida, diseñó equipos que emplean cilindros rotatorios perforados donde incide una neblina de agua para vehiculizar el aceite.

La firma Brown International Corporation aportó varios diseños, como el modelo Citrus Peel Shaver 2301 y, más recientemente, el modelo eBOE 6100. En esta variante, cada unidad de fruta es sometida a leves perforaciones realizadas por más de tres millones de puntas de acero inoxidable configuradas sobre rodillos rotatorios adyacentes cuyas velocidades diferenciales pueden ser ajustadas para controlar la operación.

Para lograr una completa cobertura de la superficie de la fruta, los rodillos no solo rotan, sino que también oscilan horizontalmente en direcciones opuestas, permitiendo que toda la superficie sea punzada, liberando el aceite. Las punciones tienen lugar debajo de una delgada cubierta de agua para garantizar que el aceite no pase a la atmósfera. Un secador compuesto por rodillos especializados remueve el agua y aceite adherido a la fruta después de su salida de la máquina. Esta corriente oleosa se suma al flujo de aceite/agua producido por la BOE.

Las punciones realizadas provocan una ruptura insignificante de la piel y, por lo tanto, una baja transferencia de pectina de la fruta al aceite. (Brown International Corporation, 2014).

2) La segunda modalidad es conocida como tecnología “In Line”.

En este sistema la fruta es presionada entre dos copas de máquinas extractoras donde, además de friccionar el flavedo para extraer el aceite, se separa la cáscara y el jugo exprimido, todo en una sola operación.

Entre las marcas más difundidas que desarrollaron esta metodología se encuentra FMC, Speciale y Fomesa.

Para aumentar la eficiencia, es importante la previa clasificación de los frutos por tamaños. La presión generada por el descenso de la copa superior produce la ruptura de las vesículas que contienen el aceite. Un potente chorro de agua en spray arrastra el aceite. Se consigue así una primera emulsión con cuatro componentes: agua, aceite, restos de corteza y sólidos en suspensión.



Figura 3.6. Extractor de jugo y aceite esencial para cítricos marca Speciale.  
(Omnia SRL, 2007)

En la figura 3.6 se observa, a la izquierda, las cinco copas de extracción. A la derecha se observa una vista posterior del equipo.

Las empresas citrícolas tucumanas, en general, obtienen sus aceites aplicando tanto los métodos de raspado o punción como los métodos de extracción por copas.

Con las operaciones de rallado o punzado, se obtiene una emulsión primaria compuesta por el aceite esencial, agua y ralladura o "aserrín".

La emulsión primaria, luego de tamizarla para ser liberada de los detritos, constituye la emulsión secundaria.

La emulsión secundaria suele contener sustancias pécticas que producirían turbiedad en el aceite final y, por otra parte, aumentan la viscosidad, disminuyendo el rendimiento de la operación de centrifugado. Es común el uso de enzimas pectinolíticas con el objeto de reducir el efecto de dichas sustancias.

Para separar el aceite, la emulsión secundaria se ingresa en centrifugas de tres fases, que giran entre 8.000 a 10.000 rpm, las cuales permiten obtener una primera fase rica en aceite, una segunda fase rica en agua y una tercera fase de consistencia lodosa con muy alto contenido de sólidos.

La segunda fase que sale de las centrifugas, rica en agua, se recircula hacia el proceso de extracción de aceite, aprovechando su contenido acuoso y posibilitando la recuperación de la pequeña fracción oleosa que pudiera contener.

La tercera fase, de consistencia lodosa, constituye el desecho de esta etapa, alcanzando una proporción de 10 a 17 litros por tonelada de fruta procesada, de acuerdo a lo reportado por diferentes fuentes industriales.

Una caracterización general de este residuo, fase lodosa del centrifugado, se exhibe en la tabla 3.4.

Esta fase lodosa, por sus características particulares, constituye una línea de residuos que se aconseja separar para destilar hasta agotar su fracción oleosa.

El residuo de esta destilación puede disponerse en compostaje.

De esta destilación se obtiene el aceite conocido como "stripper oil". También se llama así al aceite obtenido por destilación de las ceras provenientes del proceso de "winterizado" del aceite, proceso que se describirá posteriormente.



Tabla 3.4 Caracterización del residuo lodoso del centrifugado de emulsión.

Parámetros	Valor
Caudal	10-17 l/t fruta
pH	3,3-3,7
Oxígeno disuelto	0
Sólidos totales	50-60 g/l
Sólidos suspendidos	20-25 g/l
DQO	45-65 g/l
Aceite residual	5-7 g/l

La primera fase que sale de la centrifugación de la emulsión secundaria, fase rica en aceite, se conduce hacia otro tipo de centrifugas, que giran entre 16.000 y 18.000 rpm, llamadas pulidoras. De estas se obtiene el aceite "Prensado en frío" con una elevada pureza.

Es habitual que este aceite se almacene en tanques de acero inoxidable o en tambores con atmósfera nitrogenada para evitar reacciones de oxidación que reducirían su calidad comercial.

Los tanques de acero inoxidable que contienen el aceite esencial, se mantienen a temperaturas comprendidas entre -5°C y -25°C durante varios días, en el proceso denominado "winterización", para lograr la separación de las ceras, que constituyen un producto propio del aceite. A los efectos de aumentar la calidad del aceite, estas ceras deben ser removidas antes de comercializarse.

La operación de remoción de ceras, conocida como descerado, puede llevarse a cabo por decantación, por centrifugación o por prensado del aceite.

La cera separada, de consistencia similar al betún, constituye un subproducto de esta etapa y se genera entre 1 kg a 2 kg de cera por cada 100 kg de aceite.

Si bien está en estudio alguna aplicación práctica de la cera en el estado en que se obtiene, a la fecha lo más común es que se derive como materia prima para la obtención de aceites destilados (stripper oil).

El aceite liberado de las ceras se lotea para su comercialización.

### **3.6.1.5. Obtención de jugo.**

Una vez que se extrajo el aceite esencial por rallado o punción de la piel del limón, se ingresa en la etapa de extracción del jugo.

En líneas generales, se obtiene entre 30% y 35% de peso de jugo por peso de fruta.

Las tecnologías más difundidas son las de tipo extractoras por copas, las que también permiten extraer o recuperar aceite esencial, si no hubiera existido una etapa previa de rallado o punción, o si ésta hubiera dejado remanentes de aceite.

### **3.6.1.6. Acondicionamiento del porcentaje de pulpa.**

El jugo extraído usando cualquiera de las tecnologías descritas, se obtiene con un contenido de pulpa que oscila entre 14% y 18% v/v, aproximadamente. Este valor se debe reducir y ajustar a los requerimientos de los clientes.

Estos requerimientos suelen incluir jugos de pulpa alta (6% a 8% de pulpa), jugos de pulpa intermedia (2% a 6% de pulpa), jugos de pulpa baja (0,5% a 2% de pulpa), jugos de baja sedimentación (menos de 0,5% de pulpa) y jugos clarificados (cero contenido de pulpa).

Algunas empresas ofrecen la pulpa como un producto comercial más, aunque su demanda no resultó importante hasta el momento.

Para su preparación comercial, la pulpa separada se pasteuriza para inactivar enzimas y eliminar posibles contaminaciones microbiológicas. Luego se somete a una etapa de enfriamiento necesaria para la conservación del producto, el cual se envasa inmediatamente. Este producto se presenta en tambores de chapa, en bolsas dobles, recubiertos con epoxi sanitario o en bidones de plástico.

Para la preparación de jugos de pulpa alta e intermedia, se emplean centrífugas separadoras de pulpa, la cual es colectada en la parte periférica del equipo, y descargada periódicamente a través de agujeros para mantener la eficiencia de separación requerida.

La descarga es colectada en una cámara anular conectada a un tanque, desde donde drena por gravedad a través de un conducto (C&D Ingeniería, 2012).

Para la obtención de jugos clarificados se recurre a operaciones de ultrafiltración, o filtración tangencial por membranas, que separan la totalidad de la pulpa presente en el jugo, incluyendo aquellas partículas en estado coloidal.

Los ultrafiltros constan de módulos funcionales o tubos de presión donde se alojan las membranas filtrantes (Figuras 3.7 y 3.8). Estos tubos pueden disponerse tanto horizontal como verticalmente. Precisan de un sistema de bombeo de considerable potencia. Las unidades pueden lavarse con un sistema de lavado en contracorriente.

Algunos equipos permiten almacenar productos químicos para limpieza o agentes químicos, como coagulantes y floculantes, que faciliten las operaciones de separación sólido líquido.



Figura 3.7. Vista lateral del extremo de un cartucho de ultrafiltro.  
(Direct Industry, 2014)



Figura 3.8. Vista en sección de las membranas de ultrafiltración.  
(Elessia, 2013)

La cantidad de residuo con pulpa proveniente de las operaciones de ultrafiltración está ligado a los volúmenes de jugo filtrado y sus contenidos iniciales de sólidos en suspensión.

El caudal de pulpa, generada como residuo, resulta muy variable debido a su dependencia con el grado de despulpamiento buscado, cantidad de agua de operación de las centrífugas, los ciclos de las centrífugas y su eficiencia, entre otros factores.

En la tabla 3.5 se señalan algunas cifras orientativas relacionadas con el caudal generado en cada modalidad de operación y las principales características de los residuos con pulpa.

Tabla 3.5. Principales características de las líneas con residuos de pulpa.

	<b>Pulpa de Finishers</b>	<b>Pulpa de Centrifugas</b>	<b>Pulpa de Ultrafiltros</b>
<b>Caudal</b>	15-40 Kg/t. limón	40-70 l/t. limón	Depende del requerimiento comercial.
<b>Materia seca</b>	10%	5%	5%
<b>DQO</b>	100 g/kg	50 g/kg	76 g/l

La tabla 3.6 exhibe la composición elemental básica promedio de la pulpa de limón

Tabla 3.6. Composición promedio de la pulpa de limón

<b>Parámetro</b>	<b>Valor</b>
Carbono orgánico total [%] (calcinación)	49,9
Materia orgánica total [%] (calcinación)	86,1
Nitrógeno [%] (Kjeldhal)	0,9
Relación C/N	55,4
Fósforo total [%] (colorimetría, ácido ascórbico)	0,1
Potasio total [%] (fotometría de llama)	0,5

La Figura 3.9 muestra una porción de pulpa.



Figura 3.9. Pulpa de limón.

### **3.6.1.7. Concentración del jugo**

Una vez que el jugo fue adecuadamente despulpado, se somete al proceso de concentración, es decir, la evaporación de su contenido acuoso hasta los niveles requeridos por los clientes.

Si bien hasta hace algunos años se empleaban distintos diseños de concentradores, ganaron mercado los evaporadores tipo TASTE, que es acrónimo de Temperature Accelerated Short Time Evaporator (Figura 3.10).

El concentrador tipo TASTE está diseñado para pasteurizar y concentrar jugos cítricos por evaporación al vacío, de hasta 65° Bx y 15°C de temperatura.

El reducido tiempo de residencia del zumo en el interior del concentrador permite conservar sus características organolépticas.

El equipo está compuesto de precalentadores, evaporadores, separadores y enfriador final. La evaporación tiene lugar por calentamiento hasta ebullición al vacío. El vapor que sale de un efecto se emplea para calefaccionar el siguiente efecto y darle continuidad al proceso.

Antes del primer efecto se puede alcanzar una temperatura entre 93°C y 100°C, de modo que el jugo se pasteuriza y se estabiliza enzimáticamente.

Es posible encontrar en el mercado evaporadores TASTE de 4, 5 y 7 efectos. La mayoría de ellos vienen provistos de recuperadores de aromas o esencias, las cuales se obtienen en sus dos fases (oleosa y acuosa).

El jugo concentrado se recibe en tanques de loteo refrigerados donde, una vez alcanzado el volumen previsto, se le ajusta su concentración y contenido de conservantes, si lo solicitara el cliente.

Una vez ajustado, el jugo se envasa en bidones, tambores o bins, según requerimientos comerciales y se aloja en cámaras frigoríficas a -18°C a la espera de su traslado. El traslado del producto se realiza en transportes refrigerados.

El único desecho que genera la etapa de concentración del jugo es la resultante del lavado del concentrador con soda cáustica al 2%, según cronograma establecido por cada fábrica. En algunos casos, se complementa el lavado con solución de ácido fosfórico.



Figura 3.10. Evaporador tipo TASTE. (JBT Corporation - 2009)

#### **3.6.1.8. Recuperación de esencias del jugo**

Durante el proceso de concentración del jugo se produce la evaporación de los constituyentes volátiles presentes.

En general, en el jugo final no debe existir una cantidad superior a 0,015-0,02% en volumen de aceite esencial. Sin embargo el jugo procedente de las extractoras, puede contener más del 0,05%.

El exceso de aceite puede eliminarse (deoiling) por desaireación en caliente y a vacío e incluso por destilación en corriente de vapor y ser recuperado (Hendrix, Redd, 1990, citado por Albaladejo Meroño, 1999).

La cantidad de aceite que se elimina se controla por el “flash” a través de la temperatura y el vacío que se provoca en el separador de vapor.

Los volátiles recuperados durante la obtención de concentrados de jugo se conocen como esencias. Estas esencias se dividen en dos fases, una hidrosoluble y otra liposoluble. La porción hidrosoluble se conoce como aroma o esencia de fase acuosa, y la fracción liposoluble como esencia oleosa, “essence oil”, o esencia de fase oleosa de limón. Ambas fases tienen las notas del aroma características del jugo fresco.

### **3.6.1.9. Deshidratación de cáscara**

El albedo de la cáscara del limón es rico en pectina, sustancia que es requerida en la industria alimenticia, para la preparación de jaleas, mermeladas, helados, etc, por su poder gelificante, espesante y estabilizante. También se emplea en la industria farmacéutica para conferir volumen al principio activo en distintos fármacos.

Químicamente, la pectina es un hidrato de carbono complejo, polímero de unas 800 unidades de ácido D-galacturónico unidos por uniones glicosídicas  $\alpha$ -1,4. Posee grupos carboxilo que pueden esterificarse con metanol. Según el grado de esterificación, se encuentran pectinas de alto metoxilo o de bajo metoxilo. Ambos grupos poseen diferentes propiedades y gelifican bajo condiciones diferentes (Vaclavik, Christian, 2002). Un gel de pectina está constituido fundamentalmente por agua contenida en una red tridimensional de moléculas de pectina.

Para ser comercializada como materia prima para obtener pectina, la cáscara que sale de las extractoras de jugo debe ser deshidratada, etapa que se lleva a cabo en el sector secadero de cáscara.

El primer tratamiento que recibe la cáscara que sale de las extractoras de jugo consiste en reducir su tamaño haciéndola pasar por un molino a martillos o cuchillas. Con esta operación se logra reducir y homogeneizar los tamaños de las partículas de cáscara para que las operaciones posteriores de lavado y secado resulten más eficientes y se entregue un producto más o menos homogéneo.

Después de la reducción de tamaño, la cáscara atraviesa un sistema de lavados, generalmente de tres etapas, impulsada por agitadores helicoidales horizontales con agua en contracorriente.

El propósito principal del lavado es retirar la mayor cantidad de azúcares presentes, los cuales, si se mantuvieran presente en el posterior calentamiento, oscurecerían el producto final, restándole calidad. Con el lavado también se eliminan los ácidos orgánicos que acompañan a la cáscara, los cuales podrían interaccionar con la pectina durante el calentamiento producido por la operación de secado.

Después de las tres etapas de lavado, la cáscara es escurrida y prensada, quedando con una humedad de alrededor del 85%.

Un secador, generalmente del tipo horno rotativo con circulación de aire caliente, deja la cáscara con un  $10 \pm 2\%$  de humedad. Opcionalmente puede instalarse una etapa de presecado, previa al secador rotativo.

A la salida del secador, la cáscara es prensada y envasada en bolsas de 30 kg o 50 kg, según requerimientos comerciales, para luego ser almacenadas o estibadas para su posterior despacho.

Se emplean grandes cantidades de agua en el lavado de cáscara, de tal manera que, hasta hace poco, el efluente de este sector representaba alrededor del 70% del volumen total de efluente generado por la planta industrializadora de limón.

Sin embargo, las empresas de mayor envergadura reportan que, actualmente, este porcentaje se sitúa más cerca del 50% del total de efluente industrial.

Los valores típicos que presenta un efluente de secadero de cáscara se exhiben en la tabla 3.7.

Tabla 3.7. Caracterización del efluente de secadero de cáscara.

Parámetros	Valores promedios
Caudal	2,0-3,5 m <sup>3</sup> /t. limón
pH	3,9
Oxígeno disuelto	4,1 mg/l
Sólidos sedimentables (2 hs)	130 ml/l
Sólidos suspendidos	0,9 g/l
DQO	10 g/l
Aceite residual (máximo)	0,04 g/l

#### 3.6.1.10. Lavado y sanitización de fábrica

Las plantas industriales adoptan diferentes esquemas y métodos para lavar y sanitizar los equipos y líneas de procesamiento. En general, se realiza una operación de limpieza total cada 24 horas o, en algunos casos, cada 36 horas.

Las operaciones de limpieza de fábrica suelen durar entre 60 y 90 minutos, dependiendo de la envergadura de la planta fabril. En algunas plantas este tiempo se prolonga hasta 2,5 horas (Migliavacca, 2011).

En general, se emplean soluciones de hidróxido de sodio al 2% y en algunos equipos, como los evaporadores, soluciones diluidas de ácido fosfórico, teniendo la precaución de enjuagar minuciosamente todas las líneas.

Finalmente, se aplican soluciones diluidas de hipoclorito de sodio y luego se realiza un enjuague final.



La descarga de efluentes del proceso de lavado y sanitización debe estudiarse detenidamente para cada planta y proyectar un tratamiento y disposición adecuada para cada caso. Se recomienda, sobre todo, atender las concentraciones de sodio y de cloro residual, como así también el pH de estas descargas.

### **3.7. Otras alternativas de producción**

Potencialmente, incorporando nuevas tecnologías, el limón podría ser fuente de otros productos.

Entre otros, se pueden citar:

**Hesperidina:** que se puede obtener a través de sucesivos procesos de filtración del jugo crudo, ya sea convencionales o ultrafiltraciones, y a través de resinas de adsorción donde queda retenida la hesperidina. Luego debe ser purificada y cristalizada.

La hesperidina es requerida, por ejemplo, en la industria farmacéutica.

**Semillas:** empleando máquinas convencionales se las pueden separar de los otros productos que la acompañan.

El porcentaje de semilla húmeda es de alrededor del 0,5% de la fruta, dependiendo de las variedades de limón.

De las semillas se pueden obtener sus aceites, muy ricos en ácidos grasos, comparables con los aceites de soja y de algodón.

Como residuo de la extracción de aceite quedaría una torta de elevado valor nutricional.

### **3.8. Tratamientos primarios**

#### **3.8.1. Introducción**

El objetivo principal del tratamiento primario del efluente citrícola es la separación de aquellas sustancias, tales como los sólidos en suspensión o restos de aceites, que pudieran obstaculizar los procesos de tratamiento subsiguientes. Como gran parte de estos son de naturaleza orgánica, su eliminación redundará en una disminución de la DQO.

El aspecto crítico que define el destino de los sólidos separados en las diferentes líneas de producción es la presencia de aceite.

Cuando un desecho semisólido contiene elevada proporción de aceite, como los de la línea de extracción de aceite, se recomienda someterlo a un proceso de destilado para recuperarlo o simplemente separarlo.

Después de la operación de destilado, los restos orgánicos quedan aptos para destinarse a procesos de compostaje en fincas o a elaboración de piensos para alimentación animal.

En Tucumán aún no se extendió una modalidad sistematizada para el aprovechamiento integral de los residuos orgánicos procedentes de la industrialización del limón, que permita verlos como una oportunidad de negocios.

Sin embargo, podrían tomarse como modelo a algunas plantas valencianas que valorizan estos residuos con la obtención de pulpa deshidratada en forma de pellets, bioetanol de segunda generación, D-limoneno y recuperación de agua pura (Citrotecno, 2011).

Otra alternativa biológica que se presenta para el tratamiento de residuos semisólidos libres de aceite es la biodigestión anaeróbica. Ambas opciones biológicas, compostaje y digestión anaeróbica, se desarrollarán en el capítulo siguiente.

Los principales tipos de tratamiento primario aplicables a los efluentes citrícolas se exponen a continuación.

### **3.8.2. Separación sólido-líquido por mallas o tamices**

Las líneas de recepción de fruta y descarte manual generan restos vegetales de hasta 4 o 5 cm, por lo que resulta adecuado, para su separación, el uso de rejillas o placas perforadas de limpieza manual o automática. Estas operaciones no solo permiten el desbaste del efluente sino que, además, protegen de posibles daños y obturaciones a las bombas, válvulas y conexiones posteriores.

Para los efluentes de las líneas de despulpado, dada las características de sus residuos, es adecuado el uso de tamices para la separación de los sólidos en suspensión. Las aberturas de estos oscilan entre 0,2 mm y 6 mm.

Entre todos los diseños de tamices existentes, los de uso más generalizado en esta industria son el estático autolimpiante o parabólico y los de tambor rotativo tipo "regainer trommel".

Los sólidos separados son almacenados en tolvas para luego ser trasladados al campo para compostaje.



Figura 3.11. Modelo de malla para retención de sólidos gruesos.



Figura 3.12. Tamices parabólicos.



Figura 3.13. Tamiz de tambor rotativo tipo regainer trommel

### **3.8.3. Sedimentación o decantación primaria**

#### **3.8.3.1. Sedimentación simple**

La sedimentación consiste en la separación, por acción de la gravedad, de los sólidos en suspensión cuyo peso específico es mayor que el del líquido que los rodea.

Una fracción de los sólidos en suspensión del efluente cítrico, mayormente pulpa y restos de cáscara, tienen la propiedad de sedimentar, aunque también hay una fracción que flota naturalmente.

En aquellas industrias citrícolas que poseen tratamiento por sistema de lagunas, se lleva a cabo un proceso de sedimentación siempre en la primera de ellas, requiriendo una limpieza periódica, tanto de su superficie como del fondo.

#### **3.8.3.2. Precipitación química, coagulación y floculación**

Una variante de la sedimentación consiste en la adición de productos químicos con el fin de alterar el equilibrio de los sólidos, disueltos y en suspensión, para facilitar su posterior eliminación por sedimentación.

En el proceso de coagulación, se produce la desestabilización de las cargas eléctricas de las partículas dejando de actuar las fuerzas de repulsión de manera tal que se aproximen lo suficiente y se produzca su agregación por efecto de acción de masas.

El proceso de floculación consiste en la aglomeración de las partículas desestabilizadas, formando agrupaciones conocidas como "flocs", las que posteriormente sedimentan y se pueden separar.

Para estudiar la efectividad de estos procesos es necesario atender diferentes factores tales como la naturaleza y dosis del coagulante, pH del sistema, tiempo de mezclado, temperatura y agitación.

En un principio fueron muy usados, como coagulantes, el sulfato de alúmina, cal, sulfato de hierro y cloruro de hierro. En la actualidad existen diferentes marcas comerciales de productos coagulantes.

También hay agentes floculantes polielectrolíticos de alto peso molecular, que pueden actuar solos o como coadyuvantes de la floculación. Estos pueden ser naturales, como derivados del almidón, o sintéticos. Entre estos últimos se encuentran polielectrolitos no iónicos, aniónicos y catiónicos.

En la industria local se emplea con mayor frecuencia la lechada de cal. Las plantas que poseen reactores de tipo UASB como parte de su tratamiento biológico suelen agregar, además de cal, otros agentes químicos para favorecer los procesos de separación de sólidos.

Los sólidos separados se pueden espesar en centrífugas tipo “decanter” (Figura 3.14), para luego ser enviados a compostaje, mientras que la parte líquida que sale del “decanter” es recirculada hacia el tratamiento primario.

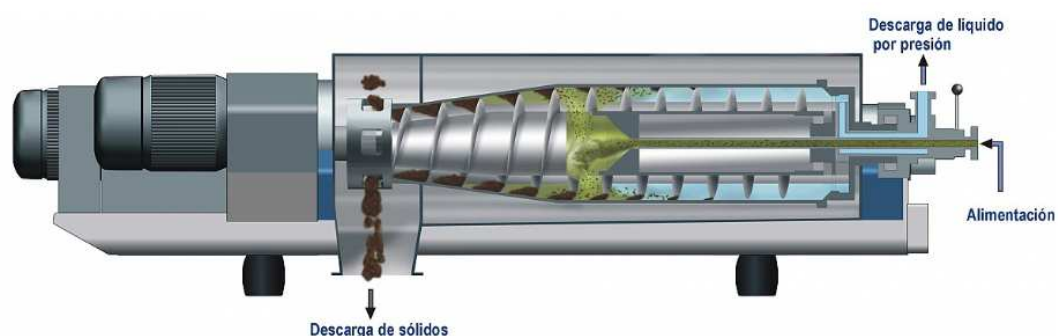


Figura 3.14. Separador sólido-líquido o decanter (Flottweg Separation Technology, 2015).

#### 3.8.4. Flotación por aire disuelto

Esta es una operación que se emplea para la separación de partículas sólidas de una fase líquida. Para ello se introduce, en el flujo de recirculación del efluente, aire a elevadas presiones, del orden de las siete atmósferas, sobresaturándolo respecto a condiciones normales de presión.

Cuando este flujo saturado de aire entra en contacto con el influente a presión atmosférica, se liberan microburbujas de aire, las cuales se adhieren a las partículas promoviendo su rápido ascenso hacia la superficie del líquido. Así, se puede lograr la flotación de partículas de mayor densidad que la del propio líquido y facilitar el ascenso y separación de restos de aceite que serían nocivos en un posterior tratamiento biológico.

Las partículas en flotación pueden ser removidas mediante un rascado superficial.

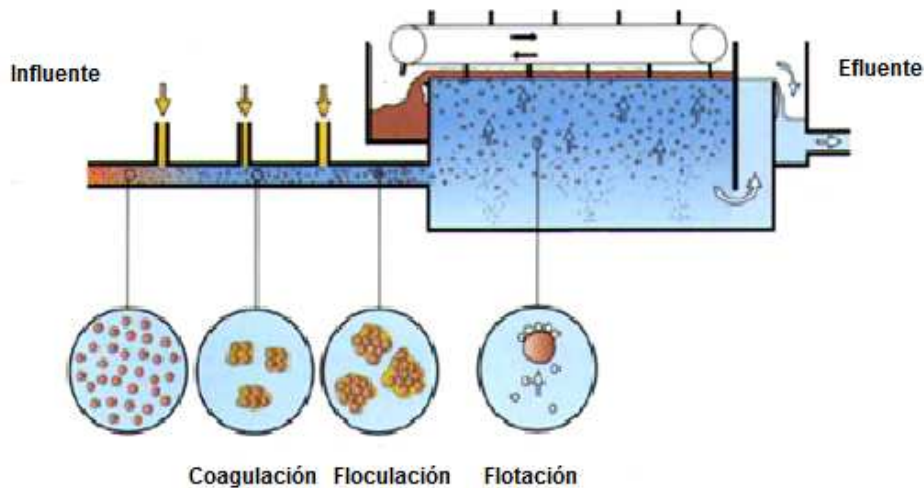


Figura 3.15. Esquema de una planta de tratamiento por flotación con aire disuelto.

### 3.9. Pretratamientos

#### 3.9.1. Introducción

Debido a la presencia de ciertos compuestos refractarios, algunos sustratos orgánicos presentan resistencia a los tratamientos biológicos convencionales. Por ello resulta muy conveniente la revisión y estudio de métodos alternativos que conduzcan a la transformación de estos compuestos en moléculas más accesibles a la oxidación biológica (Gogate, Pandit, 2004).

Para optimizar la biodegradabilidad de los residuos semisólidos industriales puede recurrirse a pretratamientos físicos, químicos y biológicos. Mediante ellos se busca aumentar la superficie específica del residuo para aumentar la eficiencia de la etapa hidrolítica o simplificar las estructuras químicas complejas de los diferentes polímeros por destrucción de sus enlaces químicos (Pavlostathis, 1985; Rajan, 1989).

#### 3.9.2. Pretratamientos físicos

##### 3.9.2.1. Pretratamiento por ultrasonido

Implica el empleo de ondas ultrasónicas con una frecuencia mayor de 20 KHz y de 375 W/h. Estas ondas tienen la capacidad de promover la generación de burbujas de cavitación, fenómeno que engloba la formación, crecimiento y colapso de microburbujas o cavidades, y que tiene lugar en muy pocos milisegundos, liberando gran cantidad de energía (Gogate, Pandit, 2004<sup>a</sup>).

Cada burbuja de cavitación alcanza niveles muy elevados de presión y temperatura, creando condiciones capaces de provocar la ruptura de los enlaces químicos.

El vapor de agua de las burbujas se descompone en átomos de hidrógeno y radicales OH·.

La aplicación de esta tecnología permitiría disminuir el carácter recalcitrante de ciertas moléculas poco biodegradables, además de romper las paredes celulares y liberar el contenido citoplasmático, incrementando así la cantidad de material orgánico disuelto accesible para las bacterias del tratamiento anaeróbico.

Otros trabajos (Rincón, *et al.*, 2006) demuestran también una reducción del tamaño de partículas de entre 41% y 48% después de aplicar 11.000 Kj/KgST y 33.000 Kj/KgST, respectivamente. La eficiencia de esta aplicación está ligada a la energía específica empleada.

Los técnicos promotores de este método citan otras ventajas: eliminación de espumas en los digestores, disminuyendo el problema de malos olores producidos por las mismas, incremento de la producción de biogás y reducción de la concentración de los sólidos y material orgánico presente.

Desde ya, se requieren equipos y condiciones de operación especiales que deben ser estudiadas para cada sustrato.

### **3.9.2.2. Pretratamiento térmico**

Según trabajos de varios autores (Haug, 1978; Li, 1992) el pretratamiento térmico aumenta la digestibilidad de los sustratos con elevados sólidos en suspensión, por solubilización de la DQO insoluble.

En los trabajos de Li y Noike (1992) se investigó el efecto de los pretratamientos térmicos sobre las características de degradación de residuos de lodos activados, en modo batch a escala laboratorio. Se probaron temperaturas entre 62°C y 175°C y tiempos de exposición entre 15 y 120 minutos.

A través de estos pretratamientos, aumentaron la degradabilidad anaeróbica de estos residuos y la producción de gas, a la vez que se redujo el tiempo de retención necesario para la digestión anaeróbica. La temperatura y tiempo óptimos de exposición encontrados fueron de 170°C y 60 minutos, respectivamente.

Según Schieder, *et al.* (2000), al aumentar la presión y la temperatura, la parte orgánica de los residuos se divide en fragmentos de cadena corta que son biológicamente más

adecuados para los microorganismos. De esta manera, la posterior fermentación se desarrolla de manera más rápida y completa que en los procesos de digestión convencionales y se aumenta la producción de biogás. La parte remanente representa una pequeña cantidad de un residuo sólido que puede ser deshidratado y utilizado como aditivo para compost.

El procedimiento es especialmente adecuado para los residuos orgánicos húmedos y biosólidos que son difíciles de compostar, tales como restos de comida, desechos biológicos y lodos de depuradora.

### **3.9.2.3. Pretratamientos mecánicos.**

La reducción del tamaño de partícula por pretratamientos mecánicos, produce un aumento del área específica del sustrato. Considerando que la velocidad de la etapa hidrolítica es influenciada por este factor, se deduce que estas operaciones contribuirán a una mayor accesibilidad del sustrato por parte de las bacterias fermentativas.

Además, si el sustrato proviene de tejidos vegetales, como es el caso de los residuos cítricos, el pretratamiento mecánico favorecerá la ruptura de la pared celular y la liberación de contenido citoplasmático soluble, eliminando obstáculos para la biodegradabilidad.

Uno de los procesos que acontece durante la digestión anaeróbica de residuos semisólidos, y que puede limitar la velocidad de las transformaciones biológicas que se llevan a cabo, es la transferencia de materia desde la fase sólida a la fase líquida en la etapa hidrolítica.

Esta primera etapa admite diferentes modelos cinéticos, aunque es mayormente aceptada la cinética de primer orden (Pavlostathis, Giraldo-Gómez, 1991) cuando se mantienen invariables la temperatura y el pH.

La ecuación que define esta cinética es la siguiente:

$$dS/dt = - k_H S \text{ siendo } S \text{ la concentración de sustrato.}$$

La eficiencia del paso de materia en fase sólida a líquida está afectada por el tamaño de la partícula a digerir. Otros autores (Hobson, 1987) asumen que las enzimas hidrolíticas extracelulares cubren la superficie del sólido a digerir, concluyendo que la velocidad de hidrólisis es proporcional a la superficie y arriban a la siguiente expresión:

$$dM/dt = - k_{SH} A \text{ siendo } M = \text{masa sólido y } A = \text{superficie efectiva de partículas.}$$



### **3.9.3. Pretratamientos químicos**

En general, los tratamientos químicos que preceden a las operaciones biológicas buscan debilitar los enlaces químicos de moléculas resistentes a la degradación o desentramar estructuras complejas, como las que conforman la celulosa, hemicelulosa y lignina en diferentes tejidos vegetales.

Según diferentes autores (Angelidaki, Ahring, 2000), hay variados tipos de álcalis ensayados como así también las dosis empleadas de los mismos. Entre los más usados se mencionan los hidróxidos de sodio, de potasio, de magnesio y de calcio.

El hidróxido de sodio es más eficiente comparado con otros álcalis como, por ejemplo, la cal. Según Pavlostathis (1985), el pretratamiento a temperatura ambiente de residuos de paja de trigo, con 50 mEq/L de hidróxido de sodio, incrementa la biodegradabilidad en más del 100%. Obviamente, aquellos residuos que no contienen lignina, como los provenientes del limón, no se verían favorecidos por estos tratamientos.

### **3.9.4. Pretratamientos enzimáticos o biológicos**

Estos pretratamientos están mayormente orientados a sustratos lignocelulósicos, sobre los que se realizaron diversos estudios, inoculando enzimas específicas capaces de hidrolizar este tipo de material.

También se emplearon distintos tipos de microorganismos, estando entre los más ensayados los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* (Coulibaly, *et al.*, 2003).

Rintala y Ahring (1994) estudiaron la metanización de residuos sólidos domiciliarios con microorganismos termofílicos, tanto en lotes como en experimentos continuos. Además, se ensayaron los efectos de adiciones de xilanasa, lipasa, proteasa y una mezcla de estos.

En los estudios en batch, se utilizaron ensayos comparativos con enzimas activas e inactivas para dilucidar el papel de las enzimas añadidas.

Los resultados mostraron que los residuos eran fácilmente digeribles, generando entre 400 y 590 mlCH<sub>4</sub>g<sup>-1</sup> SV.

Añadiendo solamente proteasa, se notó una actividad metanogénica específica más alta en comparación con la presencia de enzimas inactivas, por autoclave, o sin la adición de enzimas.

El rendimiento de metano en la digestión de estos residuos, tanto en los ensayos por lotes como los estudiados en el reactor, no se incrementó mediante adiciones de mezclas de enzimas.

Charles *et al.* (2009) estudiaron los efectos de una corta pre aireación, que da lugar a un proceso autoenzimático, liberando las enzimas que conducen a un proceso hidrolítico natural, como pretratamiento para la digestión anaerobia termófila de la fracción orgánica de los residuos sólidos municipales. Esta operación genera suficiente calor metabólico para aumentar la temperatura de los residuos hasta unos 60°C. Este autocalentamiento de los residuos fue suficiente para la puesta en marcha de la digestión anaerobia termófila sin la necesidad de una fuente de calor externa. La pre aireación también reduce el exceso de compuestos orgánicos fácilmente degradables, que eran la causa común de acidificación durante la puesta en marcha del sistema en batch.

Mata-Alvarez *et al.* (2000) refieren sobre los efectos de la adición de complejos enzimáticos, constituidos por amilasas, proteasas y lipasas, para mejorar la digestión anaeróbica de aguas residuales y que llegan a agregarse hasta en un 10% de los sólidos totales.

### **3.10. Tratamiento de residuos orgánicos por compostaje**

El compostaje es una técnica de biodegradación de materia orgánica que se lleva a cabo bajo condiciones controladas de humedad, temperatura y aireación, con vistas a su integración al suelo. El producto de este proceso se llama compost (Sztern, Pravia, 1999).

Según la definición práctica de Haug (1993), el compostaje es la descomposición biológica y estabilización de sustratos orgánicos, bajo condiciones que permiten el desarrollo de temperaturas termofílicas como resultado del calor metabólico, para generar un producto final estable, libre de patógenos y beneficioso para aplicar al suelo.

Según Sundberg (2005), este proceso satisface varios propósitos del manejo de residuos, tales como estabilización, reducción de volumen y sanitización por inactivación térmica de patógenos. Además, aporta nutrientes para el crecimiento de las plantas, materia orgánica para el mejoramiento del suelo y agentes que inhiben enfermedades de las plantas.

Dependiendo de la situación topográfica de la planta fabril y de la disponibilidad de terrenos, trasladar los residuos semisólidos citrícolas a playas de compostaje puede

resultar oneroso, sobre todo teniendo en cuenta la elevada cantidad de agua que presentan (alrededor del 90%).

La elevada carga orgánica de estos residuos limita severamente las alternativas de disposición en lagunas de sacrificio, dado que generan olores nauseabundos y proliferación de insectos por la descomposición de la materia orgánica. Además, cuando esta práctica se reitera con frecuencia y durante tiempos prolongados, también se produce la alteración de las características naturales del suelo.

Algunos autores (Ruiz, Flotats, 2014) estiman poco conveniente la puesta en práctica del compostaje de residuos cítricos debido a su bajo pH, a la presencia de aceites esenciales y a la posibilidad de que aparezcan zonas de degradación anaeróbica locales en las pilas de compostaje debidas a la elevada biodegradabilidad de algunos componentes de este residuo.

Como es conocido, las etapas del proceso de compostaje involucran los siguientes pasos (Álvarez de la Puente, 2006):

- Conformación de la pila de compostaje: consiste en mezclar los ingredientes a compostar, ajustando las proporciones para lograr una relación adecuada de carbono y nitrógeno (relación C/N).
- Degradación mesófila: hasta los 45°C se produce una degradación microbiológica de azúcares y aminoácidos.
- Degradación termófila: entre 45°C y 60°C se degradan ceras, polímeros y hemicelulosas por acción de hongos del grupo de los actinomicetos.
- Degradación mesófila de enfriamiento: por debajo de los 45°C, las bacterias y hongos degradan celulosa y lignina.
- Maduración: estabilización del humus a temperatura ambiente, caída del consumo de oxígeno y eliminación de organismos fitotóxicos.

La elevación de la temperatura, producida por el metabolismo microbiano, gobierna las tres etapas de degradación aeróbica descritas anteriormente.

Una operación típica que debe realizarse a los efectos de asegurar la aerobiosis del proceso es la maniobra de volteo de las pilas (Figura 3.16).



Figura 3.16. Proceso de aireación o volteo de la pila de compostaje.

Los parámetros dependientes de la naturaleza del sustrato, tales como la relación C/N, materia orgánica y conductividad eléctrica, deben ser adecuados al inicio del proceso.

El carbono es una fuente de energía para los microorganismos y el nitrógeno es un elemento necesario para la síntesis proteica. Una relación adecuada entre estos dos nutrientes, favorecerá un buen crecimiento y reproducción.

Una relación C/N óptima de entrada, es decir de material "crudo o fresco" a compostar, es de 25 unidades de carbono por una unidad de nitrógeno, es decir C/N igual a 25.

En términos generales, una relación C/N inicial de 20 a 30 se considera como adecuada para iniciar un proceso de compostaje.

Un material que presente una relación C/N superior a 30, requerirá para su biodegradación un mayor número de generaciones de microorganismos y el tiempo necesario para alcanzar una relación C/N final entre 12-15 (considerada apropiada para uso agronómico) será mayor. Si el cociente entre estos dos elementos es inferior a 20 se producirán pérdidas importantes de nitrógeno.

La evolución del pH está regida por la interacción entre los microorganismos y el sustrato que los rodea.

En una pila de compostaje, si bien se dan procesos de fermentación en determinadas etapas y bajo ciertas condiciones, lo deseable es que prevalezcan los metabolismos respiratorios de tipo aerobio, tratando de minimizar los procesos fermentativos y las respiraciones anaerobias, ya que los productos finales de este tipo de metabolismo no son adecuados para su aplicación agronómica y conducen a la pérdida de nutrientes (Sztern, Pravia, 1999).



Figura 3.17. Compost terminado.

### **3.11. Tratamiento anaerobio de residuos orgánicos**

#### **3.11.1. Introducción**

Como se expresó anteriormente, cuando se dispone de los residuos semisólidos a cielo abierto, la materia orgánica puede entrar en descomposición y generar olores nauseabundos, proliferación de vectores infecciosos e infiltración en las napas freáticas, razón por la cual permanentemente se estudian diferentes alternativas para un mejor manejo o tratamiento de este material.

Por ello, además de los procesos de compostaje descritos en el título anterior, se presenta la posibilidad de realizar una biodigestión anaerobia de estos residuos, metodología que permite reducir la carga orgánica y, simultáneamente, generar biogás energéticamente aprovechable.

#### **3.11.2. Principios básicos de la biodigestión anaerobia**

La digestión anaeróbica puede ser considerada como un proceso que tiene lugar en un ecosistema donde diversos grupos de microorganismos actúan interactivamente para convertir la materia orgánica compleja en productos finales, tales como metano, dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno, agua y amoníaco, además de nuevo material celular (Chernicharo, 2007).

El resto de materia orgánica que no se degrada queda como un residuo estabilizado.

El proceso microbiológico de biodigestión anaeróbica se produce en varias etapas, las cuales están representadas en la figura 3.18.

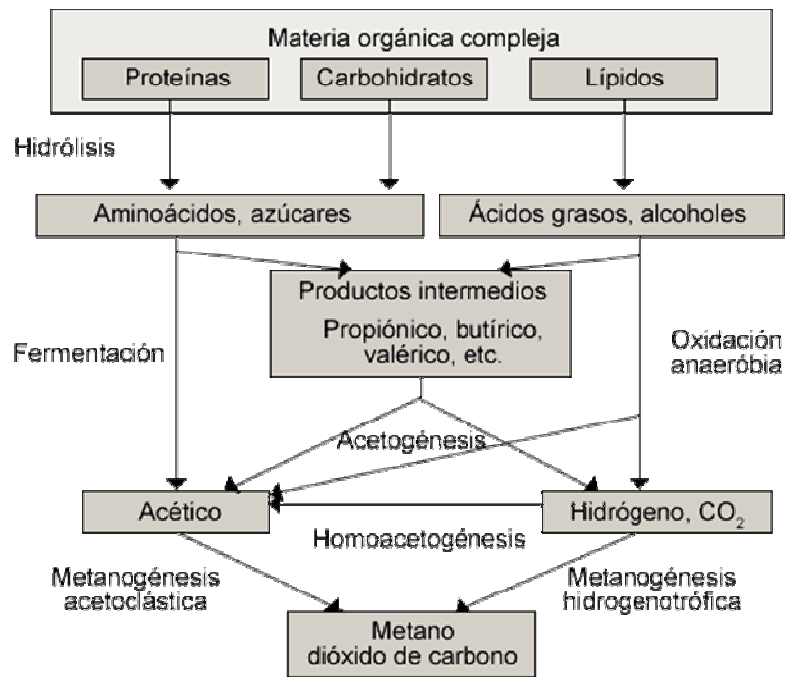


Figura 3.18. Bioquímica de la digestión anaerobia (Pavlostathis *et al.*, 1991).

Los aceptores inorgánicos de electrones, tales como  $\text{SO}_4^{2-}$  y  $\text{CO}_2$ , son usados en los procesos de oxidación de materia orgánica bajo condiciones anaeróbicas. No hay formación de metano en medios donde el oxígeno, nitrato o sulfato están disponibles como aceptores de electrones (Chernicharo, 2007).

La formación de metano tiene lugar en diferentes ambientes naturales como pantanos, tierra, lagunas y en el sistema digestivo de animales rumiantes donde el potencial redox está en torno a los -300 mV.

La digestión anaerobia se lleva a cabo en sistemas ecológicamente balanceados donde las diferentes poblaciones de microorganismos presentan funciones especializadas. La descomposición de la materia orgánica, según Chernicharo, se realiza en dos etapas:

- En la primera, un grupo de bacterias anaerobias y facultativas convierte (mediante procesos de hidrólisis y fermentación) los compuestos orgánicos complejos (proteínas, carbohidratos y lípidos) en compuestos orgánicos más simples como ácidos grasos volátiles (AGV), hidrógeno y dióxido de carbono.
- En la segunda etapa, los ácidos orgánicos y el hidrógeno son convertidos en metano y dióxido de carbono por las bacterias metanogénicas estrictamente anaeróbicas.

Otros autores (Gujer, Zehnder, 1983), subdividen el proceso de la biodigestión anaeróbica en seis etapas, a saber:

1. Hidrólisis de biopolímeros (proteínas, carbohidratos, lípidos)
2. Fermentación de aminoácidos y azúcares.
3. Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes.
4. Oxidación anaerobia de productos intermedios, tales como ácidos grasos volátiles (AGV), excepto acetato.
5. Conversión de acetato a metano.
6. Conversión de hidrógeno a metano.

La hidrólisis de la materia orgánica polimérica compleja se produce por la acción de enzimas extracelulares de carácter lipolíticas, celulolíticas y proteolíticas.

La ruptura de las moléculas grasas complejas se inicia por la acción de lipasas que producen ácidos grasos de cadena larga y glicerol.

La hidrólisis de las proteínas deriva en péptidos y aminoácidos y son generados por la acción de enzimas llamadas proteasas. Algunos de estos aminoácidos se emplean en la construcción de nuevo material celular y el resto es convertido en AGV, amonio, sulfuro, dióxido de carbono e hidrógeno.

Los materiales lignocelulósicos (lignina, celulosa y hemicelulosa) y ciertas ceras resultan difícilmente accesibles al proceso de biodigestión y suele constituir la etapa limitante del proceso de hidrólisis cuando el sustrato es rico en estos componentes.

En resumen, el proceso hidrolítico proporciona sustratos orgánicos solubles aptos para la continuidad del proceso de digestión anaerobio.

La etapa de la fermentación de los carbohidratos solubles, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga genera biomasa, AGV e hidrógeno como principales productos.

Algunos productos de la fermentación, como el hidrógeno y el ácido acético, pueden metabolizarse directamente por los organismos metanogénicos. En cambio, otros compuestos, como etanol, AGVs de más de dos átomos de carbono y algunos compuestos aromáticos, deben ser transformados en acetato e hidrógeno. Para que estas reacciones resulten termodinámicamente favorables, debe haber bajas presiones parciales de hidrógeno en el medio.

En los sistemas microbiológicos donde tiene lugar la digestión anaeróbica existen microorganismos acetogénicos, llamados homoacetogénicos, capaces de crecer heterotróficamente en presencia de azúcares o compuestos monocarbonados, produciendo acetato como único compuesto. Estas bacterias consumen hidrógeno como

sustrato, lo que permite mantenerlo en una baja presión parcial, favoreciendo la actividad de bacterias acidogénicas y acetogénicas. Además pueden coexistir bacterias hidrogenotróficas, que también consumen hidrógeno, y por lo tanto, contribuir a mejorar la performance del proceso.

La etapa metanogénica completa el proceso mediante la formación de metano a partir de hidrógeno y de sustratos de uno o dos átomos de carbono (principalmente acetato, dióxido de carbono, formiato, metanol y algunas metilaminas).

Hay dos grandes grupos de microorganismos que dominan esta etapa: las ya mencionadas bacterias hidrogenotróficas, que consumen ácido fórmico,  $H_2$  y  $CO_2$  y los microorganismos acetoclásticos que consumen acetato, metanol y algunas aminas.

Aproximadamente el 70% del metano proviene de los AGV y el 30% restante a partir de hidrógeno y dióxido de carbono generados en las etapas intermedias.

### **3.11.3. Configuraciones de sistemas anaeróbicos**

Según la carga a tratar, los principales sistemas anaeróbicos para el tratamiento de aguas residuales se clasifican en dos grandes grupos (Chernicharo, 2007):

1. Sistemas convencionales
  - a) Digestores de lodos
  - b) Tanques sépticos
  - c) Lagunas anaeróbicas
2. Sistemas de alta carga
  - a) Con microorganismos fijos
    - I. Reactores de lecho fijo
    - II. Reactores de lecho rotativo
    - III. Reactores de lecho expandido o fluidizado
  - b) Con microorganismos dispersos
    - I. Reactores de dos etapas
    - II. Reactores con cámaras en serie
    - III. Reactores de lecho de lodo ascendente
    - IV. Reactores de lodo granular expandido
    - V. Reactores con recirculación interna

La designación de sistemas convencionales es usada para clasificar reactores que son operados con baja carga orgánica volumétrica y que no presentan mecanismos de retención de biomasa activa.



Los principales aspectos que diferencian a los sistemas convencionales de los sistemas de alta carga son:

- Falta de mecanismos de retención de biomasa activa.
- Prolongados tiempos de retención hidráulica.
- Bajas cargas volumétricas.
- Reactores de volumen considerablemente mayor.

Si bien varias de estas metodologías podrían aplicarse a los residuos generados en la industria citrícola, en esta región de Argentina se difundieron principalmente el uso de los reactores de mezcla continua o completa y los de tipo UASB.

Se pueden enunciar las siguientes ventajas de los procesos anaeróbicos (Chernicharo, 2007):

- Baja producción de sólidos, del orden de 3 a 5 veces menor que en los procesos de digestión aeróbicos.
- Bajo consumo de energía, usualmente asociado a la existencia de una estación de bombeo de influente de bajo costo operacional.
- Bajo requerimientos de superficie de trabajo.
- Costos de construcción relativamente reducidos.
- Producción de biogás, energéticamente valioso.
- Posibilidad de preservación de la biomasa por varios meses, sin necesidad de alimentar el reactor.
- Tolerancia a altas cargas orgánicas, en condiciones controladas.
- Se puede aplicar en bajas y altas escalas.
- Baja necesidad de nutrientes adicionales.

Sin embargo también es necesario considerar algunos aspectos desventajosos de los sistemas anaeróbicos (Chernicharo, 2007), a saber:

- Los microorganismos anaerobios son susceptibles de inhibición por un gran número de compuestos.
- Los procesos de arranque pueden resultar muy lentos en ausencia de inóculos adecuadamente adaptados.
- Usualmente requiere alguna forma de pretratamiento.
- La bioquímica y la microbiología de la digestión anaeróbica es compleja y aún requiere extender su estudio.
- Aunque son relativamente controlables, es posible la generación de malos olores.

- En general, el aspecto del efluente generado no resulta agradable.
- No presenta una remoción satisfactoria de nitrógeno y fósforo.

En el caso de las industrias cítricas tucumanas, la producción de metano a partir de los propios desechos orgánicos industriales, mediante digestión anaeróbica, representa un aspecto muy interesante, toda vez que ellas consumen gas natural, proveniente de fuentes no renovables, para sus procesos de concentración de jugo, principalmente.

Por ello, el estudio de la generación de biogás a partir de sus residuos industriales amerita evaluarse y encontrar los parámetros necesarios para establecer el balance costo-beneficio de su producción y poder reemplazar, al menos en parte, el consumo de gas fósil.

Además, en un contexto regional de búsqueda de alternativas sustentables para la obtención de energía, abordar el estudio de esta tecnología permitirá adquirir la pericia suficiente para proponer este tipo de soluciones en otros ámbitos.

Asimismo, se debe considerar la disminución de la emisión de gases de efecto invernadero (GEI). Si estos residuos se degradaran anaeróbicamente en ambientes abiertos, desprenderían metano hacia la atmósfera, sumando emisiones de GEI.

En cambio, si la degradación se conduce en ambientes cerrados y controlados, como lo es un biodigestor, el metano generado se puede aprovechar energéticamente o simplemente quemarlo en una antorcha, transformándolo en dióxido de carbono, lo cual también resultaría favorable, teniendo en cuenta que éste último gas tiene un poder de efecto invernadero aproximadamente 25 veces menor que el metano (Boucher, *et al.*, 2009).

Con la paulatina reducción de la carga contaminante de los residuos generados, la actividad industrial provincial va adquiriendo mejores desempeños ambientales y la biodigestión anaerobia puede aportarle opciones o herramientas para mejorar la sustentabilidad de la actividad.

Por otra parte, conducir los procesos biológicos en ambientes confinados, bajo parámetros vigilados, disminuye la multiplicación de portadores de enfermedades que se generarían si se los realizara al aire libre y sin observancia.

La biodigestión anaeróbica produce un residuo menos agresivo, donde se espera obtener un lodo residual estabilizado, con un perfil inofensivo, apto para disponerlo controladamente en el suelo.

### 3.11.3.1. Reactores tipo UASB

Los reactores tipo UASB (por sus siglas en inglés: Upflow Anaerobic Sludge Blanket) fueron desarrollados en Holanda por el Dr. Gatzke Lettinga y asociados.

Esta tecnología tiene un amplio abanico de usos, debido a que el tratamiento biológico anaerobio no se limita únicamente a la degradación de aguas residuales de contaminación netamente orgánica (Schmidt, Ahring, 1995).

La aplicación de esta tecnología se expandió al tratamiento de efluentes de la industria química y petroquímica, industria textil, aguas residuales municipales, lixiviados de vertederos y otros.

Aunque los reactores UASB pueden verse como una etapa de pretratamiento, ellos pueden cumplir, parcial o totalmente, algunos de los procesos unitarios requeridos en los sistemas aeróbicos convencionales, tales como sedimentadores primarios, digester de lodos y sedimentadores secundarios (Seghezzi, 2007).

La operación de estos reactores, al igual que en los otros diseños de biodigestores anaerobios, también se basa en la actividad de diferentes grupos de bacterias que transforman la materia orgánica en metano y dióxido de carbono, principalmente.

Como se enunció anteriormente, los microorganismos que participan de este proceso actúan sintróficamente, estableciéndose relaciones simbióticas de alta eficiencia metabólica y presentan, como característica distintiva de los reactores tipo UASB, la capacidad natural de agruparse en forma de gránulos bajo ciertas condiciones físicas, químicas y biológicas (Figura 3.19).



Figura 3.19. Gránulos anaerobios (Hulshoff Pol, *et al*, 2004)

Los gránulos tienen capas concéntricas y cada capa está asociada a una determinada fase degradativa.

Estos arreglos granulares poseen una densidad tal que les permite sedimentar en el digestor o mantenerse en flotación, siempre que el flujo de influente no exceda cierta velocidad ascensional.

De los estudios de Lettinga, *et al.* (1987) y de Zeeuw, *et al.* (1988), se desprende que la naturaleza de efluente a tratar y la hidrodinámica del reactor influyen en la formación y estabilidad del lodo granular anaeróbico.

La formación del lodo anaeróbico granular puede ser considerada la razón más importante del éxito alcanzado por los reactores tipo UASB en el tratamiento de efluentes industriales (Hulshoff Pol, *et al.*, 2004).

Esta generación de reactores presenta una notable capacidad de retención de biomasa, resultando en un mayor tiempo de retención de sólidos que el tiempo de retención hidráulica (Molina, *et al.*, 2008).

Al igual que las otras tecnologías anaeróbicas, presenta la ventaja de producir gas metano, aprovechable como fuente de energía, y una reducida producción de lodo biológico (Chernicharo, 2007).

En los reactores UASB, el influente es alimentado por el fondo del reactor, a través de un sistema que permite distribuir el flujo en toda la superficie de la base, donde se pone en contacto con el lodo.

Todas las etapas de la degradación anaerobia ocurren en el segmento donde se produce el contacto entre los sustratos orgánicos y el manto de lodo, que suele situarse en el tercio inferior del biodigestor (Figura 3.20).

En el sector superior del reactor hay un separador trifásico, gas-sólido-líquido, que permite la salida de líquido efluente y retiene alguna fracción de los sólidos del lodo que lleguen allí arrastrados por la corriente ascensional.

Asimismo, en el interior del reactor se diseñan paneles deflectores o baffles, a los efectos de orientar las burbujas de biogás hacia el separador o hacia una campana recolectora de gas.

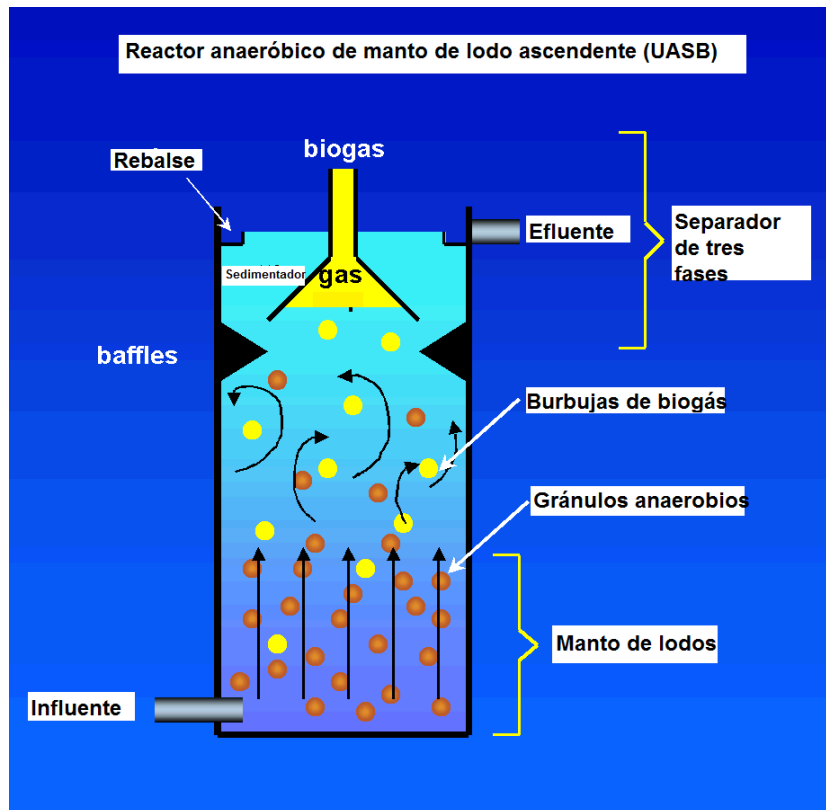


Figura 3.20. Esquema de un reactor UASB (Adaptado de [www.uasb.org](http://www.uasb.org))

En la parte superior del reactor lleva incorporado un sedimentador, situado encima de la campana de gas, donde los sólidos sedimentan y retornan al manto de lodos.

De esta manera se consigue retener y concentrar biomasa con elevada actividad, permitiendo el funcionamiento a alta carga orgánica con buenas eficiencias de remoción de materia orgánica.

Si bien se logran las más altas eficiencias cuando la biomasa activa está en forma de gránulos compactos, no resultan despreciables las remociones obtenidas cuando el lodo es floculento, siempre y cuando mantengan una buena sedimentabilidad.

En definitiva, esta es la característica principal para asegurar la retención de la biomasa sin necesidad de un soporte inerte.

### 3.11.3.2. Teorías sobre el proceso de granulación

Existen numerosas teorías para explicar la formación de los gránulos anaerobios.

En la tabla 3.8 se presenta un resumen de las diferentes teorías según Hulshoff Pol (2004), clasificadas desde los puntos de vista físico, microbiológico y termodinámico.

Tabla 3.8. Teorías sobre la granulación anaeróbica (Hulshoff Pol, *et al.*, 2004)

Enfoque		Autor	Teoría
Físico		Hulshoff Pol <i>et al.</i>	Presión de selección
		Pereboom	Crecimiento sobre sólidos suspendidos colonizados
Microbiológico	Fisiológico	Dolfing	-
		Sam-Soon <i>et al.</i>	Hipótesis Cape Town
	Crecimiento	Wiegant	Teoría del spaghetti
		Chen y Lun	-
	Ecológico	Dubourgier <i>et al.</i>	Puentes de microflocs
		Morgan <i>et al.</i>	Manojos de Methanothrix
		De Zeeuw	Tres tipos de gránulos degradadores de AGV
		McLeod <i>et al.</i>	Multicapa
		Vanderhaegen <i>et al.</i>	-
		Ahn	-
		Wu <i>et al.</i>	Granulación anaeróbica con especies definidas
Termodinámico		Zhu <i>et al.</i>	Formación de núcleos de cristalización
		Thaveesri <i>et al.</i>	Modelo de tensión superficial
		Schmidt y Ahring	-
		Tay <i>et al.</i>	Translocación-Deshidratación de protón

Las teorías físicas del proceso de granulación explican el fenómeno considerando las condiciones físicas dominantes en el reactor, como la velocidad ascensional del líquido y gas, los sólidos suspendidos del efluente o del inóculo y la remoción de excesos de lodos.

Las teorías microbiológicas explican el proceso principalmente basándose en las características de ciertos microorganismos, aunque frecuentemente se integran a los factores físicos previamente enunciados.

Algunos autores estudiaron la granulación desde el punto de vista de las energías involucradas durante la autoagregación, debidas a las interacciones fisicoquímicas, entre paredes celulares o entre paredes celulares y superficies extrañas. Aquí se tienen en cuenta aspectos tales como la hidrofobicidad y la movilidad electroforética.

También se concibe como un factor de granulación la influencia del protón translocado a través de la membrana bacteriana, que causa su energización.

Sin embargo, tal como lo expresa Hulshoff Pol, se advierte que esta clasificación puede no contemplar otras teorías, cuyas características podrían admitir otras clasificaciones.

## A. Teorías físicas

- a) Teoría de la presión de selección (1983): se propuso para fundamentar la continua selección de partículas de lodo que tienen lugar en un reactor UASB y, en contraposición, el lavado que sufren las partículas livianas mientras que los componentes más pesados se mantienen en el reactor.

De esta manera, el crecimiento está limitado a un reducido número de núcleos de crecimiento, que consisten en partículas, orgánicas o inorgánicas, o pequeños agregados bacterianos presentes en el inóculo.

Esta teoría sugiere que la agregación microbiana resulta una efectiva estrategia de protección contra la alta presión de selección generada por el patrón de flujo ascendente. No se produce granulación cuando la presión de selección hidráulica es muy débil.

Hay resultados que muestran que un lodo anaeróbico floculento puede ser convertido en gránulo anaeróbico relativamente activo por mejoramiento de la aglomeración solo por el stress hidráulico (Liu, *et al.*, 2003).

Los primeros agregados suelen ser ligeros, aunque después se tornan más densos por el crecimiento bacteriano tanto interno como externo.

- b) Crecimiento sobre sólidos suspendidos colonizados (1994): Pereboom postula que los gránulos tienen su origen en las finas partículas que se forman durante la fricción y colonización microbiana de los sólidos suspendidos del influente y que el incremento de tamaño del gránulo se debe al crecimiento bacteriano.

Las capas concéntricas observadas podrían deberse a las fluctuaciones de las condiciones de crecimiento durante la agregación.

También conjetura que la turbulencia del reactor, que genera fuerzas de corte, no tendría efecto sobre la distribución de tamaño de los gránulos ya que no los desintegrarían (solo los erosionarían). Este desgaste sería el responsable de la pérdida de biomasa en el efluente. Este autor expresa que la distribución de tamaños en el reactor se debe al desarrollo que los conduce de ser pequeñas partículas hasta llegar a grandes gránulos.

## B. Teorías microbianas

Dentro de este marco teórico, el factor crítico en el fenómeno de granulación es la producción de polímero extracelular de ciertos microorganismos que se produce bajo determinadas condiciones.

- a) Hipótesis de la población por capas: aquí se postula que la granulación depende de la bacteria *Methanobacterium* AZ, la cual usa H<sub>2</sub> como única fuente de energía y puede generar todos sus aminoácidos, excepto cisteína (Sam-Soon, 1987). Si hubiera amonio disponible se producirán otros aminoácidos, los que esta bacteria puede segregar como polipéptidos extracelulares, enlazando las *Methanobacterium* AZ y otras bacterias para formar los gránulos.

No se descarta que otras bacterias tengan similar comportamiento y que también contribuyan al proceso.

- b) Teoría del spaghetti (1987): la propuso Wiegant trabajando con efluentes acidificados y cepas de *Methanothrix*. Este autor divide a la formación del gránulo en dos fases:

- I. Formación de precursores: en lo que se considera el paso esencial, *Methanothrix* forma pequeños agregados debidos a la turbulencia del gas o a las partículas dispersas. La concentración de sólidos suspendidos no debe ser demasiado elevada para que el crecimiento de los agregados no sea lento. Aumentando la velocidad ascensional se seleccionan los agregados.

- II. Crecimiento de los gránulos a partir de estos precursores: el agregado puede crecer debido a la multiplicación celular de las bacterias entrampadas en su interior. El flujo ascensional contribuiría a darle esfericidad a la estructura.

En esta fase, los gránulos aún presentan una apariencia filamentosa como una bola de spaghettis formada por los largos filamentos de *Methanothrix*.



- c) Crecimiento del núcleo microbiano (1993): Jian y Shi-Yi (1993), postularon también dos etapas en el proceso de granulación (I: formación de un núcleo y II: crecimiento del núcleo en el gránulo). Aquí, tanto *Methanothrix* como *Methanosarcina* se consideran como organismos responsables de la formación del núcleo. El primero por su capacidad de adherencia y el segundo por su capacidad de crecimiento en los agregados debido a la secreción de polímeros extracelulares a los cuales *Methanothrix* puede adherirse.

Se asigna a la presión de selección el factor que impulsa a la formación del núcleo. Durante la segunda etapa, donde el núcleo crece hasta ser un gránulo, varias otras bacterias, de crecimiento sintrófico con las metanógenas, juegan un papel importante.

- d) Puentes de microflocs (1987): esta teoría, enunciada por Dubourgier *et al.*, sugiere que la granulación se inicia con la envoltura de colonias de cocos y bacilos (bacterias acidogénicas) por filamentos de *Methanothrix*, formando microflocs de 10 a 50  $\mu\text{m}$ . Posteriormente, estos filamentos forman puentes entre microflocs conformando gránulos más grandes ( $>200 \mu\text{m}$ ).

El desarrollo de las bacterias acidogénicas y sintróficas favorece el crecimiento de los gránulos.

- e) Manojos de *Methanothrix* rodeado por polímero extracelular (PEC) (Morgan *et al.*, 1991): aquí se plantea que el precursor de los gránulos es un pequeño agregado de *Methanothrix* y otras bacterias envueltos en una matriz de PEC.

- f) Tres tipos de gránulos degradadores de AGV (de Zeeuw, 1980): esta teoría propone a *Methanothrix* y *Methanosarcina* como géneros protagonistas del proceso de granulación, observados a partir de experiencias de laboratorio usando AGV como sustrato, donde se produce el desarrollo de tres tipos de gránulos característicos.

- g) Modelo de capa múltiple (1990): MacLeod *et al.*, (1990) postulan que la composición microbiológica de los gránulos es diferente en cada capa.

La más interna contiene principalmente bacterias metanógenas, las que necesariamente deben actuar como centros de nucleación para iniciar el desarrollo del gránulo.

La segunda capa estaría formada por bacterias productoras y consumidoras de hidrógeno, mientras que, en la capa más externa, se sitúan una mezcla de bacilos, cocos y bacterias filamentosas (Liu *et al.*, 2003).

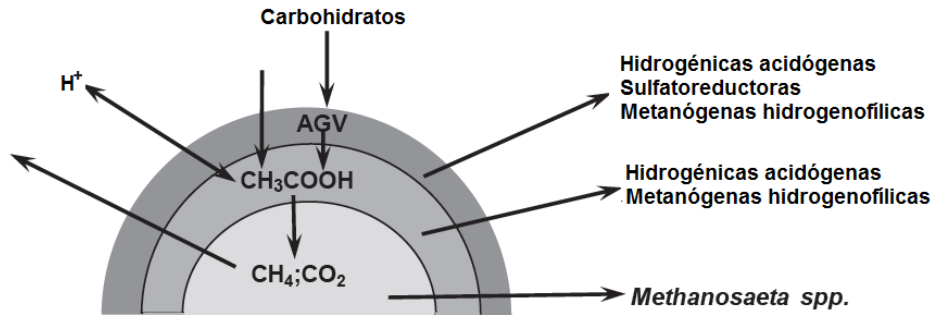


Figura 3.21. Modelo de gránulo de capa múltiple (Adaptado de Guiot y Paus – 1992)

### C. Teorías termodinámicas

- a) Modelo de cuatro etapas para la formación de gránulos y biopelículas (Schmidt, Ahring, 1995): estos autores sugieren que el proceso de granulación en reactores UASB sigue los cuatro pasos de formación de biofilm:
  - i. Transporte de células a la superficie de algún material inerte no colonizado o a otra célula (sustrato).
  - ii. Adsorción reversible inicial al sustrato por fuerzas fisicoquímicas.
  - iii. Adhesión irreversible de las células al sustrato por apéndices microbianos o polímeros.
  - iv. Multiplicación de las células y desarrollo de los gránulos.
- b) Modelo de tensión superficial (Thaveesri *et al.*, 1995): aquí se describe la adhesión de bacterias presentes en el consorcio anaeróbico de un reactor UASB considerando que el mayor valor de energía libre de adhesión resulta cuando la tensión superficial pasa por un máximo o por un mínimo.
- c) Teoría de la translocación-deshidratación de protones (Tay *et al.*, 2000): está basada en la actividad de translocación de los protones en la membrana bacteriana y se postulan cuatro pasos:
  - I. Deshidratación de la superficie bacteriana.
  - II. Formación del gránulo embrionario.
  - III. Maduración del gránulo.
  - IV. Post-maduración.

### 3.11.4. Controles en reactores anaeróbicos

Según Chernicharo (2007), el éxito en la operación de cualquier reactor anaerobio está asociado a un adecuado programa para el arranque y para la fase estacionaria, resaltando tres tipos de controles a realizar:

- a) Eficiencia del reactor: radica en determinar si su comportamiento es consistente con su diseño, en términos de eficiencia de remoción de compuestos indeseables (sólidos suspendidos, materia orgánica, patógenos) por determinación de la concentración de estos a la entrada y a la salida del reactor.
- b) Estabilidad: consiste en detectar si el proceso de fermentación acidogénica prevalece sobre la fermentación metanogénica, mediante mediciones de pH, alcalinidad, AGV o razón alfa. Además, un súbito incremento en la proporción de CO<sub>2</sub> en el biogás también es indicador de operación inestable.
- c) Cantidad y calidad de lodos: la cantidad de lodos se determina por medición de sólidos volátiles o sólidos suspendidos volátiles, mientras que la calidad del mismo se puede evaluar midiendo AME, estabilidad, índice volumétrico y sedimentabilidad.

#### 3.11.4.1. Variables a observar en la marcha de reactores anaerobios.

##### a) Carga orgánica y tiempo de retención.

Una variable de operación crítica es la cantidad de sustrato por unidad de tiempo a ingresar en el sistema, mencionada también como velocidad de carga orgánica (VCO).

El desarrollo de biomasa activa en el reactor está influenciado tanto por la concentración del sustrato en el medio, como por la velocidad a la que es suministrado.

Si la concentración de sustrato es muy baja los microorganismos la utilizarán solo para su metabolismo basal (mantenimiento de la población existente) sin que aumente su número.

Ahora, si la concentración de sustrato es excesivamente elevada la población será insuficiente para degradar el sustrato y se producirán periodos de latencia.

El tiempo de residencia hidráulico (TRH) se define como el tiempo que permanece el sustrato en un reactor y se calcula con la siguiente expresión:

$$TRH = \frac{V_r}{Q_i}$$

Donde

$V_r$ : volumen del reactor.

$Q_i$ : caudal de ingreso del sustrato o influente.

El tiempo de residencia celular (TRC) es el tiempo medio de permanencia de los microorganismos en el sistema.

La velocidad de carga orgánica (VCO) se expresa en cantidad de materia orgánica, indicada como DQO o como SV, por unidad de volumen del reactor y por unidad de tiempo ([gDQO/L.d] o [gSV/L.d]).

Resulta importante mantener una concentración elevada de microorganismos activos en el reactor. Como su velocidad de crecimiento es baja, es apropiado desarrollar elevados tiempos de residencia de sólidos. Este razonamiento sirvió de guía para evolucionar hacia el diseño de digestores anaerobios en los que se fomenta la adhesión microbiana sobre soportes inertes en el interior del reactor.

La eficiencia del proceso de biodigestión anaerobia tiene una dependencia crítica con el tiempo de retención de células, ya que si éste es muy corto, será reducido el contacto entre microorganismos y sustrato y, por ende, será baja la degradación de la materia orgánica presente.

Simultáneamente, si el tiempo de residencia se hace menor que el tiempo de duplicación de las principales especies metanogénicas se producirá la desaparición de las mismas por lavado del reactor. De aquí se desprende también que, dado que el metabolismo bacteriano se estimula a temperaturas óptimas, el tiempo de retención también estará influenciado por la temperatura.

El control de la velocidad de carga orgánica debe ser preciso, ya que una sobrecarga acarrearía las siguientes consecuencias:

- a) Mayor actividad hidrolítica, con el consiguiente aumento de la concentración de  $H_2$  y  $CO_2$  en el biogás.
- b) Si se supera la capacidad máxima de asimilación de las bacterias metanogénicas se producirá acumulación de ácidos grasos volátiles (AGV).
- c) El aumento de la concentración de AGV traerá como consecuencia un mayor consumo de bicarbonato y una disminución de la alcalinidad.
- d) Se podría estimular la síntesis de ácidos grasos volátiles de cadena larga, que resultan más tóxicos que los de cadena corta.
- e) Se reduciría la capacidad buffer del sistema, con el consiguiente descenso del pH, aumento de la concentración de AGV no disociados (la forma más tóxica), lo

que bloquearía la actividad de las bacterias metanogénicas hasta el punto de detener el proceso.

La acidificación del reactor suele producirse gradualmente y es posible recurrir a análisis de laboratorio para diagnosticarla, como la medida de la relación de alcalinidades o relación alfa. Esto permite adoptar medidas para evitar el desequilibrio del proceso, tales como disminución o suspensión de la alimentación, adición de álcalis, reinoculación de microorganismos activos, etc.

## **b) Temperatura**

Las actividades metabólicas de los microorganismos son dependientes del pH, de la disponibilidad de agua y de la temperatura (Madigan *et al.*, 1997).

Las transformaciones que ellos producen en los sustratos requieren, en general, más energía cuando menor es la temperatura externa. Por esta razón los procesos serán más veloces a mayor temperatura.

De acuerdo a las temperaturas en las cuales se desarrollan, los microorganismos se clasifican en tres grandes grupos:

- Psicofílicos: temperatura < 15°C.
- Mesofílicos: 15°C < temperatura < 45°C, con un óptimo a 35°C.
- Termofílicos: 50°C < temperatura < 80°C, con un óptimo a 55°C.

En lo que se refiere a la biodigestión anaeróbica, la temperatura es un parámetro de operación clave, que tiene incidencia en la tasa de reacción enzimática y en la tasa de difusión de sustratos (von Sperling, Chernicharo, 2006).

En cada rango de temperatura señalado existe una temperatura óptima en la que se alcanza la máxima actividad fisiológica, lo que se traduce en una máxima eficacia de degradación de materia orgánica.

Por ejemplo, para temperaturas inferiores al óptimo del rango mesofílico se produce una disminución de la eficacia del proceso degradativo hasta hacerse prácticamente nulo por debajo de los 10°C. De acuerdo con Henze y Harremöes (1983) la tasa de crecimiento máximo decrece un 11% por cada grado centígrado, para digestores anaeróbicos operados a temperaturas inferiores a 30°C.

### **c) Nutrientes**

El 95% del peso seco de la célula bacteriana está constituido por C, H, O, N, S, P, K, Ca, Fe y Mg, por lo que el sustrato a tratar debiera contar con todos estos elementos.

Van Haandel y Lettinga (1994) comprobaron que las bacterias metanogénicas poseen una concentración de hierro, cobalto y níquel superior a otras bacterias.

Sin embargo, los principales nutrientes a controlar en el proceso de biodigestión anaeróbica son el nitrógeno y el fósforo ya que el resto de ellos suele estar proporcionado por la materia orgánica a digerir.

A diferencia de los requerimientos nutricionales de los microorganismos aerobios, los anaerobios son menos exigentes debido a la menor síntesis celular, pues la cantidad requerida de cada nutriente es proporcional a la biomasa formada.

El nitrógeno es necesario para la síntesis de aminoácidos, ácidos nucleicos y lípidos, principalmente.

El fósforo está presente en ácidos nucleicos, fosfolípidos, nucleótidos, cofactores, etc.

El azufre se encuentra en algunos aminoácidos, como cisteína y metionina, y vitaminas.

Además, es necesaria la presencia, en cantidades trazas, de micronutrientes como Mn, Zn, Co, Mo, Ni y Cu, aunque éstos, generalmente, vienen acompañando a la materia orgánica a degradar por lo que no requiere proveerlo en forma artificial.

Torres *et al.* (2004), trabajando en reactores anaeróbicos y administrando dosis de 4,83 mg/L de FeCl<sub>3</sub>, lograron estimular el crecimiento de bacterias metanogénicas y su actividad.

Los microorganismos también requieren pequeñas concentraciones de ciertos compuestos que no pueden sintetizar por sí mismos. Son los llamados factores de crecimiento, dentro de los cuales podemos mencionar purinas y pirimidinas para la síntesis de ácidos nucleicos, aminoácidos esenciales, para la elaboración de ciertas proteínas, y vitaminas que son parte o la totalidad de cofactores enzimáticos.

En el caso particular de los residuos semisólidos de la industrialización del limón, las relaciones C/N son elevadas, a veces del orden de 50 a 55, por lo que es esperable que el proceso de degradación no se conduzca con la mayor eficiencia.

La eliminación de dióxido de carbono durante una biodigestión efectiva reduce la relación C/N hasta valores entre 12 y 18, lo que lo constituiría en un material apto para aplicar en suelos, al menos en lo que a lo nutricional se refiere.

#### **d) Inhibidores**

Existen sustancias que pueden causar inhibición en el proceso de biodigestión. Algunas de ellas pueden ser nutrientes o sustratos en baja concentración, que se transforman en tóxicos a concentraciones más elevadas.

Otras sustancias inhibitoras pueden incorporarse por desfasajes, ineficiencias o fallas de un determinado proceso industrial, lo cual produce la fuga accidental del inhibidor hacia la corriente de alimentación de un biodigestor.

En resumen, los inhibidores pueden aparecer en el reactor en las siguientes circunstancias:

- a) Generados como productos intermedios ( $H_2$ , AGV y  $H_2S$ ).
- b) Ingresando accidentalmente al proceso, como oxígeno u otros tóxicos.
- c) Ingresando junto a la alimentación habitual, como aceites, metales pesados, sulfatos, etc.

A continuación se mencionan algunos de los inhibidores más estudiados:

- i. Nitrógeno amoniacal: esta especie está presente en aquella materia orgánica rica en proteínas y aminoácidos. Durante la biodigestión anaerobia es metabolizado a ión amonio. El amonio es un nutriente importante para el crecimiento hasta unos 200 mg/L. No obstante, altos niveles del mismo en el medio inhiben el metabolismo metanogénico.

No hay un claro consenso entre los investigadores sobre el nivel de amoníaco que resulta tóxico. Por ejemplo, Zeeman *et al.*, (1985) reportó inhibición a 1700 mg/l, a 50°C, mientras que Hashimoto (1986) encontró inhibición a los 2500 mg/l en reactores mesofílicos y termofílicos.

Por el equilibrio químico, valores elevados de pH favorecen el aumento de la concentración de amonio. Su toxicidad se debe a la forma no ionizada (amoníaco). La concentración a pH 8 es diez veces superior a la concentración a pH 7. La toxicidad del amoníaco es reversible. (Field, 2002).

En general, los residuos citrícolas no alcanzan valores de nitrógeno que puedan comprometer el proceso de biodigestión anaeróbica.

- ii. Metales pesados: la severidad de la inhibición por metales pesados, en la digestión anaeróbica, depende de la especie metálica y de su concentración soluble (Mueller, Steiner, 1992), por lo que la combinación química con aniones

como carbonatos o sulfuros, cuya solubilidad es baja, disminuye el nivel de toxicidad.

A su vez, como la disociación de estas sales dependen del pH, su grado de inhibición también dependerá del pH.

Su toxicidad radica en la disrupción en las estructuras enzimáticas intracelulares o en el reemplazo del átomo metálico de grupos prostéticos enzimáticos (Mudhoo, Kumar, 2013). La concentración de metales pesados inhibitoria del 50% de la actividad metanogénica varía entre 30 mg/L y 300 mg/L (Field, 2002).

Los procesos involucrados en la industrialización del limón no requieren el aporte de sustancias que contengan niveles peligrosos de metales pesados, por lo que no se los detectan en los residuos generados.

- iii. Sulfato: su reducción requiere menos energía que la producción de metano, por lo que las bacterias reductoras de sulfato competirán exitosamente con las bacterias metanogénicas por sustratos como  $H_2$  o  $CO_2$  (Oude Elferink *et al.*, 1994). Luego, el sulfato puede metabolizarse a sulfuro, el cual inhibe la producción de biogás parcial o totalmente, dependiendo de la concentración.

En realidad, la especie tóxica capaz de atravesar la membrana celular es la forma no ionizada ( $H_2S$ ) (Speece, 1983). En ese estado de disociación inhibe el 50% de la actividad metanogénica a una concentración de 250 mg/l, aproximadamente (Koster *et al.*, 1985).

Sin embargo, las bacterias metanogénicas pueden adaptarse a la toxicidad por  $H_2S$  (Field, 2002).

En los residuos cítricos, en general, el contenido de sulfato no alcanza valores que, al metabolizarse, provoquen inhibición.

- iv. Cationes: todos los cationes pueden resultar tóxicos en determinadas concentraciones. Esta toxicidad aumenta con el peso molecular del catión. Por eso los metales pesados son más tóxicos a menor concentración. La toxicidad es menor cuando el ingreso en el reactor es gradual.

En las plantas industrializadoras de limón la limpieza periódica de los equipos se realiza con solución de hidróxido de sodio al 2%, por lo que es recomendable separar las aguas de lavado, evitando elevar el contenido de sodio en el efluente a tratar.



En la siguiente tabla se exhibe la concentración de iones que inhibe el 50% de la actividad metanogénica a pH 7 y 35°C (Kugelman, McCarty, 1965).

Tabla 3.9. Concentración de iones para una inhibición del 50% de la actividad metanogénica

ION	Concentración 50% inhibitoria [mg/L]
Na <sup>+</sup>	7600
K <sup>+</sup>	6100
Ca <sup>++</sup>	4700
Mg <sup>++</sup>	1930

- v. Ácidos grasos volátiles (AGV): son tóxicos en su forma no ionizada, lo cual está afectado por el pH del medio. De hecho, los AGV no son tóxicos a pH superiores a 7 (Field, 2002).

La inhibición metanogénica causada por la combinación de AGV y bajo pH, alrededor de 5, es reversible.

En los ensayos de biodigestión anaeróbica de residuos cítricos se aconseja monitorear los valores de AGV, ya sea directamente con mediciones cromatográficas o por destilación. También puede emplearse, para su monitoreo, la determinación de la razón alfa, que consiste en la medición de alcalinidades a dos valores de pH.

- vi. Ácidos grasos de cadena larga: estos son más tóxicos que los AGV y son sinergizados por estos (Koster, Cramer, 1986).
- vii. Detergentes: es importante tenerlos en cuenta en aquellas plantas que los usan para la limpieza. Causan una inhibición metanogénica cuando alcanzan una concentración de entre 20 y 50 mg/L (Caicedo Messa, 2006).
- viii. Aceites esenciales: el aceite esencial de limón es una mezcla de varias sustancias químicas que incluyen terpenos, sesquiterpenos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ácidos orgánicos, ésteres y otros residuos no volátiles y residuos cerosos, siendo el D-limoneno el compuesto más abundante, en una concentración que oscila entre el 65% y el 80%.

Se sabe que el D-limoneno, y otros compuestos presentes en el aceite esencial, presentan efectos inhibitorios para el crecimiento bacteriano (Sarmiento Guerra *et al.*, 2012; Chueca *et al.*, 2014).

Como típicas sustancias lipofílicas, ellas atraviesan la pared celular y la membrana citoplasmática, afectando las capas de polisacáridos, ácidos grasos y fosfolípidos permeabilizándola (Bakkali *et al.*, 2008). Esto trae como consecuencia, pérdida de iones, reducción del potencial de membrana, colapso de la bomba de protones y depleción del pool de ATP (Knobloch *et al.*, 1989).

Por lo tanto, la actividad antimicrobiana del aceite esencial dependerá de la concentración y naturaleza química de sus principales constituyentes. Por ejemplo, los compuestos fenólicos tienen un fuerte efecto antimicrobiano, debido principalmente al grupo oxhidrilo, aunque el anillo fenólico también puede tener un rol significativo. Mientras que, en los compuestos no fenólicos, el efecto antimicrobiano está influenciado por el tipo de grupo alquilo. Por ejemplo, el limoneno, con un grupo alquenoil, es más activo contra los microorganismos que el p-cimeno, que presenta un grupo alquil (Ruiz, Flotats, 2014).

El limoneno en particular, presenta actividad inhibitoria tanto para las bacterias metanogénicas como para las hidrolíticas y acidogénicas (Castillejos *et al.*, 2006).

Si bien es aceptable pequeñas ineficiencias en la recuperación industrial del aceite esencial del limón, es preciso cuidar que la magnitud de las pérdidas, accidentales o por ineficiencias, no alcance un nivel tóxico para el tratamiento biológico anaeróbico posterior.

- ix. Sales de amonio cuaternario: las sales de amonio cuaternario son ampliamente usadas como desinfectantes en diferentes etapas de los procesos industriales agroalimentarios por lo que reúne los méritos para ser estudiadas desde el punto de vista de su toxicidad frente a los sistemas biológicos de tratamiento.

Estas sales se pueden elaborar por síntesis química haciendo reaccionar el amoníaco con haluros de alquilo, por ejemplo yoduro de metilo, generándose una mezcla de aminas primarias, secundarias y terciarias. Utilizando un exceso de reactivo, puede obtenerse la correspondiente sal de amonio cuaternario con cuatro grupos orgánicos unidos al átomo de nitrógeno. (Seyhan, 2000).

Los compuestos de amonio cuaternario actúan sobre los microorganismos Gram positivos y negativos. Además de bactericidas, son también fungicidas y virucidas.

La acción biocida de este producto se debe a su ingreso a través de la pared de la membrana celular de los microorganismos y la posterior desnaturalización e

inactivación de proteínas esenciales para el microorganismo en el citoplasma, (Merianos, 2001).

Se postula también que algunos de estos compuestos pueden descomponer el mecanismo de transporte activo de nitrógeno y fósforo a través de la membrana.

Las sales de amonio cuaternario se aplican como desinfectantes en la industria, en una concentración que varía entre 100 ppm y 250 ppm.

La solución de amonio cuaternario tiene un tiempo limitado de actividad y debe renovarse diariamente, descartándose el sobrante de la preparación anterior.

En caso de dirigirse accidentalmente esta corriente hacia un sistema de tratamiento biológico de efluentes, puede provocarse la inactivación de los microorganismos del biorreactor.

#### **e) Tamaño de partícula**

En el caso de la digestión de los residuos semisólidos, la etapa hidrolítica puede ser la fase limitante (Palmowski, Müller, 2000). Aquí se produce la transferencia de materia de las partículas sólidas al medio líquido en fermentación.

La velocidad de pasaje de la materia orgánica particulada a la fase líquida soluble está íntimamente relacionada con la granulometría del residuo. Si se logra reducir el tamaño de partícula del sustrato, se aumenta la superficie específica y se optimiza el proceso biológico. También, la reducción del tamaño de partícula facilita el posterior manejo del lodo residual del proceso de biodigestión.

#### **f) Grado de mezcla**

La eficiencia de la interacción entre los microorganismos y el sustrato es altamente dependiente del grado de mezcla. Cuando ésta es óptima se agilizan los procesos de transferencia de materia y se consiguen valores uniformes de concentración y temperatura.

También es necesario advertir que, en el caso del inicio de la digestión de residuos semisólidos, la formación de las primeras colonias que actúan de forma coordinada en ubicaciones puntuales de la masa de residuo puede verse perturbado por una agitación excesiva que puede provocar la ruptura de los consorcios microbiológicos establecidos.

Sin embargo, se requiere cierto grado de agitación del contenido del digestor tal que permita asociar diferentes poblaciones microbianas distribuidas en diferentes espacios del reactor (Stroot *et al.*, 2000).

En el caso del tratamiento biológico de residuos semisólidos citrícolas, el grado de mezcla constituye un aspecto de suma importancia por lo que se aconseja acudir a un reactor de tipo CSTR, con incorporación de un sistema de mezclado mecánico, si se desea alcanzar un proceso de cierta eficiencia.

### **3.12. Tratamiento de efluentes por sistema de lagunaje**

Los sistemas de lagunaje constituyen una de las alternativas más simples para el tratamiento biológico de efluentes. Entre los aspectos fundamentales del proceso de tratamiento que se lleva a cabo en las lagunas de estabilización se pueden citar los siguientes:

- Constituye un proceso natural de autodepuración.
- La estabilización de materia orgánica tiene lugar por la acción simbiótica de bacterias, algas y otros organismos superiores.
- Tienen lugar determinados procesos físicos de remoción de materia suspendida.
- Cuando están bien operadas se mantienen las condiciones adecuadas para que los organismos puedan realizar la estabilización, transformación y remoción de contaminantes orgánicos biodegradables y, en algunos casos, de nutrientes.
- Se establecen cadenas tróficas y redes de competencia que permiten la eliminación de microorganismos patógenos.

Existen numerosas variantes de sistemas de lagunas de estabilización con diferentes niveles de complejidad. En general, las lagunas de estabilización son recomendadas para las áreas rurales de climas cálidos debido a los siguientes aspectos (Von Sperling, Chernicharo, 2006):

- Disponibilidad de terrenos
- Clima favorable (altas temperaturas y luz solar)
- Operación simple
- Poco o nulo requerimiento de equipos

Tienen la ventaja de que no requiere una atención permanente, no consume energía y sus costes operativos y de mantenimiento son reducidos.

Una de sus mayores desventajas es la necesidad de contar con amplias superficies de terreno. Son sensibles a las variaciones climáticas, sobre todo a las bajas temperaturas, que reducen la eficiencia de remoción de materia orgánica, y a las lluvias que pueden producir la colmatación de su volumen. Además, tiene altas probabilidades de desarrollar malos olores y permitir la proliferación de insectos.

A continuación se enuncia una breve descripción de los principales sistemas de lagunas de estabilización (Von Sperling, Chernicharo, 2006):

- Lagunas facultativas: la DBO soluble o finamente particulada es estabilizada aeróbicamente por bacterias que crecen dispersas en el medio líquido, mientras que la DBO en suspensión tiende a sedimentar, siendo convertidas anaeróbicamente por las bacterias presentes en el fondo de la laguna.

El oxígeno requerido por las bacterias aeróbicas es provisto por algas a través de sus procesos fotosintéticos. Se requieren amplias extensiones de terreno.

- Laguna anaeróbica-facultativa: alrededor del 50% al 70% de la DBO es convertida en la laguna anaeróbica (más profunda y de menor volumen), mientras que la DBO remanente es removida en la laguna facultativa. Este sistema ocupa un área más reducida que aquella ocupada por una laguna facultativa simple.
- Laguna facultativa aereada: los mecanismos de remoción de DBO son similares a los de las facultativas simples, pero el oxígeno es aportado por mecanismos aereadores en lugar de la fotosíntesis.
- Laguna completamente aereada-laguna de sedimentación: incorpora elevadas cantidades de energía por unidad de volumen de laguna, causando que los sólidos (biomasa principalmente) se mantengan dispersos en el medio.

La elevada concentración de biomasa del medio incrementa la eficiencia de remoción de DBO, lo que permite a estas lagunas ser diseñadas con un volumen menor que una laguna facultativa aereada. De todas maneras, el efluente contiene altas cantidades de sólidos (bacterias) que deben ser removidos antes de descargarse en el cuerpo receptor. La laguna de sedimentación posterior provee las condiciones para la sedimentación de estos sólidos. A su vez, estos deben ser removidos de la laguna cada cierta cantidad de años.

- Lagunas de maduración: su principal objetivo es la eliminación de microorganismos patógenos. En estas lagunas prevalecen condiciones adversas para ellos, tales como radiación UV, elevado pH, temperaturas más bajas que la del tracto intestinal, escasez de nutrientes y predación por otros microorganismos.

## 4. METODOLOGIA Y DESCRIPCIÓN DE ENSAYOS

### 4.1. Determinaciones analíticas

Para la caracterización de los residuos cítricos semisólidos y efluentes líquidos y para el seguimiento de los lodos de los reactores anaeróbicos se realizaron las siguientes determinaciones analíticas empleando la metodología oficial que se referencia (APHA, 2005):

**pH:** (SM 4500–H+ B)

**Conductividad eléctrica:** (SM 2510 B)

**DQO (demanda química de oxígeno):** (SM 5220 D).

**ST (sólidos totales):** (SM 2540 B).

**SF (sólidos fijos):** (SM 2540 E).

**SV (sólidos volátiles):** (SM 2540 E).

**SSV (sólidos suspendidos volátiles):** (SM 2540 E).

**SST (sólidos suspendidos totales):** (SM 2540 D).

**Nitrógeno total Kjeldahl:** método de digestión y titulación.

**Potasio:** por fotometría de llama.

**Materia orgánica:** para los trabajos de compostaje, y dada la relativa homogeneidad de las muestras, se asumió una equivalencia directa entre los sólidos volátiles y la materia orgánica. Por ello, se calculó la materia orgánica como el cociente SV/ST.

**Carbono orgánico total:** surge del producto de la materia orgánica por el factor 0,555.

**Relación alfa:** parámetro útil para evaluar la capacidad “buffer” del sistema y su estabilidad ácido-base. Esta relación se obtiene mediante un análisis volumétrico que determina la alcalinidad total del sistema titulando hasta pH 5,75 y pH 4,3 con una solución valorada de ácido sulfúrico, registrándose los volúmenes gastados  $V_1$  y  $V_2$ , respectivamente. Presenta la ventaja de que ambas determinaciones pueden hacerse sobre la misma muestra y es independiente del volumen de muestra usado (Rojas, 1987).

El volumen  $V_1$  representa la concentración aproximada de bicarbonato, mientras que el volumen  $V_2$  representa la suma de bicarbonato más las sales conjugadas de los ácidos grasos volátiles (AGV).

La relación alfa se define como:

$$\alpha = \frac{V_2 - V_1}{V_2}$$

**Granulometría:** para realizar el análisis de recuento y distribución de tamaños de partículas o gránulos anaerobios en suspensión en una muestra de lodo, se usan placas de agar-agar. La técnica consiste en preparar placas de agar-agar cuadradas, de 20 cm de lado, con una dilución de lodos. Una vez solidificado el agar, se digitaliza la imagen de la placa mediante un scanner y se le realiza un análisis de recuento y clasificación de gránulos con un software informático (Image Tool 3.0). El software se puede configurar para que solo considere determinados rangos de tamaño de las partículas. Por ejemplo, en el caso de los lodos, se limita este rango a un diámetro entre 0,2 mm y 4 mm.

#### 4.2. Evaluación de la actividad metanogénica de inóculos anaerobios (AME)

Se aplicó el método de Field (1988), el cual consiste en medir diariamente el metano que se produce al colocar una cantidad definida de inóculo en presencia de ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales son el sustrato directo de las bacterias metanogénicas para la formación de metano.

El ensayo se realiza por quintuplicado. Se emplean botellas o viales de digestión de 100 ml. Se adiciona cada vial con el sistema de biodigestión (inóculo a evaluar, AGV, nutrientes, solución reductora y agua). Se tapa cada vial con un tapón de caucho, se sellan con un precinto metálico y se los colocan en incubadora a 35°C (Figura 4.1).

Periódicamente, cada uno, dos o tres días, según la velocidad de producción de metano, se los retira para medir el volumen de metano generado y vuelven a la incubadora.



Figura 4.1. Viales de biodigestión en incubadora.



La cantidad de lodo a agregar en las botellas de digestión se calcula conociendo el valor de sólidos suspendidos volátiles (SSV) del lodo. Se adiciona un volumen de lodo que contenga 1,5 gSSV.

En la tabla 4.1 se indica las proporciones de nutrientes empleadas, de solución reductora (sulfuro de sodio) y del sustrato, constituido por una mezcla de AGV.

Tabla 4.1. Macro y micronutrientes para el ensayo de AME.

		Concentración	Cantidad en 100 mL
<b>Solución de macronutrientes</b>	NH <sub>4</sub> Cl	85 g/L	0,4 mL
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	37 g/L	0,2 mL
	CaCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	8 g/L	0,2 mL
	MgSO <sub>4</sub> •4H <sub>2</sub> O	9 g/L	0,2 mL
<b>Solución de elementos trazas</b>	FeCl <sub>3</sub> •4H <sub>2</sub> O	1000 mg/L	0,2 mL
	CoCl <sub>2</sub> •6H <sub>2</sub> O	1000 mg/L	
	MnCl <sub>2</sub> •4H <sub>2</sub> O	250 mg/L	
	CuCl <sub>2</sub> •2H <sub>2</sub> O	15 mg/L	
	ZnCl <sub>2</sub>	25 mg/L	
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	25 mg/L	
	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> •4H <sub>2</sub> O	45 mg/L	
	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> •5H <sub>2</sub> O	50 mg/L	
	NiCl <sub>2</sub> •6H <sub>2</sub> O	35 mg/L	
	EDTA	500 mg/L	
	HCl 36%	0,5 mL/L	
	Resazurín (Indicador de oxígeno)	250 mg/L	
	Extracto de Levadura	--	0,02 g
<b>Solución de Sulfuro</b>	Na <sub>2</sub> S•9H <sub>2</sub> O	--	0,02 g
<b>AGV</b>		5 gDQOAGV/l	3 ml

La solución de AGV se la preparó de acuerdo a las proporciones mostradas en la tabla 4.2. Esta solución debe neutralizarse antes de aforarse a 100 ml. La relación sustrato/inóculo (S/I) queda en 0,33 gDQO.g<sup>-1</sup>SSV.

Tabla 4.2. Preparación de la solución de AGV.

	% pureza	ml/100ml
<b>Ac. Acético</b>	100	6,35
<b>Ac. Propiónico</b>	98	1,68
<b>Ac. Butírico</b>	99.5	1,74

Para medir la producción de metano se hace burbujear el biogás, producido en las botellas de digestión de 100 ml, a través de un frasco lavador que contiene una solución de hidróxido de sodio, la cual retiene el dióxido de carbono y permite el paso del metano.

El volumen de metano producido desplaza un volumen equivalente de solución de hidróxido de sodio, el cual se recibe en una probeta graduada que nos permite efectuar la medición (Figura 4.2).

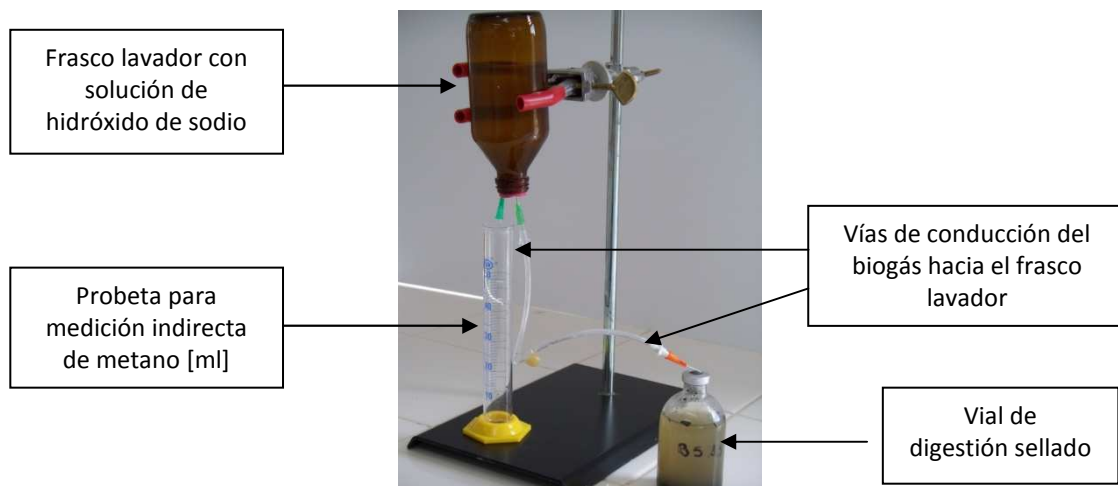


Figura 4.2. Sistema de medición de metano.

Se realizan mediciones de metano hasta que cesa su producción, lo cual puede suceder entre los 20 a 30 días. Luego se grafica el volumen acumulado de metano en función del tiempo. A partir de la gráfica se determina la máxima pendiente (máxima velocidad de producción de metano).

Con el valor de la pendiente máxima se puede calcular la AME, aplicando la siguiente fórmula:

$$Actividad = \frac{R \cdot 24}{FC \cdot V \cdot SSV} \left[ \frac{gDQO_{CH_4}}{gSSV \cdot d} \right]$$

Donde,

R: velocidad de producción de metano, ml CH<sub>4</sub>/h. (pendiente gráfico CH<sub>4</sub> v/s t)

FC: factor de conversión, en ml CH<sub>4</sub>/g DQO.

V: volumen efectivo de líquido en el digestor, L.

SSV: concentración de lodo en el digestor, g SSV/l.

24: factor de conversión, horas/día.

De la tabla 4.3 se obtienen los factores de conversión para el metano a diferentes temperaturas.

Tabla 4.3. Factores de conversión

Temperatura (°C)	CH <sub>4</sub> Seco	CH <sub>4</sub> Húmedo
20	376	385
25	382	394
30	388	405
37	395	418
40	401	433

### 4.3. Evaluación de la biodegradabilidad anaerobia y potencial de metanización de los residuos cítricos

En este ensayo, el montaje experimental que se emplea es idéntico al usado en los ensayos para evaluar AME, sustituyendo los AGV por una cantidad equivalente del sustrato o residuo cuya biodegradabilidad se desea evaluar.

Para ello se coloca, en botellas de digestión de 100 ml, una cantidad del lodo anaeróbico activo que contenga 1,5 gSSV, junto a una cantidad medida (5 gDQO/L) del sustrato a evaluar, más los suplementos nutritivos necesarios. Este ensayo también se realiza por quintuplicado.

Este sistema se incuba a 35°C y se mide periódicamente la producción de metano con el mismo método aplicado en la determinación de la AME. Luego se grafica el volumen acumulado de metano en función del tiempo.

Se realiza, además, la determinación de DQO inicial y final de este sistema para calcular la cantidad de materia orgánica degradada durante el ensayo.

Con la DQO abatida en los ensayos, se puede calcular el porcentaje de biodegradabilidad del sustrato en estudio por medio de la siguiente expresión:

$$\% \text{ Biodegradabilidad} = 100 \cdot \left( 1 - \frac{\text{DQO}_{\text{Final}}}{\text{DQO}_{\text{Inicial}}} \right)$$

Donde:

DQO<sub>Final</sub>: Concentración de DQO en la botella de reacción al final del ensayo.

DQO<sub>Inicial</sub>: Concentración inicial de DQO en la botella de reacción.

El potencial de metanización se calcula haciendo el cociente entre el volumen de metano acumulado al finalizar el ensayo y los gramos de SV de sustrato adicionados en el vial. Si el sustrato es efluente líquido, en lugar de SV se referencian los gramos de DQO adicionados al vial.

#### 4.4. Análisis de inconsistencia de datos

A los efectos de analizar la consistencia de los datos obtenidos, se someten los valores al test de Grubbs, que consiste en la evaluación de los valores extremos del conjunto de mediciones, ya que si los valores extremos mayores o menores son consistentes se asegura que los demás datos también son consistentes.

Los estadísticos de la prueba de Grubbs son  $G_s$  y  $G_i$ :

$$G_s = \frac{X_s - X_m}{s} \qquad G_i = \frac{X_m - X_i}{s}$$

$G_s$ : estadístico de Grubbs para el dato mayor.

$G_i$ : estadístico de Grubbs para el dato menor.

$X_s$ : dato mayor del conjunto de datos.

$X_i$ : dato menor del conjunto de datos.

$X_m$ : promedio del conjunto de datos.

$S$ : desviación standard del conjunto de datos.

Para el conjunto de datos obtenidos, los estadísticos calculados son:

$$G_s = 0,5 \quad G_i = 1,5$$

Una vez calculado los estadísticos de Grubbs, se comparan con los valores de la tabla 4.4 (valores críticos de la prueba de Grubbs).

Tabla 4.4. Valores críticos de la prueba de Grubbs.

P	Valor crítico 1 %	Valor crítico 5 %
3	1,155	1,155
4	1,496	1,481
5	1,764	1,715
6	1,973	1,887
7	2,139	2,02
8	2,274	2,126
9	2,387	2,215
10	2,482	2,29
11	2,584	2,355
12	2,636	2,412
13	2,699	2,462
14	2,755	2,507
15	2,806	2,549

Luego se determina si el dato analizado es un valor atípico o un valor fuera de rango (outlier) de acuerdo al siguiente criterio:

- a) Si el estadístico de prueba de Grubbs es menor al valor crítico del 5% se considera que es un valor adecuado para la medición.
- b) Si el valor es mayor que el valor crítico del 5%, pero menor que el valor crítico del 1% se lo considera como atípico. Habría que revisar si no hubo una inconsistencia en la medición, de no ser así se considera también como un dato válido.
- c) Si el estadístico de prueba es mayor que el valor crítico del 1%, el valor de la medición se considera como valor fuera de rango y se lo desecha debido a que no es consistente con los demás datos.

En caso de encontrarse un valor fuera de rango se debe volver a evaluar los datos restantes con la misma prueba, ya que el valor desechado puede estar ocultando otros valores fuera de rango.

#### **4.5. Ensayos de toxicidad**

Según Chernicharo (2006), el ensayo de AME también puede ser usado para evaluar el comportamiento de la biomasa activa bajo el efecto de compuestos potencialmente inhibidores de la actividad microbiana, o para determinar la toxicidad relativa de compuestos químicos presentes en efluentes líquidos y residuos semisólidos.

Bajo este concepto, para estos ensayos se aplicaron montajes experimentales similares que los usados para la determinación de AME, adicionando a los viales cantidades crecientes de la sustancia cuya toxicidad se desea estudiar, empleando lodos activos seleccionados de lagunas de tratamiento de efluentes cídricos.

Se empleó el test de Grubbs para descartar valores anómalos (outliers).

Para cada vial se grafica el metano acumulado en función del tiempo. De la gráfica se obtiene la pendiente máxima, la cual es usada en la ecuación de cálculo de la actividad metanogénica específica.

Finalmente, una vez realizados los ensayos con las dosis y repeticiones planteadas, se toman los valores de AME obtenidos para calcular los porcentajes de inhibición de la actividad metanogénica que presenta cada dosis.

El porcentaje de inhibición se calcula como:

$$\frac{\text{AME control} - \text{AME}_{xf}}{\text{AME control}} * 100$$

Donde

AME<sub>control</sub>: AME de los viales sin el inhibidor a estudiar.

AME<sub>xf</sub>: AME de viales con x concentración del inhibidor a estudiar.

## 5. CARACTERIZACIÓN DE RESIDUOS Y EVALUACIÓN DE TRATAMIENTOS

### 5.1. Caracterización fisicoquímica de los residuos y balances de masas

El valor promedio de efluente crudo total que genera una planta industrializadora de limón, que obtiene cáscara deshidratada, jugo concentrado, aceite esencial y esencias, está en el orden de los 3 a 5 m<sup>3</sup> por tonelada de limón procesado.

Algunas firmas, que adoptaron planes de racionalización del consumo de agua redujeron este valor a 2,6 m<sup>3</sup>/ton (datos obtenidos por comunicaciones personales).

Una caracterización típica de este efluente crudo se muestra en la tabla 5.1.

Los caudales enunciados, así como su caracterización fisicoquímica guardan relación con los presentados por Migliavacca (2011), que se muestran en la tabla 5.2., y con los presentados por la empresa Citromax (2006), mostrados en la tabla 5.3.

Tabla 5.1. Composición del efluente citrícola no segregado

Composición del efluente compuesto	
Parámetro	Valor
Caudal promedio	3-5 m <sup>3</sup> /ton. fruta
DQO Total	13-18 g/l
DBO	6-14 g/l
Relación DQO/DBO	0,50-0,85
pH	3,0-3,8
Oxígeno disuelto	0,5-3,5 mg/l
Nitrógeno total	130-160 mg/l
Fósforo total	80-90 mg/l
Sólidos sedimentables (2 hs)	160-200 ml/l
Sólidos flotantes	90-120 ml/l
Sólidos totales	10-15 g/l
Sólidos fijos	1,0-1,4 g/l
Sólidos volátiles	9-13 g/l
Aceites	< 25 ppm

Tabla 5.2. Caracterización del efluente cítrico de Citrusvil S.A.

<b>Generación de efluentes Citrusvil S.A.</b>	
pH	4,35 - 4,58
DQO [mg/l]	10240 - 11777
ST [mg/l]	14645 - 15764
SV [mg/l]	12889 - 13957
SV/ST [%]	88 - 89
Ton. fruta/d	1065 - 1095
m <sup>3</sup> efluente/d	4259 - 4380
m <sup>3</sup> efluente/ton fruta	4,00

Tabla 5.3. Caracterización del efluente cítrico de Citromax SACI

<b>Generación de efluentes Citromax SACI</b>	
pH	3,5
DQO [mg/l]	16000
SST [mg/l]	1800
Ton. fruta/d	1200
m <sup>3</sup> efluente/ton fruta	3,60

En la tabla 5.4 se expone el aporte de carga orgánica de cada línea de proceso fabril.

Estos datos corresponden a promedios ponderados de diferentes plantas industriales, por lo que pueden variar para cada firma en particular y también para diferentes situaciones del proceso industrial. Por ejemplo, si no hubiera demanda comercial de jugo clarificado desaparecería la operación de despulpado por ultrafiltros, y por ende, no existiría este residuo. O, como sucedió en algún momento muy puntual, y solo en algunas fábricas, se dejó de producir cáscara deshidratada debido a un desbalance circunstancial en su rentabilidad.

Desde luego, esta situación trae aparejada, por un lado, una mayor producción de restos orgánicos semisólidos (cáscara sin deshidratar) y por otro lado una disminución del volumen del efluente crudo (al desaparecer el efluente del secadero).



Sin embargo, los datos de la tabla 5.4 resultan orientadores para visualizar la contribución de cada línea a la carga orgánica total.

Tabla 5.4. Aporte de carga orgánica de cada línea de proceso

LINEA	Lavado de fruta	Lodos de extracción aceite	Despulpado de jugo (Finishers)	Despulpado de jugo (Centrífugas)	Despulpado UF	Secadero de cáscara	Totales
DQO [g/l]	0,2	55	100	50	76	10	
Litros por ton de limón	0,14	14	30	60	70	2500	2674,1
Carga [gDQO/ton limón]	0,028	770	3000	3000	5320	25000	37090,0
Porcentajes	7,5E-05	2,1	8,1	8,1	14,3	67,4	100

En la figura 5.1 se observa una gráfica de la distribución de carga orgánica en el efluente industrial total.

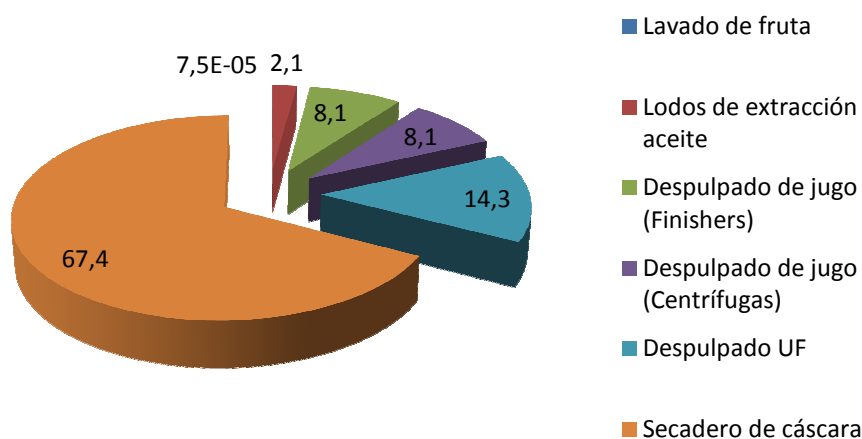


Figura 5.1. Distribución porcentual de la carga orgánica en efluente cítrico.

Análogamente, la tabla 5.5 exhibe el aporte de sólidos suspendidos totales de cada línea.

Tabla 5.5. Aporte de sólidos suspendidos totales de cada línea de proceso

LÍNEA	Lavado de fruta	Lodos de extracción aceite	Despulpado de jugo (Finishers)	Despulpado de jugo (Centrífugas)	Despulpado UF	Secadero de cáscara	Totales
SST [g/l]	0,4	23	100	50	50	0,9	
Litros por ton de limón	0,14	14	30	60	70	2500	2674,1
Carga [gSST/ton limón]	0,056	322	3000	3000	3500	2250	12072,1
Porcentajes	4,6E-04	2,7	24,9	24,9	29,0	18,6	100

La figura 5.2 muestra el aporte de SST de cada línea. Valen las mismas consideraciones enunciadas para la distribución de carga orgánica.

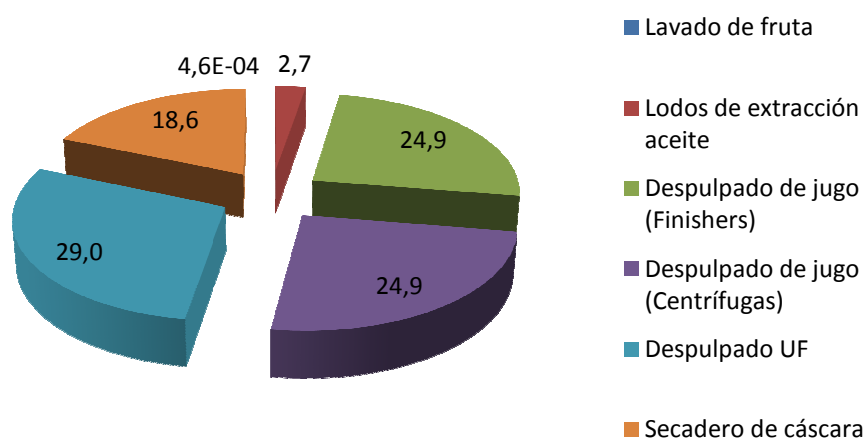


Figura 5.2. Distribución porcentual de SST en efluente cítrico

Las empresas cítricas que optan por no separar sus corrientes internas de efluentes suelen realizar un tratamiento primario del efluente total, haciéndolos atravesar rejas y tamices de tipo parabólico o similar.

El residuo de esta operación de desbaste resulta en una mezcla integrada de pulpa y cáscara, que llamaremos residuos semisólidos, con un tenor de humedad cercano al 90%.

En la tabla 5.6 se exhiben las principales características de los residuos semisólidos.

Tabla 5.6. Análisis de los residuos semisólidos

Parámetro	Valor
DQO [g/kg]	100
Materia seca [%]	10
Relación C/N	55,4
Fósforo total [%] (colorimetría, ácido ascórbico)	0,1
Nitrógeno [%] (Kjeldhal)	0,9
Potasio total [%] (fotometría de llama)	0,5
Carbono orgánico total [%] (calcinación)	49,9
Reacción	ácida

En la figura 5.3 se ven muestras de residuos semisólidos.



Figura 5.3. Muestras de residuos semisólidos.

## **6. TRATAMIENTOS CONVENCIONALES**

### **6.1. Irrigación**

#### **6.1.1. Introducción**

Según la Resolución 013/2012 de la Secretaría de Estado de Medio Ambiente de la provincia de Tucumán, basada en evaluaciones realizadas por técnicos de la EEAO, la aplicación de dosis controladas de efluentes de la industria cítrica en los suelos agrícolas de la provincia de Tucumán posibilitaría realizar aportes significativos de agua y nitrógeno, en áreas próximas a las empresas productoras.

Se hace hincapié en las características del suelo y su conservación, procurando aumentar el potencial productivo de los cultivos sin afectar la capacidad productiva de los suelos.

#### **6.1.2. Generalidades**

Dado que la producción y composición de dichos efluentes puede variar durante las horas del día, el efluente cítrico crudo (ECC) debe ser ecualizado en piletas o lagunas especialmente destinadas a este fin.

El ECC puede ser sometido a diferentes tratamientos durante el proceso de ecualización para obtener el efluente cítrico crudo acondicionado (ECCA). Este acondicionamiento es necesario para su disposición en suelos, aunque también podría resultar conveniente para su posterior tratamiento biológico.

Entre estos tratamientos se destacan el filtrado de los sólidos en suspensión y el encalado.

Con el filtrado disminuye la carga orgánica en suspensión, que además de ser un importante elemento contaminante de las aguas, produce colmatación de reservorios, reactores y obturación de conducciones.

Con el encalado se busca aumentar la sedimentabilidad de los sólidos en suspensión para su posterior separación, adecuar el pH del ECC para optimizar su biodegradabilidad y evitar la acidificación de los suelos agrícolas.

#### **6.1.3. Áreas de aplicación**

No se recomienda la aplicación de ECC directa al suelo. La alta variabilidad de su composición, en función del proceso que lo origina, imposibilita controlar los aportes de

sales, nutrientes, contaminantes, etc., y a las consecuencias de dichos aportes en los suelos y los cultivos.

Tanto el ECCA como el efluente cítrico tratado (ECT) pueden ser utilizados en riego de los cultivos que comúnmente se desarrollan en proximidades de las áreas donde se ubican las plantas industriales, destacándose entre ellos los cultivos cítricos y la caña de azúcar, a los cuales se deben sumar las áreas de recreación, parques y bosques susceptibles de ser regadas.

No se recomienda la aplicación de efluentes citrícolas en suelos agrícolas con contenidos salinos próximos a los críticos para los cultivos o que presenten napa freática próxima a superficie.

Dadas las características de los efluentes cítricos se hace necesario el seguimiento de diferentes parámetros de suelo a fin de evitar alteraciones en la capacidad productiva de los mismos e inconvenientes en los cultivos sobre los cuales se desarrollan.

Se recomienda controlar:

- Conductividad eléctrica (CE): la aplicación de ECCA o ECT no debe elevar la concentración de sales solubles hasta niveles potencialmente perjudiciales para los cultivos, motivo por el cual se deberá realizar un análisis de suelo antes y después de la aplicación del efluente. Las épocas de muestreo deberían ser: pre-aplicación (abril-junio) y post-aplicación (septiembre – noviembre).
- pH: al igual que en el caso anterior, la aplicación de ECCA o ECT no debe acidificar el suelo comprometiendo el desarrollo de los cultivos ni alterar el estado del suelo.
- Capacidad de intercambio catiónico (CIC) y bases de cambio (calcio, magnesio, sodio y potasio): se recomienda realizar un muestreo anual de estas propiedades a fin de evitar alteraciones en las propiedades químicas o físicas de los suelos.
- Materia orgánica: parámetro a determinar mediante el muestreo pre-aplicación, a fin de evaluar su evolución anual, ya que el mismo puede ser tomado como un indicador del impacto en la fertilidad física y química de la práctica bajo análisis.

En función de lo antes señalado, se sugiere seguir las siguientes etapas para la aplicación de efluentes cítricos en suelos:

- Caracterización del efluente: para poder realizar aplicaciones de efluentes cítricos en los suelos, se debe analizar pH, conductividad eléctrica, demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno, fósforo y los contenidos de cationes (calcio, magnesio, sodio y potasio).

- No deben aplicarse efluentes con pH inferior a 4 ni superior a 8. No deben aplicarse efluentes con conductividad eléctrica superiores a 4.000 umhos/cm.
- Elección del terreno: se recomienda la utilización de suelos sin problemas de drenaje interno (sin napa freática próxima a la superficie) y sin acumulaciones de sales solubles próximas a los umbrales del cultivo.
- Aplicación: debe realizarse en forma homogénea y de forma tal que se eviten concentraciones excesivas de sales en los horizontes superficiales del suelo. Con los análisis previos del efluente y del suelo se puede calcular una carga máxima a aplicar para diferentes tipos de suelos y profundidad de napa freática.
- Muestreos y determinaciones anuales en suelo:
  - ✓ Muestreos pre-aplicación: conductividad eléctrica, pH, capacidad de intercambio catiónico (CIC), materia orgánica, bases de cambio (calcio, magnesio, sodio y potasio).
  - ✓ Muestreos post aplicación: conductividad eléctrica, pH y materia orgánica

## **6.2. Lagunaje**

### **6.2.1. Caso práctico de bibliografía**

Migliavacca (2011) estudió un tratamiento de efluente cítrico por lagunaje, para una planta que generaba 480 m<sup>3</sup>/h de efluentes. Este sistema estaba constituido por nueve lagunas cuya alimentación se realizaba por vasos comunicantes. Aquí, el influente crudo, antes de ingresar a las lagunas, atravesaba una rejilla y un tamiz rotatorio para reducir el contenido de sólidos en suspensión.

El sistema de lagunas tenía una capacidad total de 160.000 m<sup>3</sup>, con una profundidad promedio de 3,5 m y una superficie de 45.000 m<sup>2</sup>. Esta modalidad solo permitía reducir la concentración de carga orgánica desde 11.700 mg/l de DQO hasta unos 10.000 mg/l, y, en general, no lograba elevar el pH de descarga.

Ante este panorama se redefinieron los escenarios posibles y, previa evaluación de los lodos anaeróbicos generados y de la biodegradabilidad del efluente a escala piloto, en un reactor de contacto, se migró el tratamiento a un sistema de dos lagunas anaerobias de 40.000 m<sup>3</sup> cada una, cubiertas con geomembranas y equipadas con accesorios que permiten recircular el flujo y agitar su contenido.

Esta etapa anaeróbica permite reducir la carga orgánica a 3.000 mg/l de DQO.

Además, se sumó un tren de lagunas, facultativas y aerobias, para facilitar el pulimiento del efluente, llevándolo a valores finales de 500 mg/l.

## 6.2.2. Caso práctico de estudio

### 6.2.2.1. Introducción

Los sistemas de lagunaje constituyen una opción simple para el tratamiento de efluentes, de bajas exigencias tecnológicas y mínimos requerimientos de atención, ya que se produce un proceso de autodepuración natural. Aunque presenta la desventaja de necesitar amplias extensiones de terreno.

### 6.2.2.2. Materiales y métodos

Se estudió otro sistema de lagunaje para el tratamiento de efluente cítrico compuesto (no segregado), de una planta industrializadora de limón que genera alrededor de 100 m<sup>3</sup> de efluente por hora (Machado, 2003).

El ordenamiento de lagunas, cuyo diseño fue limitado por el relieve del terreno, estuvo compuesto por cinco lagunas ubicadas en serie, para trabajar bajo régimen anaerobio, dada las profundidades de diseño. La primera recibía el efluente crudo de fábrica y actuaba como módulo ecualizador.

Aprovechando la topografía del terreno, las demás lagunas se alimentaban por rebalse de la precedente, a través de cañerías adecuadas. Al salir de la cuarta laguna, el flujo recorría un tramo de unos 3.000 metros a cielo abierto hasta llegar a la quinta laguna. Después de esta, el efluente recorría otro tramo a cielo abierto hasta arribar al cuerpo receptor.

Las dimensiones de las lagunas y sus tiempos de residencias promedios se muestran en la tabla 6.1.

Tabla 6.1. Profundidades y TRH de las lagunas evaluadas

	Área [m <sup>2</sup> ]	Volumen (m <sup>3</sup> )	Residencia (días)
Laguna 1	1567	5093	1.93
Laguna 2	1955	9853	3.73
Laguna 3	2306	13836	5.24
Laguna 4	5667	39669	15.03
Laguna 5	47112	235560	89.23

El efluente ingresa a la primera laguna con un caudal de unos 110 m<sup>3</sup>/h y una DQO que oscila entre 14.000 y 16.000 mg/l, sólidos suspendidos en torno a los 2.000 mg/l y un pH promedio de 3,7.

Para el estudio de la performance de este sistema, se analizó DQO y sólidos suspendidos totales.

### 6.2.2.3. Resultados y discusión

En la figura 6.1 y en la 6.2 se ve la evolución temporal de la DQO y de los SS, respectivamente, en las entradas a las lagunas 2, 3 y 4, además de la salida de esta última.

No se tomaron en consideración los datos del efluente crudo que constituía la entrada a la laguna 1 porque ésta funcionó como ecualizadora.

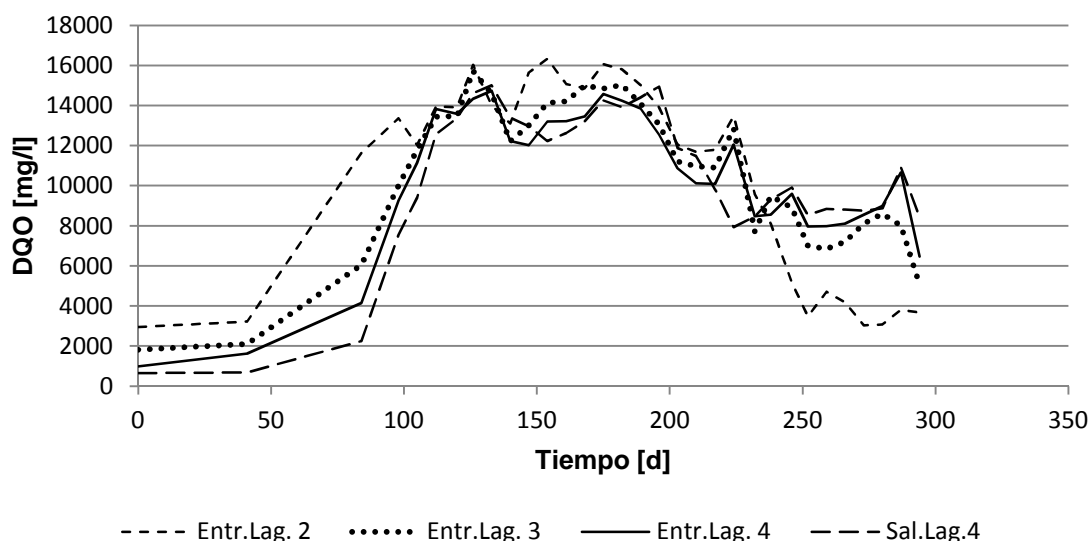


Figura 6.1. Evolución de la DQO en lagunas 2, 3 y 4.

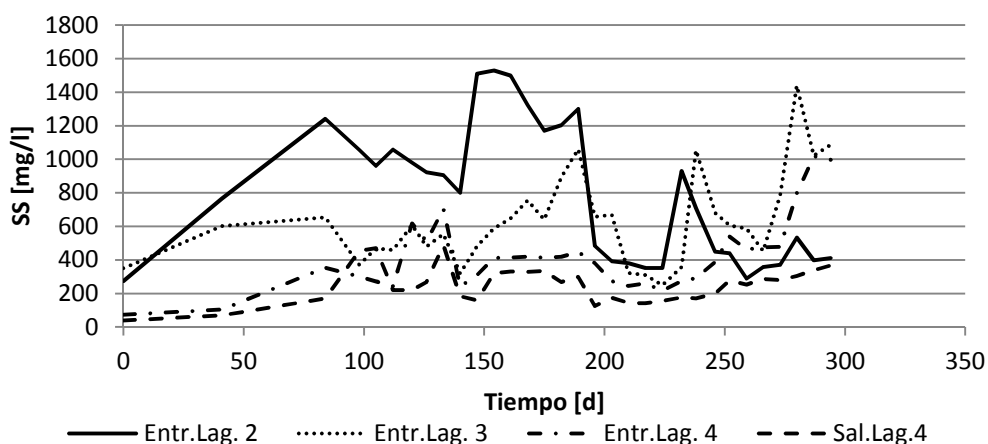


Figura 6.2. Evolución de los SS en lagunas 2, 3 y 4.



Durante los primeros ochenta días la fábrica procesó fruta en forma intermitente y en muy baja intensidad (limón de verano). La molienda fuerte se inició a los 90 días de iniciado los controles.

Por la baja capacidad de las primeras cuatro lagunas, el efecto de inicio de la temporada alta no tarda en manifestarse en las lagunas 3 y 4, observándose una aceleración en sus DQO con la misma pendiente que en la laguna 2.

Desde mediados de junio hasta octubre los valores de DQO se ven similares para las cuatro lagunas, lo que da la pauta que los volúmenes de esta batería de lagunas no aportan el suficiente tiempo de residencia como para producir una degradación significativa. La evolución de los SS aporta una información similar.

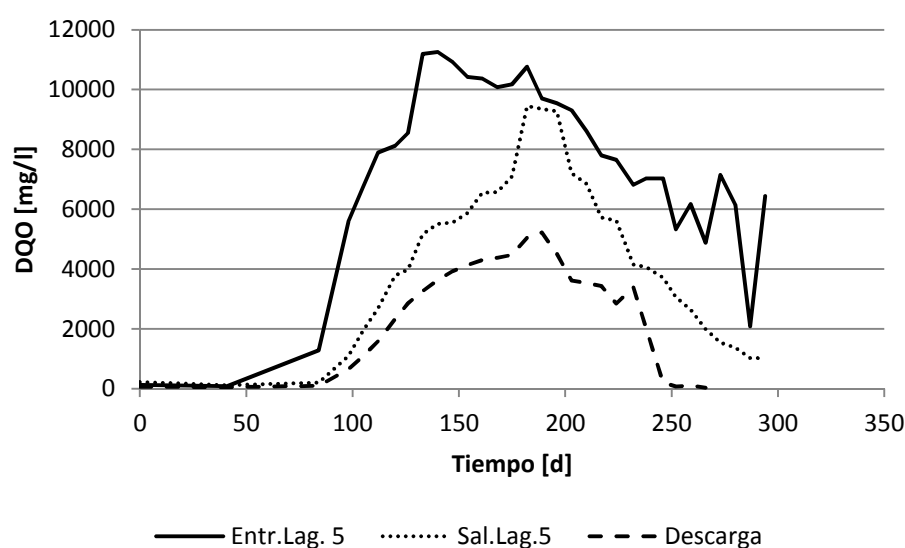


Figura 6.3. Evolución de la DQO en laguna 5 y descarga final.

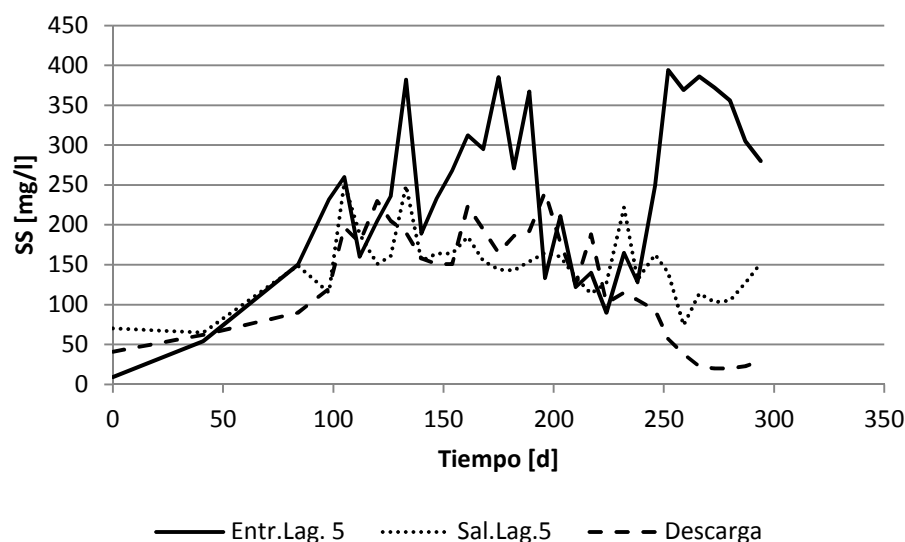


Figura 6.4. Evolución de los SS en laguna 5 y descarga final.

En cuanto al comportamiento de la quinta laguna, se observa que las concentraciones de DQO y de SS comienzan a elevarse tan pronto como se inicia la temporada alta (alrededor del día cien), aunque la magnitud alcanzada es bastante menor que las detectadas en las lagunas 2, 3 y 4.

El mayor tiempo de retención de la laguna grande permite una mayor degradación. Esto es, en la gráfica, para cualquier fecha, la entrada siempre tiene mayor DQO que la salida.

La zanja a cielo abierto que recorre el efluente desde la salida de la laguna cinco hasta arribar al río, tiene un papel más relevante a partir de octubre.

#### **6.2.2.4. Conclusiones**

El tratamiento por lagunaje de efluentes citrícolas requiere, en forma indispensable, de un profundo desbaste de los sólidos en suspensión.

Cuando la remoción de los sólidos es insuficiente, estos se agrupan formando una compacta capa flotante. Además, una porción de ellos también sedimentan en el fondo de la laguna. Ambas circunstancias reducen la eficiencia de degradación de materia orgánica soluble.

El primer caso analizado presenta un THR menor a 14 días, lo que se ve reflejado en la escasa remoción de materia orgánica.

En el segundo caso, se advierte que, aún un tiempo de residencia total de 120 días, resulta insuficiente para las cargas propuestas.

## 7. TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE RESIDUOS SEMISÓLIDOS

### 7.1. Compostaje

#### 7.1.1. Introducción

La literatura sobre compostaje desacredita este proceso para materiales ácidos y de baja relación C/N, tales como los que genera la industrialización del limón.

Además, la textura de los desechos cítricos suele dificultar la aireación que se espera establecer durante las operaciones de volteo y que resultan críticas para este proceso biológico.

Sin embargo, a los efectos de abordar el primer objetivo de esta tesis, se probó esta alternativa de tratamiento, pero con la particularidad de incorporar el residuo de otra industria para equilibrar la relación C/N e intentar mejorar la textura de la mezcla formada.

Para ello se empleó cachaza, que es un residuo semisólido proveniente de la elaboración de azúcar de caña.



Figura 7.1. Pulpa en playa de compostaje previo al armado de una pila.

#### 7.1.2. Materiales y métodos

Para el estudio del proceso de compostaje se realizaron análisis químicos de cada ingrediente a mezclar, con el fin de determinar su composición y conformar los tipos de pilas, designadas internamente como K, H y P.

Los resultados de los análisis se detallan en la Tabla 7.1.

Tabla 7.1. Análisis de los ingredientes de las pilas.

Muestras	Semisólidos, limones y restos de poda	Cachaza
Carbono orgánico total [%]	49,9 ± 1,7	37,3 ± 1,6
Materia orgánica total [%]	86,1 ± 1,6	64,5 ± 1,8
Nitrógeno [%] (Kjeldahl)	0,9 ± 0,02	1,4 ± 0,02
Relación C/N	55,4 ± 1,7	26,6 ± 1,6
Fósforo total [%]	0,1 ± 0,02	1 ± 0,02
Potasio total [%]	0,5 ± 0,02	0,5 ± 0,02
pH	3,8 ± 0,3	5,2 ± 0,3

Las tres pilas se conformaron según el siguiente detalle:

- Mezcla K: 50% de cachaza, 50% de semisólidos.
- Mezcla H: 25% de semisólidos, 25% de limones y restos de poda y 50% de cachaza.
- Mezcla P: 100% de semisólidos.

Los parámetros de seguimiento del proceso son temperatura y humedad. Estos se miden casi diariamente durante todo el proceso y se adecuan, si fuera necesario, para que sus valores se encuentren en los intervalos considerados correctos para cada etapa del proceso.

La frecuencia de aireación de las pilas, operación conocida también como volteo de pila, se estableció en función de los valores medidos de humedad y temperatura.

Cada quince días se realizaron análisis físico-químicos para controlar la evolución de los contenidos de carbono y nitrógeno.

### 7.1.3. Resultados

El tiempo de compostaje de las tres pilas fue diferente. La pila K llegó a su maduración al cabo de doce semanas, mientras que la pila H lo hizo a las quince semanas.

La pila P, cuyos resultados no se exhiben, no alcanzó la temperatura óptima de la fase termófila, ya que se mantuvo por debajo de los 45°C, razón por la cual se considera que no tuvo lugar un proceso de compostaje propiamente dicho.

En la siguiente figura se observan las variaciones de temperatura de las pilas durante todo el proceso.

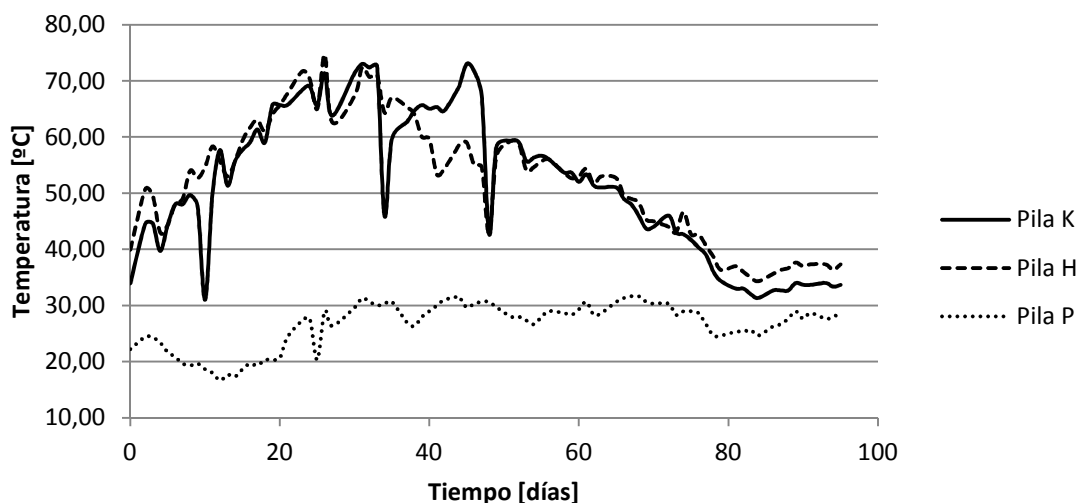


Figura 7.2. Evolución de la temperatura durante el proceso de compostaje.

La tabla 7.2 muestra los análisis de las pilas al finalizar el proceso.

Tabla 7.2. Análisis de las pilas K y H al finalizar el proceso de compostaje.

Determinaciones	Pilas	
	K	H
pH	7,1 ± 0,2	7,6 ± 0,2
Conductividad (mS/cm)	9,3 ± 0,2	9,8 ± 0,2
Materia orgánica total (g/100g)	22,6 ± 0,9	24,6 ± 0,9
Carbono orgánico	12,6 ± 1,4	13,7 ± 1,4
Nitrógeno (g/100g)	1,1 ± 0,09	1,2 ± 0,09
Relación C/N	11,1 ± 1,0	11 ± 1,0

Por análisis realizados posteriormente en el laboratorio de Fitopatología de la EEAO, se estableció que el compost producido resultó libre de nematodos patógenos y de *Phytophthora* (hongos parásitos que representan plagas para ciertas plantas).

Otros ensayos, no mencionados aquí, hacen suponer que la eliminación de estos organismos patógenos está estrechamente vinculada a la alta temperatura sostenida en forma relativamente prolongada que se alcanza durante la etapa termofílica del proceso, lo cual, a su vez, está asociada a la geometría y dimensiones de las pilas conformadas.

#### **7.1.4. Conclusiones**

La inhibición del proceso de compostaje, cuando se combina bajo pH e inadecuada relación C/N, explicaría la discontinuidad para pasar de la fase mesofílica a la termofílica, como fue el caso de la pila P, formada enteramente con residuos cítricos.

Esto ya fue observado por Sundberg *et al.* (2004) y notificado por otros autores que trabajaron con residuos de alimentos y otros residuos ácidos (Day *et al.*, 1998; Schloss y Walker, 2000; Sundberg, C. 2005).

El agregado de cachaza a los residuos cítricos produjo un balance inicial más favorable de la relación C/N, cercana a 40, y mejoró la textura de la pila aumentando la eficacia del proceso de intercambio gaseoso durante el volteo (Morisaki, 1988).

Por lo tanto, el proceso de compostaje también puede ser considerado como una alternativa viable para el tratamiento de residuos orgánicos semisólidos de la industrialización del limón mientras se acondicione correctamente las proporciones de carbono y nitrógeno del sistema inicial y se mejore la textura del sistema.

Esta conclusión da respuesta al primer objetivo planteado en esta tesis.

### **7.2. Tratamiento anaerobio**

#### **7.2.1. Estudio de la actividad metanogénica específica de lodos anaeróbicos**

##### **7.2.1.1. Introducción**

A los efectos de estudiar los procesos de biodigestión anaeróbica de los residuos de las industrias citrícolas, se planteó, en primer lugar, la recolección y estudio de la actividad metanogénica específica (AME) de determinados inóculos anaeróbicos, con el fin de seleccionar el de mayor actividad. Posteriormente, utilizando el lodo seleccionado, se evaluó la biodegradabilidad anaeróbica de los residuos de la industrialización del limón.

El estudio de la AME tiene como objetivo determinar la capacidad de producción de metano de la población de microorganismos de cada muestra de lodo en condiciones óptimas de pH, temperatura y nutrientes, manteniendo concentraciones estándar de sustrato y de lodos.

La etapa de producción del metano es considerada la etapa limitante de los sistemas anaeróbicos por poseer, las bacterias metanogénicas, la menor velocidad de crecimiento de todas las poblaciones involucradas. Por lo tanto, es la que define la capacidad degradativa del sistema.

Se consideraron las siguientes alternativas como fuente de inóculos anaerobios:

- a) Fondos de lagunas de disposición de efluentes líquidos citrícolas.
- b) Lodos de una planta de tratamiento de residuos cloacales.
- c) Heces de ganado bovino.

Teniendo presente que este trabajo versa sobre residuos orgánicos provenientes de la industrialización del limón, se llevó a cabo la investigación empleando inóculos procedentes de lagunas anaeróbicas de residuos citrícolas, donde las bacterias presentes se encuentran ya adaptadas a la naturaleza de estos residuos.



Figura 7.3. Recolección de lodos anaeróbicos de fondo de lagunas.

Por las consideraciones expuestas, y teniendo en cuenta la potencial patogenicidad de las muestras contempladas en la segunda y tercera opción, se seleccionó la primera.

#### **7.2.1.2. Materiales y métodos**

Se recolectaron cinco muestras de lodos, provenientes del fondo de lagunas de disposición de efluentes de una industria citrícola. Para ello se eligieron las zonas de estancamiento del efluente donde se advertía burbujeo y donde el pH fuera cercano a la neutralidad.

Para el análisis de AME se empleó la metodología descrita en el apartado 4.2. El método (Field, 1988) consiste en medir diariamente el metano que se produce al colocar una cantidad definida de inóculo en presencia de ácidos grasos volátiles (AGV), los cuales son el sustrato directo de las bacterias metanogénicas para la formación de metano.

De la gráfica de generación de metano en función del tiempo se obtiene la máxima pendiente, dato que es empleado en la fórmula para calcular la AME.

### 7.2.1.3. Resultados

En la Figura 7.4 puede observarse que la muestra de lodos L4 es la de mayor actividad metanogénica ya que presenta la pendiente más pronunciada.

La tabla 7.3 resume los datos obtenidos de pendiente máxima, el factor de conversión de metano, el volumen de digestor empleado, la concentración de sólidos suspendidos volátiles y la actividad metanogénica específica calculada.

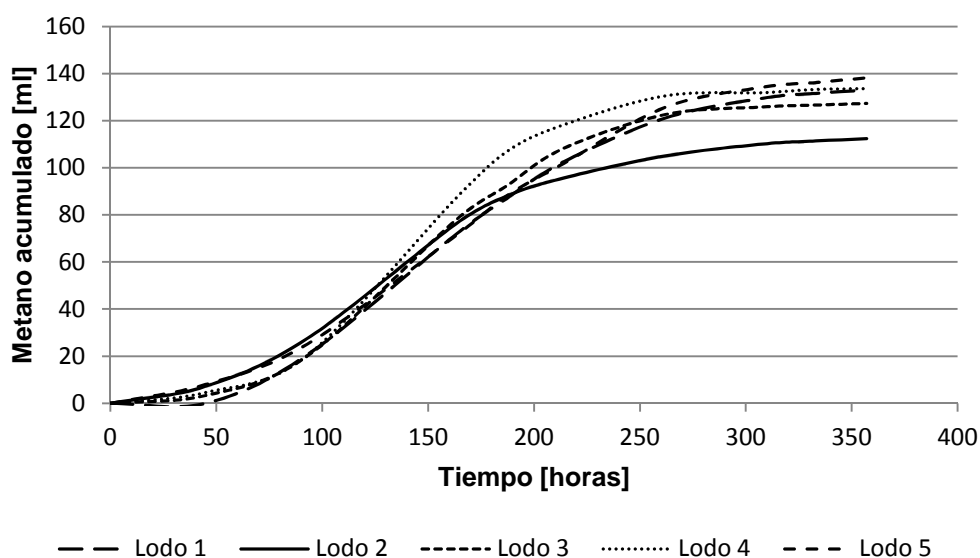


Figura 7.4. Estudio de la AME en diferentes muestras de lodos.

Tabla 7.3. Cálculo de AME

Muestra (lodos)	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>4</sub>	L <sub>5</sub>
Pendiente máxima (R) [ml CH <sub>4</sub> /h]	0,73	0,69	0,82	0,95	0,7
Factor de conversión [ml CH <sub>4</sub> /g DQO]	385	385	385	385	385
Volumen del digestor [litros]	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
SSV [gSSV/l]	3	3	3	3	3
AME [g DQO/gSSV.d]	0,15±0,01	0,14±0,02	0,17±0,015	0,2±0,01	0,15±0,015

### 7.2.1.4. Conclusiones

La medición de la actividad metanogénica de lodos anaeróbicos es importante para clasificar su potencial para convertir sustratos solubles en metano y dióxido de carbono. También, a través de este parámetro, es posible determinar la velocidad de carga orgánica (VCO) óptima para el arranque de un reactor (James, *et al.*, 1990).



Estos autores dudan de la exactitud de esta metodología para medir AME, debido a que está centrada en la medición del volumen de biogás generado, a través de una solución acuosa de hidróxido de sodio.

Sin embargo, a los efectos de comparar las actividades, y dada su practicidad, se lo seleccionó como método, teniendo en cuenta también que el análisis de las varianzas estadísticas resultaron razonables y los test de Grubbs aplicados al conjunto de repeticiones no indicaron la presencia de valores anómalos.

Las muestras de lodos tomadas de las lagunas de disposición de efluentes líquidos de esta industria cítrica exhibieron una actividad metanogénica apropiada para la realización de experiencias de biodegradabilidad a nivel laboratorio.

Además, los datos obtenidos son coherentes con los encontrados por Field, algunos de cuyos valores se reproducen en la tabla 7.4, y con los presentados por Moreno Andrade, mostrados en la tabla 7.5.

Por lo tanto, se concluye que los lodos estudiados se pueden utilizar para experiencias de biodegradación en reactores de laboratorio.

Además de presentar una actividad biológica apreciable, también es importante que los lodos tengan una alta población microbiológica y baja concentración de sólidos fijos sobre el total de sólidos presentes en el lodo.

Tabla 7.4. AME de lodos de diferentes orígenes (Field, 2002).

Fuente	AME [gDQO <sub>CH4</sub> .g <sup>-1</sup> SSV. d <sup>-1</sup> ]
Lodo granular	0,5 a 1,5
Lodo de reactor	0,4 a 1,2
Lodo de A.R.D. digeridas	0,02 a 0,2
Estiércol digerido	0,02 a 0,08
Lodo de tanque séptico	0,01 a 0,07
Laguna anaeróbica	0,03
Estiércol de porcino	0,001 0,02

Tabla 7.5. AME de lodos de diferentes orígenes (Moreno Andrade, *et al.*, 2002).

Fuente	AME [gDQO <sub>CH4</sub> ·g <sup>-1</sup> SSV·d <sup>-1</sup> ]
Industria cervecera	0,48
Industria química	0,42
Efluentes de una universidad	0,34
Estiércol de vaca	0,14
Lodos municipales	0,23

La biomasa activa en sistemas anaerobios se presenta como un consorcio de diferentes morfologías y tipos fisiológicos (Chernicharo, 2007).

Si bien existen diversas metodologías para determinar cantidad y actividad de esta biomasa, algunos de ellos son demasiado sofisticados y poco prácticos a los efectos de usarlos para monitoreo de reactores. Por ello, en este trabajo, la evaluación de la biomasa se realizó a través de la determinación de los sólidos suspendidos volátiles (SSV) como una medida de la cantidad de material celular.

Después que Cheeseman *et al.* (1972) aislaron el Factor  $F_{420}$  y se desarrolló la posibilidad de determinar su concentración, algunos autores la propusieron como método para evaluar la actividad biológica de comunidades anaeróbicas (Delafontaine, *et al.*, 1979; de Zeeuw, Lettinga, 1980).

La coenzima  $F_{420}$  es un portador de electrones con propiedades fluorimétricas, que está específicamente vinculado a la reducción de  $\text{HCO}_3^-$  a  $\text{CH}_4$ , solamente encontrada en bacterias metanogénicas (Cheeseman, *et al.*, 1972).

Sin embargo, Dolfig y Mulder (1985) encontraron que el total de coenzima  $F_{420}$  contenida en lodos anaerobios no es proporcional a la actividad biológica total, sobre todo cuando se usa acetato como sustrato.

Cabe mencionar aquí el método propuesto por James *et al.* (1990), que es muy semejante al aquí descrito para AME, pero con una sustancial mejora en la medición de biogás producido. Básicamente, se trata de una adaptación del respirómetro de Warburg, el cual originalmente estaba diseñado para ensayos de degradación aeróbica, adaptado a un proceso anaeróbico, es decir, a la medición de  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$ .

El test de AME también puede ser usado para otras aplicaciones (von Sperling, Chernicharo, 2006), a saber:

- Evaluar el comportamiento de la biomasa bajo el efecto de compuestos potencialmente inhibidores.
- Determinar la toxicidad relativa de compuestos químicos presentes en efluentes líquidos y residuos semisólidos.
- Establecer la biodegradabilidad de diferentes sustratos, especialmente de aguas residuales industriales.
- Monitorear los cambios de actividad del lodo por posible acumulación de material inerte después de largos períodos de operación.
- Determinar la máxima carga orgánica que puede ser aplicada a determinado tipo de lodo, imprimiendo aceleración a la etapa de arranque de un sistema de tratamiento.
- Evaluar parámetros cinéticos.

## **7.2.2. Estudio de la biodegradabilidad anaeróbica de la pulpa y cáscara**

### **7.2.2.1. Introducción**

Una vez identificado el lodo de mayor actividad, se evaluó la aptitud de los residuos semisólidos de la industrialización del limón para ser biodegradados anaeróbicamente.

Los ensayos de biodegradabilidad anaeróbica se emplean para establecer el potencial de metanización de determinados residuos y también de su tasa de biodegradación en general.

Están basados en la medición de uno o más productos de la reacción biológica o en la medición del sustrato que se consume.

En los métodos basados en la formación de producto se monitorea el producto final, biogás o metano, o productos intermedios como ácidos grasos volátiles. La mayoría de los métodos están basados en el monitoreo de la producción de biogás.

Los métodos basados en el sustrato consumido pueden ser monitoreados con la medición de parámetros inespecíficos tales como sólidos volátiles, DQO, carbono orgánico disuelto, etc., o directamente analizando el compuesto usado como sustrato (Angelidaki, Sanders, 2004).

### 7.2.2.2. Materiales y métodos

Se empleó la metodología descrita en el apartado 4.3. El montaje experimental es similar al descrito para la determinación de AME, con la diferencia que, en lugar de AGV como sustrato, se adiciona el sustrato a evaluar (pulpa y/o cáscara en este caso).

### 7.2.2.3. Resultados y discusión

Luego de la obtención de los datos de DQO y de aplicar la fórmula, se arribó a un porcentaje de biodegradabilidad de la pulpa de un 74% y de un 78% para la cáscara.

El potencial de metanización fue de 316 ml de  $\text{CH}_4/\text{gSSV}$  de pulpa y de 337 ml de  $\text{CH}_4/\text{gSSV}$  de cáscara, medidos a 25°C y presión de 1 atm.

En la Figura 7.5 se observan los perfiles de producción de metano a partir de cáscara, en diez ensayos. Se observa que la muestra N° 3 no muestra generación de metano casi desde el inicio del ensayo, presuntamente por una falla de cierre en el vial.

En la Figura 7.6 se observan los perfiles de producción de metano a partir de pulpa, en diez ensayos.

En la Figura 7.7 se comparan dos curvas de producción de metano. Una de ellas obtenida a partir de cáscara y la otra a partir de pulpa, ensayadas simultáneamente.

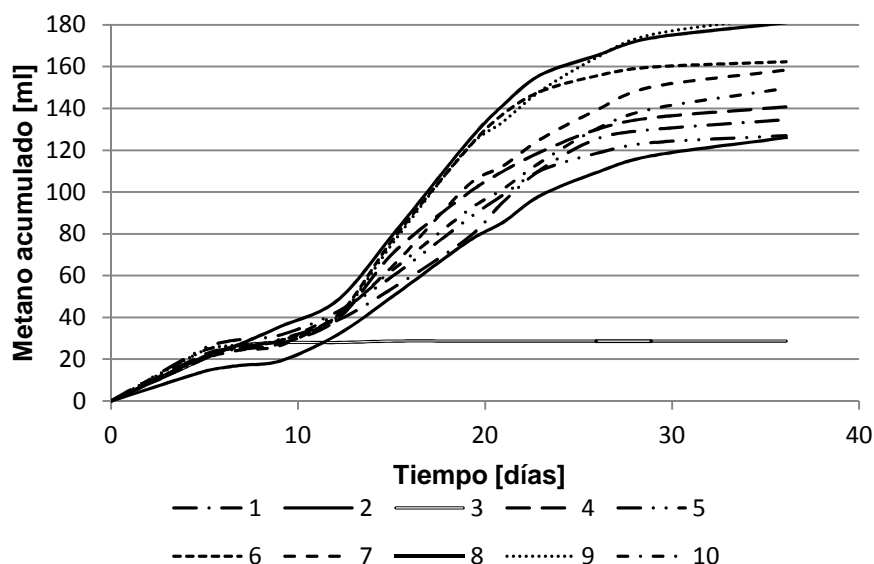


Figura 7.5. Estudio de la biodegradabilidad en cáscara.

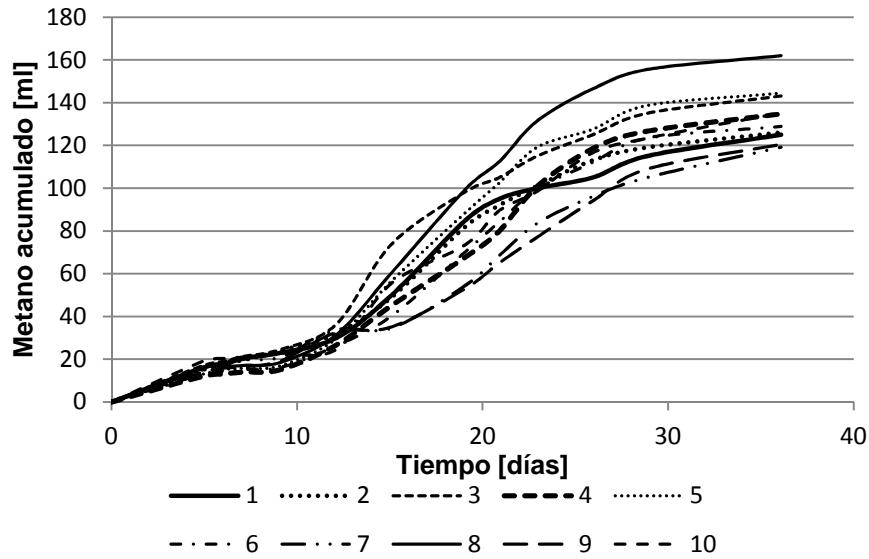


Figura 7.6. Estudio de la biodegradabilidad en pulpa.

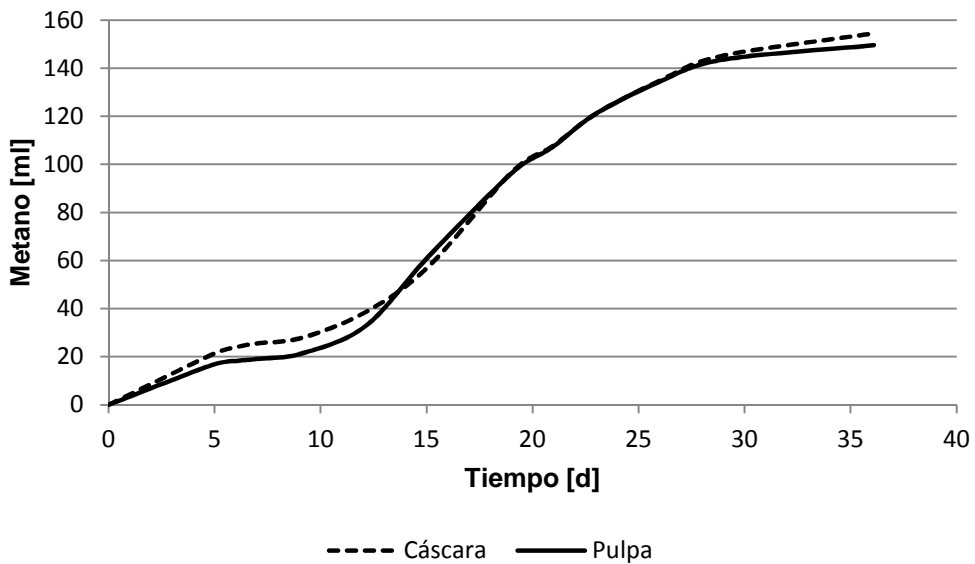


Figura 7.7. Producción de metano por digestión de pulpa y cáscara

Estos resultados se pueden comparar con los datos conseguidos en la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV, Chile), adonde se remitieron muestras de pulpa y de cáscara para realizar ensayos de biodegradabilidad, de manera de contar con referencias externas.

Allí, en primer lugar, se efectuó una caracterización de las muestras, cuyos resultados se exhiben en la tabla 7.6.

Tabla 7.6. Caracterización de muestras cítricas realizada en la PUCV (Chile)

	Pulpa	Cáscara
pH	3,01	3,62
ST [%]	10,9	12,6
SV [%] (sobre materia seca)	95,3	94,6
Humedad [%]	89,1	87,4
DQO [mg O <sub>2</sub> /g ST]	940,9	1011,2

La caracterización de los sustratos, en términos de pH, sólidos y de DQO, realizadas por la PUCV, guardan correlación con los datos obtenidos en la EEAOC.

El estudio de potencial de metanización, en la PUCV, se llevó a cabo en baños termostáticos a 37°C, usando botellas de 100 ml conectadas en forma discontinua a un medidor de presión. La muestra se adicionó de tal manera de tener en el medio una concentración de 1 g ST/100 ml. Los ensayos se realizaron por triplicado y los resultados se presentan en la tabla 7.7.

Tabla 7.7. Potencial de metanización de muestras cítricas (PUCV – Chile)

	Pulpa	Cáscara
Metanización [%]	82,5	90,3
Potencial de metanización [ml CH <sub>4</sub> /g SV <sub>alim.</sub> ], 25°C, 1 atm.	327	399
SV <sub>final</sub> [%]	36,6	39,2

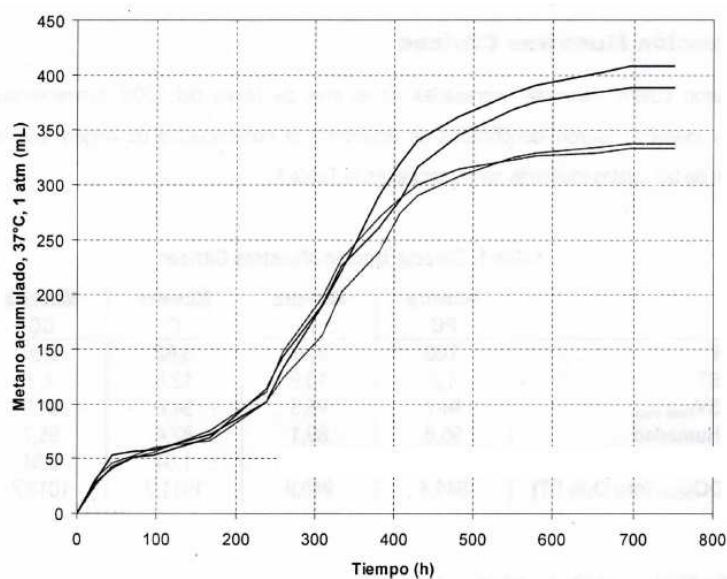


Figura 7.8. Perfiles de degradación de muestras cítricas en ensayo de potencial de metanización (PUCV – Chile)

En estas experiencias, el laboratorio de la PUCV trabajó con una concentración de sustrato igual al doble o más que las contempladas en los protocolos de la EEAO, obteniéndose una producción final de metano en una proporción similar.

Resultados consistentes con los obtenidos en esta tesis muestra Navarro *et al.* (2013) trabajando también con restos de pulpa provenientes de la industrialización del limón.

Sin embargo, Gunaseelan (2003) arribó a valores de 473 ml CH<sub>4</sub>/g SV, los cuales resultan superiores en un 35% a los obtenidos en esta tesis, aunque también se reportaron trabajos donde el rendimiento de metano fue menor, y estuvo en el rango de 210 a 290 ml CH<sub>4</sub>/g SV (Ruiz, Flotats, 2014).

De la comparación y correlación de los resultados obtenidos en la EEAO y los expuestos por bibliografía se concluye que los residuos industriales ensayados son susceptibles de ser degradados anaeróbicamente.

### **7.2.3. Evaluación de la biodigestión anaeróbica de pulpa y de cáscara en reactores tipo CSTR a escala laboratorio**

#### **7.2.3.1. Introducción**

Entre los numerosos tipos de reactores citados por bibliografía (Chamy, *et al.*, 2003), aptos para sustratos semisólidos de elevada humedad, se mencionan los reactores de mezcla completa, conocidos por sus siglas en inglés como CSTR.

Los reactores de mezcla completa permiten un contacto íntimo entre los microorganismos que intervienen en la degradación anaeróbica y el sustrato a degradar, evitando la estratificación de la mezcla de reacción. Todas las fases de degradación se producen en el mismo recipiente.

Para iniciar esta parte del trabajo, que corresponde al segundo objetivo de esta tesis, se diseñó un ensayo orientado a identificar las variables del proceso de degradación anaeróbica de la pulpa y de la cáscara de limón por separado (residuos considerados como semisólidos, teniendo en cuenta que su humedad promedio es del 90%), empleando reactores de mezcla completa, evaluando la producción de biogás, el porcentaje de metano presente en él y el abatimiento de la DQO a diferentes velocidades de carga orgánica.

### **7.2.3.2. Materiales y métodos**

Tanto para los residuos de pulpa como para los de cáscara se construyó un reactor de 20 litros, de tipo CSTR, pero para alimentarse en forma manual y discontinua debido a los elevados costes para implementar una alimentación mecánica continua. Se elaboró un sistema inicial de digestión constituido por lodo anaeróbico activo, macro y micronutrientes, y el sustrato correspondiente.

Para el seguimiento del equilibrio ácido base se adoptó la determinación de la relación alfa, descrita en el capítulo 4.

Algunos autores (Rojas, 1987) refieren que un valor de alfa de 0,2 resulta óptimo, mientras que un valor de 0,35 indica un inicio de acidificación, situación en la cual se debe observar y analizar la tendencia de este parámetro a los efectos de tomar medidas tales como reducir o suspender la alimentación, en caso de que continúe ascendiendo su valor, hasta que el proceso se equilibre nuevamente en forma natural.

### **7.2.3.3. Montaje experimental**

Empleando recipientes plásticos con tapa, se construyeron biodigestores anaeróbicos de mezcla completa, de un volumen efectivo de trabajo de 17 litros. Se fabricaron dos reactores: uno para pulpa y otro para cáscara.

Se elaboró un protocolo de biodigestión, en el que se propuso incrementar paulatinamente la velocidad de carga orgánica (VCO), monitoreando el equilibrio ácido base del sistema, midiendo la producción de biogás y la reducción de la carga orgánica.

Básicamente, el reactor consta de una entrada para alimentación de sustrato (cáscara o pulpa), una descarga de lodos, una salida de biogás y un dispositivo de agitación formado por dos paletas planas unidas a un eje con manivela para la agitación mecánica o manual. Se utilizaron mangueras de látex para la circulación del biogás hasta el recipiente colector (Figura 7.9).

Todo el sistema se introdujo en un gabinete termostatzado, de dimensiones adecuadas, para mantener la temperatura entre 32°C y 35°C, usando para ello un caloventor eléctrico regulado por un controlador de temperatura.





Figura 7.9. Biodigestor (blanco) y recipiente colector del biogás (azul).

Se realizó la caracterización química de lodos y de los sustratos, volcados en la tabla 7.8, siguiendo la siguiente metodología (APHA, 2005):

Tabla 7.8. Caracterización promedio de pulpa y cáscara.

	Pulpa	Cáscara
pH	4	4,5
DQO (mg/Kg)	105000	130000
Nitrógeno Kjeldahl (%)	0,18	0,16
Fósforo (mg/100 g)	23	15
ST (g/Kg)	95,5	99,9
SF (g/Kg)	3	3,7
SV (g/Kg)	92,5	96,2

#### 7.2.3.4. Arranque de reactores a escala laboratorio

Para el inicio del proceso de biodigestión anaerobia, se preparó una mezcla inicial conformada por inóculo, sustrato (pulpa en un reactor y cáscara en el otro), macro y micronutrientes.

Se agregó al reactor una cantidad de inóculo suficiente para contener 3 g de sólidos suspendidos volátiles (SSV) por litro de reactor.



Figura 7.10. Reactores ubicados en el gabinete termostatzado.

Como nutrientes se usaron cloruro de amonio, fosfato de potasio, cloruro de calcio y sulfato de magnesio. También se administraron trazas de hierro, cobalto, níquel, cobre, manganeso y zinc, como micronutrientes y se le suplementó con extracto de levadura.

Se neutralizó la mezcla inicial de arranque de cada biodigestor con bicarbonato de sodio.

Se adoptó un volumen de arranque equivalente al 40% del volumen final de trabajo y se incubó en un gabinete termostatzado a una temperatura situada entre 32°C y 35 °C.

En la Figura 7.11 se observa el gabinete termostatzado con los reactores en su interior y, en su exterior y a la izquierda, las botellas colectoras de biogás.



Figura 7.11. Vista exterior del gabinete termostatzado

### 7.2.3.5. Alimentación y control del proceso

Una vez preparada la mezcla inicial, se determinaron los parámetros para controlar la evolución del sistema (DQO, sólidos volátiles, pH y relación alfa).

Para alimentar el sistema, se ingresó diariamente, en una sola operación, una cantidad medida de sustrato al reactor (alimentación por pulsos). Antes de la operación de alimentación, y a los efectos de mantener constante el volumen de trabajo, se extraía del reactor un volumen idéntico al volumen a alimentar.

La cantidad diaria de sustrato, expresada en kgs de DQO, que se incorpora por unidad de volumen del reactor se define técnicamente como velocidad de carga orgánica (VCO), o sea, son los kgs diarios de DQO ingresados por  $\text{m}^3$  del reactor ( $\text{kgDQO m}^{-3} \text{d}^{-1}$ ).

Se inició el proceso a VCO de  $0,5 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{d}^{-1}$  y se fue aumentando paulatinamente mientras no se detectaron inestabilidades.

Para estimar el estado del equilibrio ácido base se monitoreó la relación alfa.

### 7.2.3.6. Medición de biogás y porcentaje de metano

El volumen de biogás generado en el proceso se midió por desplazamiento de líquidos en una botella graduada invertida.

Periódicamente se realizó una purificación del biogás haciéndolo fluir por una solución concentrada de hidróxido de sodio donde quedan retenidos el dióxido de carbono y el sulfuro de hidrógeno, dejando atravesar sólo el metano, el cual se recogía en una botella graduada. Esto permitió calcular el porcentaje de metano en el biogás (Figura 7.12).



Figura 7.12. Sistema de purificación del biogás.

### 7.2.3.7. Resultados

En la Figura 7.13 se puede observar el abatimiento de DQO para ambos reactores conforme aumenta la VCO. Se observa que se mantiene en torno al 90% hasta el día 110 y una VCO de 1,75 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, aproximadamente.

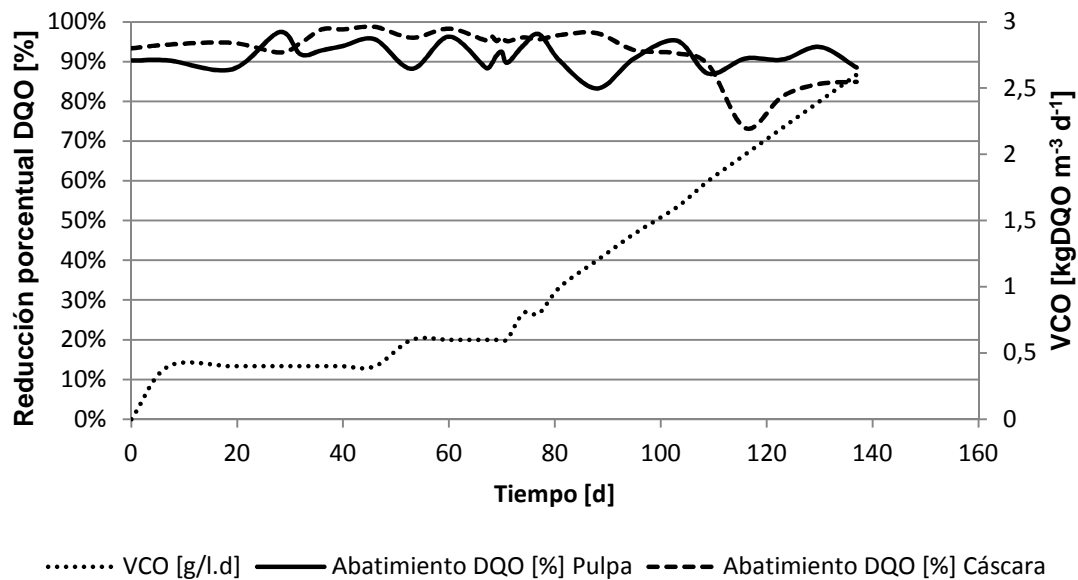


Figura 7.13. Correlación entre reducción de DQO y VCO.

En la Figura 7.14 se muestra la variación de la razón alfa en ambos reactores cuando se incrementa progresivamente el valor de la VCO observándose que al aumentar ésta aumenta la relación alfa, indicando acidificación del sistema.

Esto revelaría que estos sistemas, con el montaje experimental descrito, tendrían un límite de operación en torno a 2 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>.

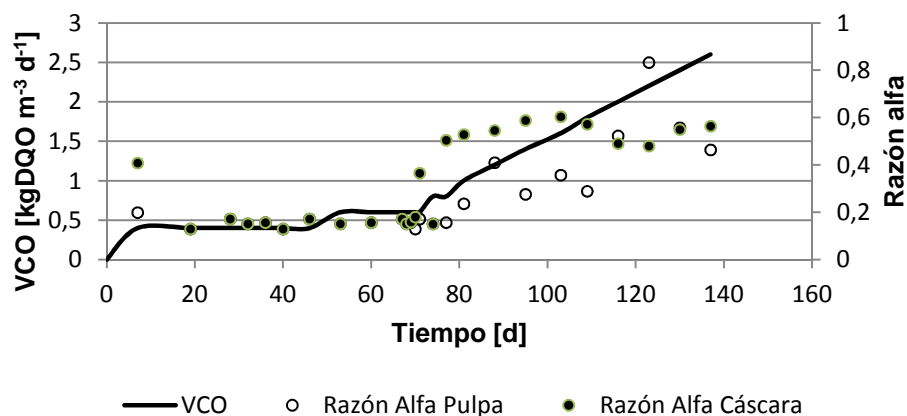


Figura 7.14. Correlación entre la VCO y razón alfa.

Trabajando a una VCO de  $2 \text{ kgDQO m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$ , por ejemplo, la producción de biogás alcanzó un volumen promedio de unos 17 litros, detectándose una caída de la DQO superior al 90% en ambos casos, aunque decreciendo hacia los días finales del ensayo.

En el reactor de pulpa, si se analizan las relaciones entre la VCO eliminada y la VCO metanizada con respecto a la VCO de alimentación, se observa una pendiente para eliminación de DQO cercana al 91% y una pendiente para la metanización en torno a 0,86 con lo que la Yobs. estaría aproximadamente en 0,05 (Figura 7.15).

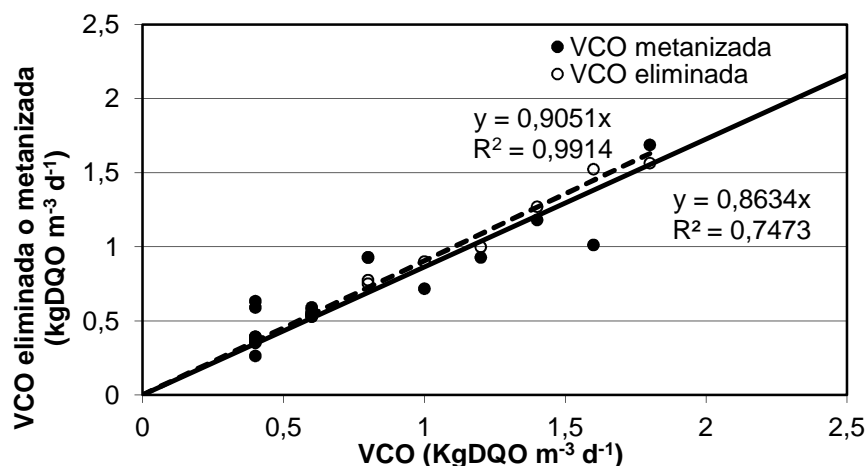


Figura 7.15. VCO eliminada y metanizada en función de la VCO de alimentación (Reactor de pulpa)

Para el reactor de cáscara, la pendiente de eliminación de DQO estaría en 94% (solo hasta cargas de 1,8) y la pendiente de metanización, como la anterior, en torno a 0,86 (Figura 7.16).

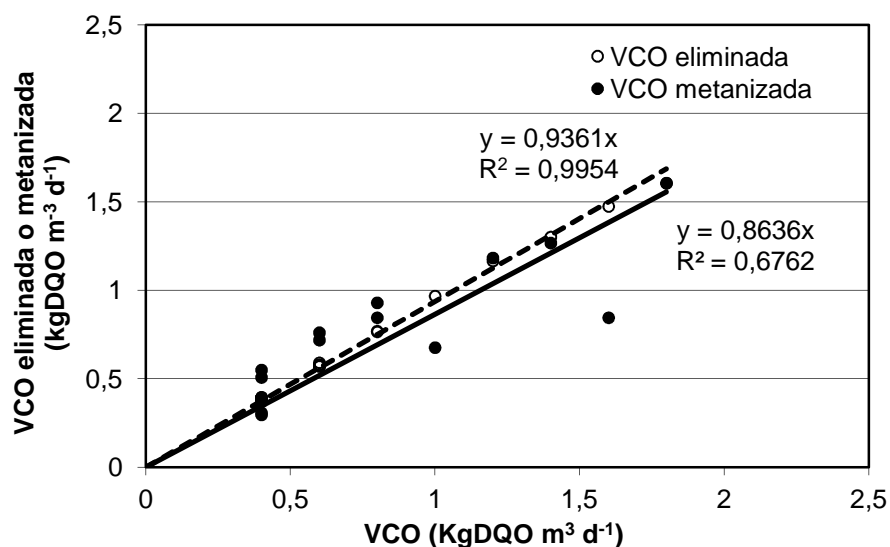


Figura 7.16. VCO eliminada y metanizada en función de la VCO de alimentación (Reactor de cáscara)

En este caso el  $Y_{obs}$  sería algo mayor (0,08), aunque del mismo orden y ambos muy bajos y próximos al crecimiento observado para bacterias metanogénicas, con lo que no habría acumulación de sólidos en los reactores en estas condiciones.

En cuanto a la eliminación de sólidos y su evolución en los reactores, se pueden observar en las gráficas 7.17 y 7.18, los porcentajes de eliminación de ST y SV, carga de ST y SV. Además, el lodo extraído está altamente mineralizado (cerca de un 85 %).

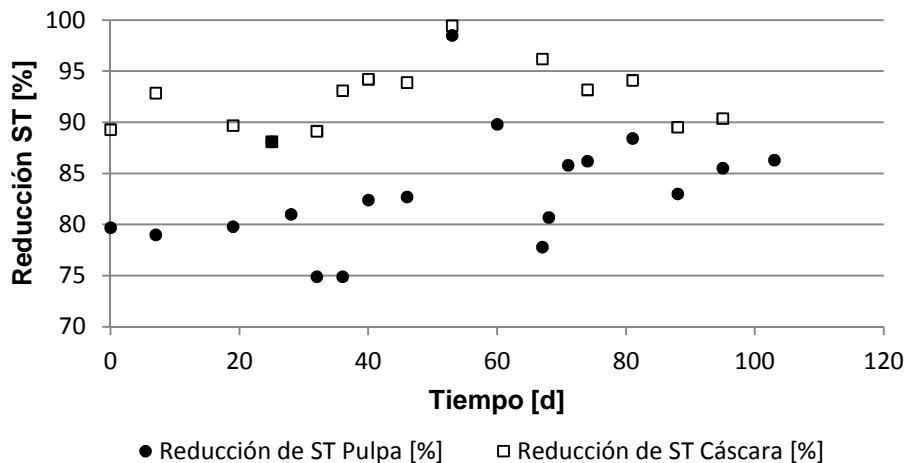


Figura 7.17. Reducción porcentual de ST en los reactores.

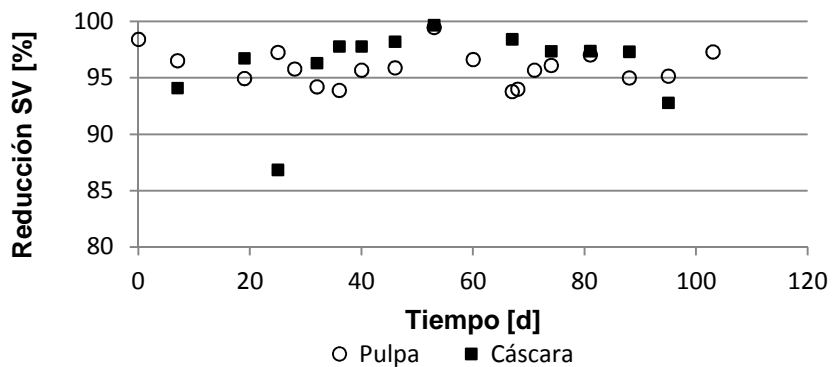


Figura 7.18. Reducción de SV en los reactores.

La evolución de sólidos volátiles en los reactores promedian valores en torno a 3 g/l para cáscara y 4,5 g/l para pulpa. Son además cercanos a la concentración de SV inicial en los reactores lo que confirma la no acumulación (Figura 7.19).

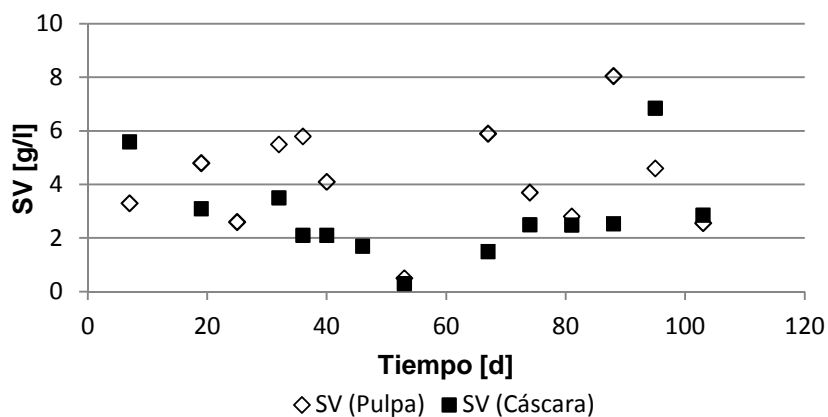


Figura 7.19. Evolución de SV (cáscara y pulpa).

La mineralización estaría en torno a un 74% para los sólidos en el reactor con pulpa y en un 77% para el reactor con cáscara, con lo que el efluente presentaría un grado de estabilización muy elevado (Figura 7.20).

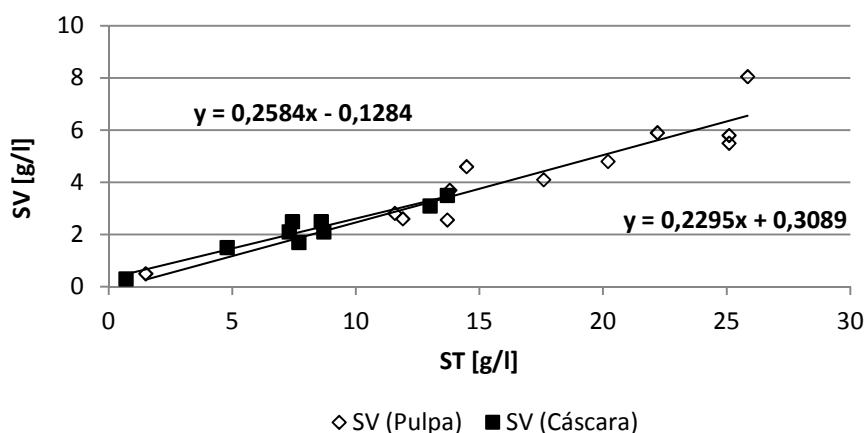


Figura 7.20. Mineralización

En este punto, las conclusiones acerca de la biodegradabilidad de estos residuos y los balances obtenidos son compatibles con los obtenidos por Navarro *et al.* (2013), trabajando con similares sustratos.

Elango *et al.* (2006), trabajando con la fracción orgánica de residuos sólidos municipales y con una carga de 2,9 kg SV/m<sup>3</sup>.d obtuvieron rendimientos de biogás parecidos a los aquí logrados a una carga de 2 kg SV/m<sup>3</sup>.d.

En trabajos similares, Bouallagui *et al.* (2004) evaluaron la performance de biorreactores anaeróbicos trabajando en la digestión anaeróbica de residuos de frutas y verduras, cuya composición presenta algunos atributos similares a los residuos cítricos.

Obtuvieron una conversión entre el 70% y el 95% de la materia orgánica en metano, valores que guardan coherencia con los obtenidos en esta tesis.

### **7.2.3.8. Conclusiones**

Como resultado de esta investigación, se concluye que tanto los residuos de pulpa como los residuos de cáscara admiten un tratamiento por biodigestión anaeróbica, empleando reactores de tipo CSTR alimentados en discontinuo, con relativa eficiencia hasta una VCO de  $2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ .

Como aspecto desventajoso, se señala que trabajando a esta VCO, resulta extendido en sus tiempos de residencia, cercano a los 50 días.

### **7.2.4. Evaluación de la biodigestión anaeróbica de la mezcla de pulpa y cáscara en reactores tipo CSTR a escala piloto**

#### **7.2.4.1. Introducción**

Una vez conocidos los resultados de la biodigestión anaeróbica de los residuos constituidos por pulpa y por cáscara, y para completar el segundo objetivo de esta tesis, se procedió al estudio de la digestión anaerobia de estos residuos mezclados, tal como se los obtiene al realizarse su separación durante el tratamiento primario del efluente crudo.

Dadas las características del sustrato a tratar, cuyo tenor de sólidos está en el orden de los  $100 \text{ g/kg}$ , el tipo de biodigestor a seleccionar debe poseer un eficiente sistema de mezclado.

#### **7.2.4.2. Materiales y métodos**

Se construyó un reactor de 1000 litros, de tipo CSTR térmicamente aislado y termostatzado a  $35^{\circ}\text{C}$ , con agitación mecánica.

Se elaboró un sistema inicial de digestión constituido por lodo anaeróbico disperso activo, macro y micronutrientes, y el sustrato mencionado.

Por razones de coste, se estableció que la alimentación de sustrato se realice en una sola operación diaria, extrayendo previamente del reactor un volumen idéntico al de alimentación.

Periódicamente se determinó DQO y sólidos a la salida del reactor y se midió el biogás generado. Se monitoreó la estabilidad del proceso mediante determinaciones de relación alfa.



### 7.2.4.3 Montaje experimental

La planta piloto, cuyo esquema se puede apreciar en la Figura 7.21, consta de las siguientes partes:

- Un reactor de acero inoxidable donde se lleva a cabo el proceso de biodigestión, de 1000 litros de capacidad (1,5 m de altura y 0,96 m de diámetro), con aislación térmica de lana mineral. El sistema de agitación está compuesto de un motorreductor y dos paletas planas de acero inoxidable dispuestas horizontalmente.
- El sistema para mantener la temperatura del proceso está conformado por un termotanque eléctrico que calienta el agua, a no más de 50°C, para que circule a través de un serpentín situado en el interior del reactor, impulsada por una electrobomba centrífuga marca Fema modelo DFVm60. La bomba es accionada automáticamente por un termostato marca Novus modelo N 321 NTC, que recibe la señal desde un sensor de temperatura ubicado en el interior del reactor.
- El sistema de medición de producción de biogás consta de un caudalímetro o medidor de flujo másico modelo Cole Parmer 32707-30 con display digital, conectado a un indicador de proceso universal marca ABB modelo Commander 150 trabajando en la función de totalizador.

Previo al ingreso del biogás al caudalímetro se instaló un tanque pulmón de 20 litros para amortiguar las fluctuaciones del caudal de biogás y para retener el agua arrastrada por el biogás y el agua condensada en la manguera conductora.

Desde la salida del caudalímetro, el biogás es conducido hacia una botella arrestallama y, posteriormente, hacia un quemador tipo Bunsen para quemar el biogás generado.

La parte superior del reactor posee una boca de alimentación para el residuo semisólido, un manómetro, una válvula de seguridad y la salida de biogás.

En la base del reactor se instaló una válvula para la descarga de lodos.

En la Figura 7.22 se puede apreciar una perspectiva del reactor y del sedimentador.

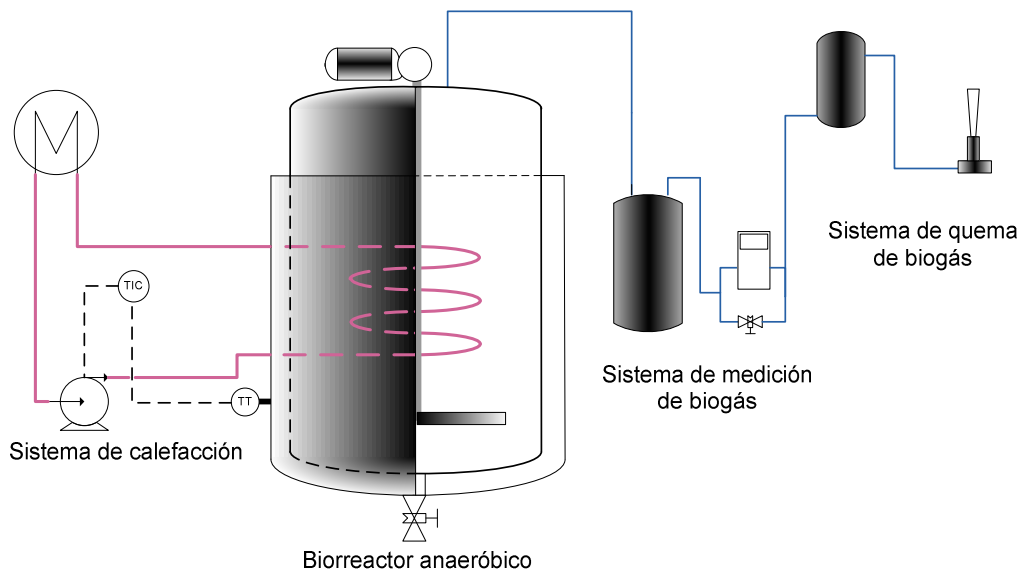


Figura 7.21. Representación del biodigestor piloto con su sistema de calefacción, sistema de agitación y circuito de biogás hasta llegar al quemador.

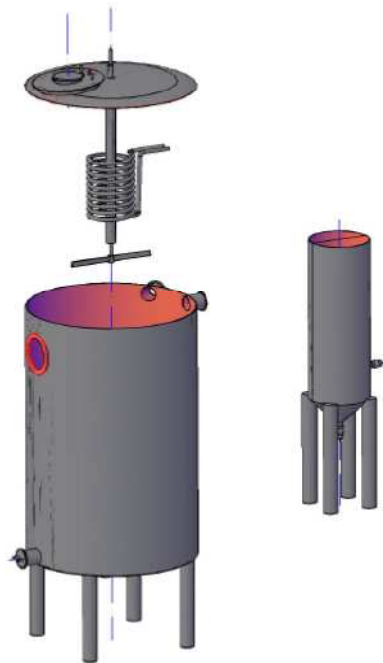


Figura 7.22. Perspectiva del biodigestor y sedimentador.

Como elemento accesorio e independiente del cuerpo del reactor, se diseñó un sedimentador de lodos de 100 litros de capacidad, construido en acero inoxidable, de forma cilíndrica, sin tapa en su parte superior y salida discontinua de lodos a través de

una válvula de accionamiento manual situada en su base. Su altura es de 1,0 m y su diámetro es de 0,35 m.

Las figuras 7.23, 7.24 y 7.25 muestran fotografías de diferentes ángulos del reactor piloto.



Figura 7.23. Vista externa del biodigestor escala piloto.

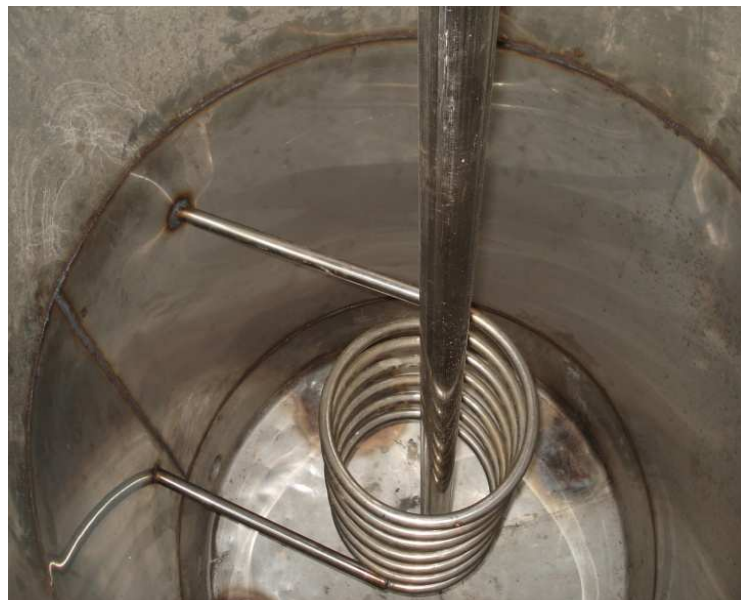


Figura 7.24. Vista interna del biodigestor piloto donde destaca el eje central y el serpentín para calefacción.



Figura 7.25. Parte superior del biodigestor donde destaca el manómetro, el motor del agitador, la salida de biogás (manguera azul) y la boca de alimentación (cerrada).

#### 7.2.4.4. Arranque del biodigestor

Se formuló un sistema inicial para el arranque del proceso de biodigestión constituido de la siguiente manera:

- a) Inóculo: 400 litros de lodos con actividad metanogénica testeada en laboratorio, provenientes de lagunas de disposición de efluentes cítricos de una compañía local, con un contenido de 6 g de sólidos suspendidos volátiles por litro (SSV/l).
- b) Sustrato: residuos semisólidos de industria citrícola, mezcla de pulpa y de cáscara, en una cantidad equivalente a 5 g DQO/l de volumen de trabajo del reactor.
- c) Bicarbonato de sodio: 0,5 gramos de bicarbonato por gramo de DQO.
- d) Nutrientes: solución que contiene nitrógeno, fósforo y metales esenciales como calcio, magnesio, hierro, zinc, cobalto, manganeso y cobre en cantidades traza.

#### 7.2.4.5 Alimentación

La alimentación se inició, una semana después de la puesta en marcha, ingresando diariamente 5 kg de residuo semisólido y 5 kg de agua. El reactor se alimentó bajo esta modalidad hasta completar el volumen de trabajo de 1000 litros.

#### 7.2.4.6. Proceso en régimen

Se inició el proceso a una VCO de  $0,5 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Al cabo de 2 meses se procedió a alimentar con una VCO de  $1 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ .

Tres meses más tarde se aumentó la alimentación a una VCO de  $2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , es decir, alrededor de 20 kg de sustrato diario.

Las principales operaciones realizadas en la planta fueron:

- a) Control de temperatura y agitación: diariamente se comprobó el funcionamiento apropiado del agitador y del sistema de termostatación.
- b) Extracción, sedimentación y reciclo de lodos: esta operación consiste en extraer diariamente un volumen de lodo y sedimentarlo durante 30 minutos. Luego se descarta la fracción más clara y se retorna al biodigestor aquella con mayor contenido de sólidos. Esta operación se realiza a los efectos de conservar en el reactor una buena concentración de microorganismos activos.
- c) Alimentación: consiste en ingresar en el reactor un volumen de sustrato acorde a la VCO del momento. El balance entre volumen de alimentación, descarga de lodos y reciclo de ellos, previa sedimentación, permite mantener el volumen de trabajo constante.
- d) Control de caudal de biogás: cada 6 horas se tomaron lecturas del equipo totalizador.
- e) Monitoreo fisicoquímico: se realizaron ensayos semanales tendientes a controlar el equilibrio ácido base del proceso y a determinar el abatimiento de la DQO con respecto a la DQO de entrada.

$$\% \text{ Abatimiento} = \left( 1 - \frac{\text{DQO}_{\text{Salida}}}{\text{DQO}_{\text{Entrada}}} \right) \cdot 100$$

#### 7.2.4.7. Resultados y conclusiones

##### 7.2.4.7.1. Estabilidad en el arranque

No se detectaron las situaciones de inestabilidad que pueden presentarse en el arranque del proceso, atribuibles a desequilibrios entre las velocidades metabólicas de los microorganismos generadores de ácidos y la de sus consumidores.

La adición de bicarbonato de sodio en el inicio del proceso permitió dotar al sistema de capacidad de respuesta ante estas potenciales inestabilidades, propias de esta etapa.

### 7.2.4.7.2. Estabilidad durante el proceso en régimen

En la Figura 7.26 se observa la evolución de la relación alfa a diferentes VCO. Se nota que, en torno a una VCO de 2 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, el sistema se presenta estable, con una relación alfa en torno a los 0,33.

Si bien hay varios métodos para evaluar la alcalinidad de un sistema acuoso, los sistemas anaeróbicos contienen otros compuestos orgánicos e inorgánicos con capacidad buffer en el mismo rango de pH del bicarbonato, pero de menor efectividad que éste en el control de la acidificación (Björnsson, *et al.*, 2001; Rojas, 1987).

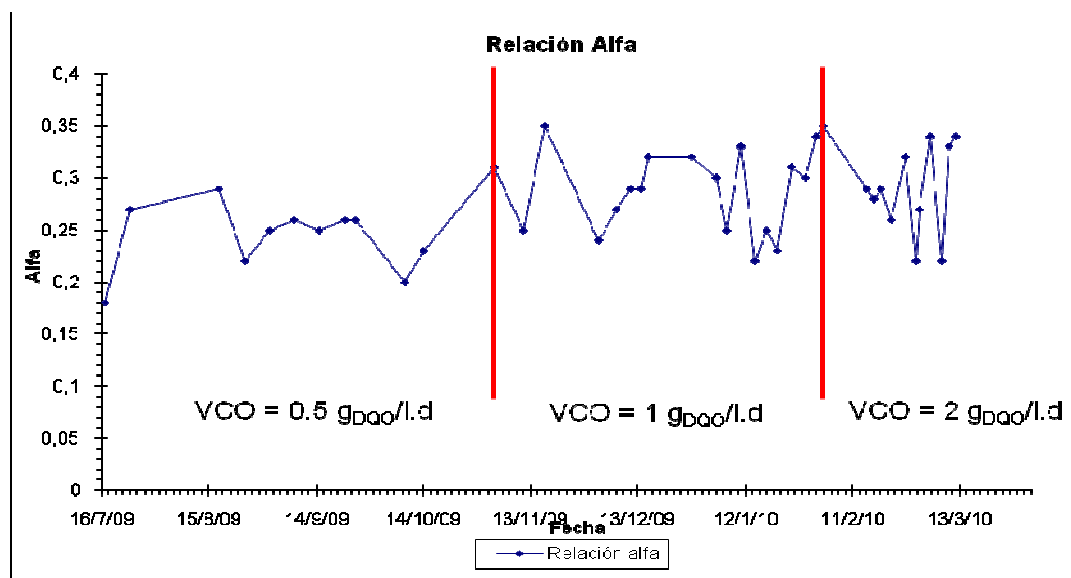


Figura 7.26. Evolución de la relación alfa para diferentes VCO.

### 7.2.4.7.3. Abatimiento de la carga orgánica

El residuo semisólido a procesar presentó los siguientes datos de caracterización:

DQO (g/kg): 97,1 ± 5,4 (n= 10)

ST (g/kg): 100,7 ± 4,4 (n= 10)

SF (g/kg): 2,6 ± 0,4 (n= 10)

SV (g/kg): 97,7 ± 4,0 (n= 10)

A fin de evaluar el abatimiento de la materia orgánica en el proceso de biodigestión, se emplearon las medidas de DQO del sustrato de alimentación y DQO del lodo de salida.

En la Tabla 7.9 se muestra el porcentaje de abatimiento de materia orgánica con respecto a las VCO, donde se puede observar que, en todos los casos, se alcanzó más del 80% de degradación de la materia orgánica ingresada.

Tabla 7.9. Porcentaje de abatimiento de la DQO y de reducción de los sólidos totales para distintas VCO.

VCO [kgDQO m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> ]	Porcentaje de reducción	
	Materia orgánica (DQO)	Sólidos totales
0,5	82,7 ± 3,4	69,2 ± 2,2
1	82,2 ± 3,6	71,1 ± 1,5
2	81,3 ± 2,3	75,1 ± 1,7

#### 7.2.4.7.4. Producción de biogás

En la Figura 7.27 se grafica la producción de biogás del sistema estudiado trabajando a una VCO de 1 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>., durante una fracción del tiempo del ensayo.

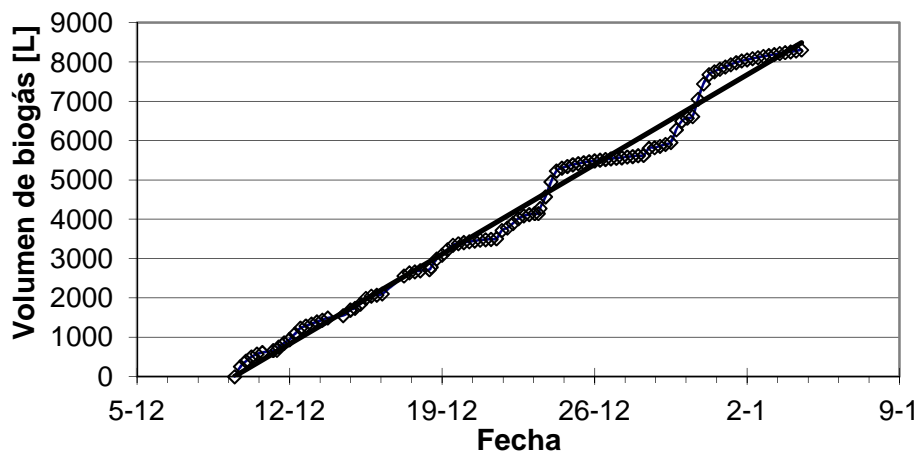


Figura 7.27. Biogás acumulado a VCO 1

En este período de mediciones se registró una producción de 330 litros diarios de biogás, con un contenido promedio de metano del 65%.

A VCO de 1 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>., y considerando volumen del reactor de 1 m<sup>3</sup>:

DQO diaria ingresada:  $VCO * V = 1 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1} * 1 \text{ m}^3 = 1 \text{ kg DQO/d}$

Considerando una reducción promedio del 82% de esta DQO:

DQO abatida diaria:  $1 \text{ kgDQO/d} * 0,82 = 0,82 \text{ kgDQO abatida.}$

Metano teórico esperado:

1 kg DQO → 380 litros de CH<sub>4</sub> (teórico a 25°C y presión de 1 atm.)

0,82 kg DQO → X = 311,6 l de CH<sub>4</sub> → 479 litros de biogás.

Eficiencia de recuperación de biogás:

$$100 * 330/479 = 68,89\%.$$

#### **7.2.4.7.5. Conclusiones**

El modelo de planta piloto construido permitió estudiar los parámetros operativos básicos de la biodigestión anaerobia de los residuos semisólidos provenientes de la industria citrícola.

Aunque en esta experiencia solo se trabajó hasta una VCO igual a  $2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , por una cuestión ajena al marco investigativo, todo indica que este proceso puede estudiarse a mayores escalas.

A los efectos de controlar la estabilidad del proceso de biodigestión, la relación alfa resultó un parámetro adecuado y práctico, por su simplicidad de ejecución y su escaso requerimiento de equipos y reactivos, en contraste con otras técnicas indicadas para este fin, como la determinación de AGV por cromatografía o por destilación y posterior titulación.

La estabilidad observada indica que es factible estudiar este proceso incluso a mayores VCO, de modo de conocer los límites de trabajo exigibles para este diseño. Se resalta que este montaje exhibió mayor estabilidad a VCO de  $2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  que la mostrada por los reactores de 20 litros, atribuibles al mayor tiempo de residencia de sólidos lograda por las operaciones de sedimentación y recirculación de sólidos.

En líneas generales se superó el 80% de degradación de la materia orgánica ingresada, medida en términos de DQO. Se observa que la DQO de los lodos de salida no presenta variaciones importante con el incremento de la VCO, en el rango de VCO ensayados.

Como residuo del proceso se obtuvo un lodo acuoso con un contenido de sólidos totales comprendido entre 25 y 31 g/l y con una salinidad apta para ser dispuesto, de manera controlada, en suelos cultivables o en caminos de fincas.

La producción de biogás fue coherente con los valores teóricamente esperados en base a la materia orgánica degradada. Sin embargo se observaron, empíricamente, pérdidas de biogás en el efluente de salida del reactor.

Con el conjunto de resultados obtenidos en este bloque, se da respuesta al segundo objetivo de esta tesis.



## 8. TRATAMIENTO BIOLÓGICO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES

### 8.1. Biodegradabilidad anaerobia de efluentes líquidos citrícolas

#### 8.1.1. Introducción

Los ensayos de biodegradabilidad anaeróbica del efluente cítrico se emplean, en forma análoga al realizado en los residuos semisólidos, para establecer su potencial de metanización y también su tasa de biodegradación.

#### 8.1.2. Materiales y métodos

Se empleó la metodología descrita en el apartado 4.3. El montaje experimental es similar al descrito para la determinación de AME, con la diferencia que, en lugar de AGV como sustrato, se adiciona el sustrato a evaluar (efluente líquido en este caso).

Para este ensayo, se prepararon “frascos de sacrificio” a los efectos de usarlos para determinar la DQO y graficar su abatimiento en el curso del tiempo. Las muestras fueron filtradas para descartar el efecto del inóculo.

#### 8.1.3. Resultados y discusión

En la Figura 8.1 se observa el perfil de producción de metano generado por el efluente cítrico testado.

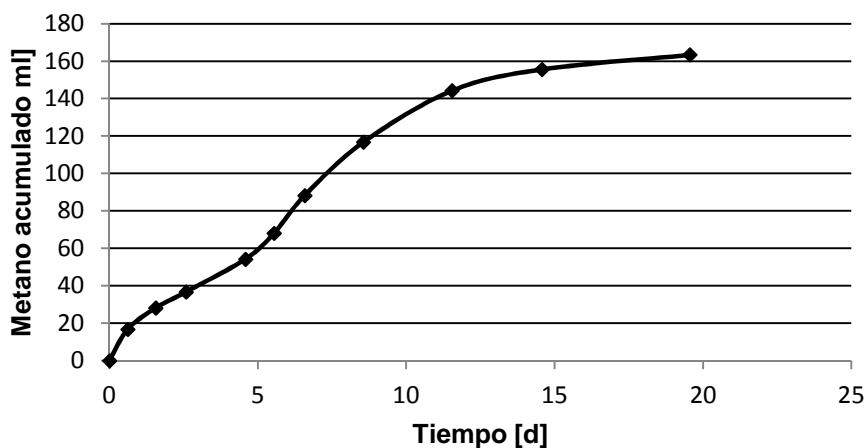


Figura 8.1 Producción de metano por biodigestión de efluente cítrico.

En la figura 8.2 se observa el perfil del abatimiento de DQO en función del tiempo y en la tabla 8.1 se muestran los valores de DQO en función del tiempo transcurrido.

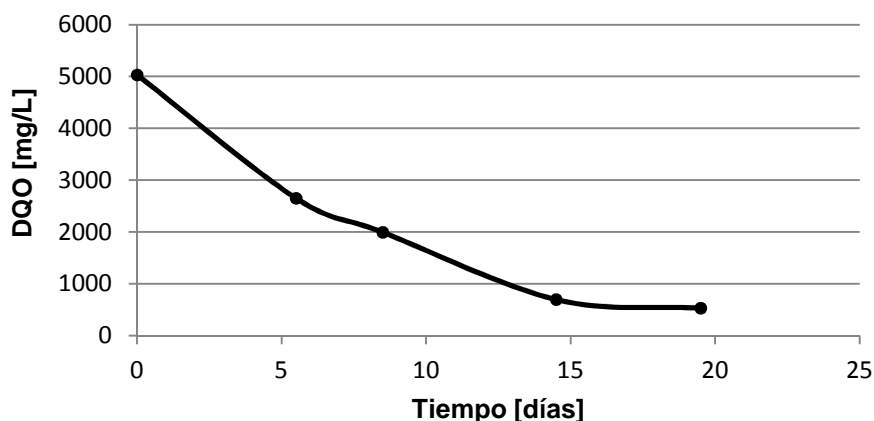


Figura 8.2. Perfil del abatimiento de DQO en función del tiempo

Tabla 8.1. Valores de DQO promedio según el tiempo de monitoreo.

Tiempo [d]	0	5,5	8,5	14,5	19,5
DQO EC [mg/l]	5031,5	2652,4	1996,8	698,2	532,7

El ensayo se extendió por espacio de 20 días, arribándose a una biodegradabilidad final de 89,41% de la DQO inicial.

El potencial de metanización determinado en estas condiciones fue de 355 mlCH<sub>4</sub>/gDQO, medidos a 25°C y a presión de 1 atm.

Tanto los resultados de generación de metano, a partir de efluente cítrico, como los relacionados con el abatimiento de la DQO, guardan consistencia con los presentados por Siles *et al.* (2007) trabajando con efluentes provenientes del lavado de cáscara, durante la obtención de jugo de naranja, y con los de Gunaseelan V. (2003), quien trabajó con limón y otras variedades de frutas.

## 8.2. Ensayos de toxicidad

### 8.2.1. Toxicidad del aceite esencial de limón

#### 8.2.1.1. Introducción

Cuando se aborda el tratamiento biológico de los efluentes líquidos, es aconsejable tener presente la posibilidad del ingreso involuntario al reactor, de alguna sustancia que resulte nociva para la actividad biológica. En este contexto, se consideró apropiado investigar la toxicidad del D-limoneno, presente en el aceite esencial del limón.

Con las actuales tecnologías de recuperación de aceite esencial se avanzó sustancialmente en la eficiencia de su extracción, pero, aun así, es poco probable evitar que el efluente de esta línea contenga algún residuo de aceite que, en determinadas

situaciones, puede llegar al tratamiento biológico posterior. Por ello, se intuye conveniente conocer la incidencia que presenta este compuesto sobre la actividad de las bacterias metanogénicas.

### 8.2.1.2. Materiales y métodos

Se sabe que el aceite esencial está compuesto por diversas sustancias con actividad biológica inhibitoria. Sin embargo, la que se encuentra en mayor proporción es el D-limoneno, por lo que se tomó esta sustancia como referente para calcular las dosis de aceite a aplicar en los ensayos. La tabla 8.2 muestra la composición, obtenida por cromatografía gaseosa, de una muestra de aceite estándar.

Tabla 8.2. Composición del aceite esencial usado en ensayos de toxicidad.

Compuestos	Porcentaje	Compuestos	Porcentaje
Alfa Thujeno	0,412	Endo Borneol	0,006
Alfa Pineno	1,926	Nonanol	0,006
Canfeno	0,062	Terpinen-4-ol	0,037
Sabineno	2,135	Alfa Terpineol	0,197
Beta Pineno	12,530	Decanal	0,048
Beta Mirceno	1,504	Nerol	0,030
Octanal	0,081	Neral	0,775
Fellandreno	0,038	Geraniol	0,026
Delta-3-Careno	0,003	Geranial	1,253
Alfa Terpineno	0,190	Undecanal	0,025
Para Cimeno	0,087	Citronellil Acetato	0,027
D- Limoneno	66,393	Neril Acetato	0,508
Ocimeno	0,108	Geranil Acetato	0,288
Gamma Terpineno	8,599	Cariofileno	0,211
Hidrato de Cis Sabineno	0,048	Bergamoteno	0,380
Octanol	0,000	Beta Farneseno	0,033
Terpinoleno	0,364	Bisaboleno	0,606
Linalol	0,095	Norbonanol	0,020
Hidrato de trans Sabineno	0,038	Camperol	0,024
Nonanal	0,091	Alfa Bisabolol	0,033
Citronelal	0,090	Citropteno	0,061

Para este ensayo, se procedió según la metodología descrita en el apartado 4.5. El montaje experimental es similar al empleado para determinación de AME, pero se diferencia en la adición de cantidades crecientes de aceite esencial de limón a los viales.

La dosis de aceite esencial agregada a los viales está expresada en términos de concentración de D-limoneno, considerando que es el componente mayoritario.

Se realizaron dos ensayos:

Ensayo 1: se probó con una concentración de D-limoneno de 0 a 100 ppm, usando un lodo activo proveniente de una laguna de residuos cítricos.

Ensayo 2: se probó con una concentración de D-limoneno de 0 a 200 ppm, usando un lodo proveniente de otra laguna de residuos cítricos, debido a la escasez de muestras de lodos de la primera (notar las diferentes actividades metanogénicas medias).

### 8.2.1.3. Resultados

En las figuras 8.3 y 8.4 se grafica el metano acumulado para los ensayos 1 y 2, respectivamente.

Las tablas 8.3 y 8.4 exhiben los datos de los ensayos 1 y 2, respectivamente, sobre toxicidad del aceite esencial.

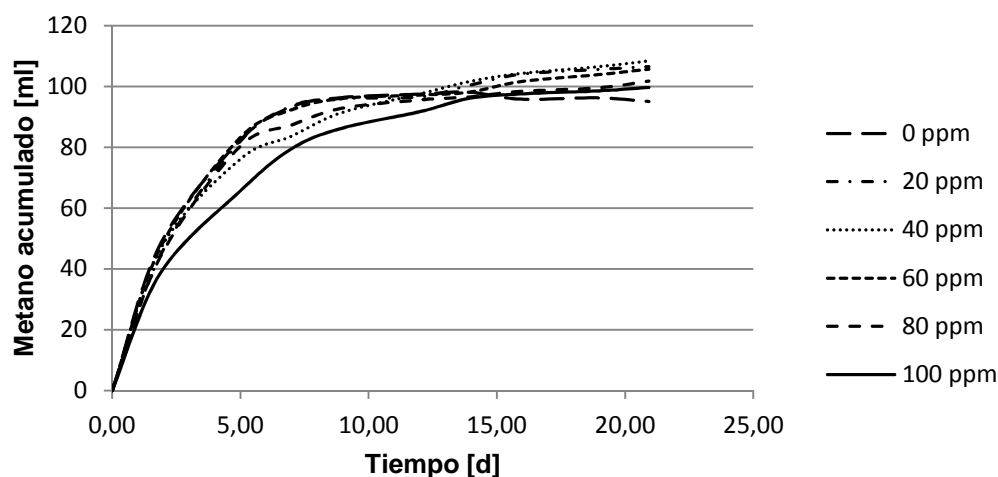


Figura 8.3. Acumulación de metano en el primer ensayo de toxicidad.

Tabla 8.3. Datos del ensayo 1 de toxicidad del aceite esencial.

D-limoneno [ppm]	Volumen de CH <sub>4</sub> producido	AME [gDQO/gSSV. d]	Inhibición
0	95,07	0,13 ± 0,015	-
20	106,45	0,13 ± 0,018	No
40	108,35	0,12 ± 0,015	No
60	105,6	0,14 ± 0,015	No
80	101,78	0,14 ± 0,019	No
100	99,6	0,13 ± 0,02	No

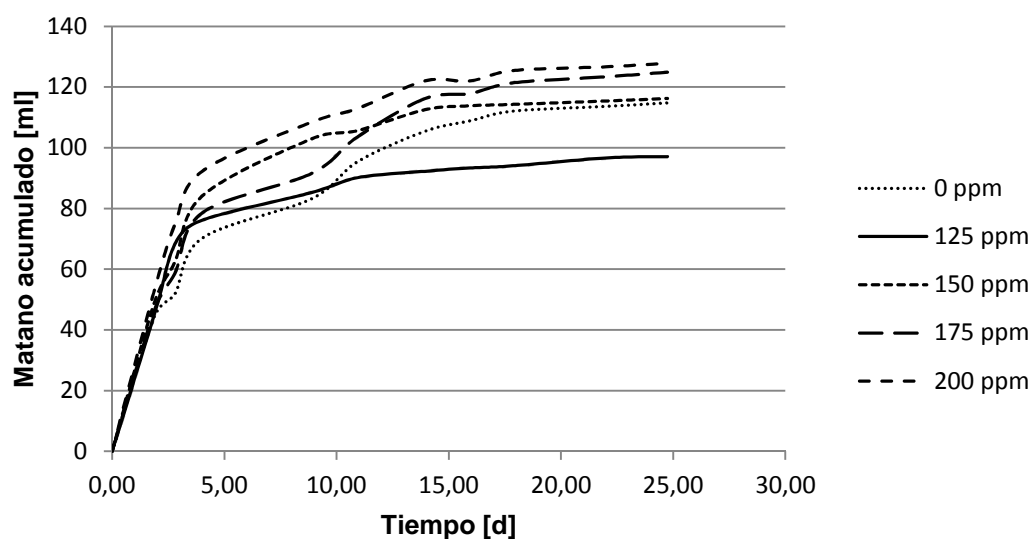


Figura 8.4. Acumulación de metano en el segundo ensayo de toxicidad.

Tabla 8.4. Datos del ensayo 2 de toxicidad del aceite esencial.

D-limoneno [ppm]	Volumen de CH <sub>4</sub> producido	AME [gDQO/gSSV. d]	Inhibición
0	114,725	0,22 ± 0,018	
125	97,10	0,19 ± 0,014	No
150	116,25	0,20 ± 0,017	No
175	124,83	0,19 ± 0,018	No
200	127,87	0,23 ± 0,020	No

Con la muestra de aceite usada, y bajo las condiciones en que se llevó a cabo el ensayo, no se detectó toxicidad hasta una concentración equivalente a 200 ppm de D-limoneno.

Si bien hay trabajos que resaltan las propiedades antibacterianas de los compuestos terpenoides (Maguna, *et al.*, 2008), de aceites de frutos cítricos variados (Dabbah, *et al.*, 1970) y de sus efectos combinados con otros antimicrobianos (Payán Saldívar, 2015), la mayoría de estos están orientados a la temática de conservación de alimentos y probados en bacterias patógenas intestinales.

También, la biodegradación anaeróbica de bajas concentraciones de limoneno (35-200 mg/l) fue testeada a 30°C empleando lodo anaeróbico granular, no observándose evidencias de su metabolismo, lo que se atribuye a su toxicidad (Sierra-Alvarez, *et al.*, 1990).

Sin embargo, en pruebas *in vitro* llevadas a cabo con microorganismos aislados del rumen de ciervos y ovejas, a temperaturas mesofílicas, los terpenos no oxigenados, como el limoneno, no exhibieron efectos inhibitorios agregados en una proporción de hasta 425 mg/l, mientras que si lo hicieron los terpenos oxigenados (Oh, *et al.*, 1967).

Por lo tanto, si bien los componentes mayoritarios de un aceite esencial reflejan algunas de sus propiedades biológicas, hay otras propiedades, como su actividad, penetración celular y adhesión a membranas, que pueden ser moduladas por algunos componentes minoritarios (Bakkali, *et al.*, 2008).

Se debe considerar que los efectos biológicos del aceite esencial también están influenciados por las condiciones medioambientales como temperatura, pH, actividad de agua y otros (Ruiz, Flotats, 2014).

Queda pendiente abordar ensayos de toxicidad metanogénica donde se estudie la incidencia de otros componentes que acompañan al D-limoneno en el aceite esencial de limón o con aceites de diferentes composiciones.

Además, se estima apropiado realizar ensayos en batch empleando agentes emulsionantes y también ensayos dinámicos en biodigestores de laboratorio.

## **8.2.2. Toxicidad de las sales de amonio cuaternario**

### **8.2.2.1. Introducción**

Las sales de amonio cuaternario son frecuentemente usadas como desinfectantes en determinados puntos de proceso de la industria alimentaria agroindustrial. Se aplican en concentraciones que varían entre 100 ppm y 250 ppm.

Esta solución tiene un tiempo limitado de actividad y debe renovarse diariamente, descartándose el sobrante del día anterior. En caso de dirigirse accidentalmente esta corriente hacia un sistema de tratamiento biológico de efluentes podría generar la inactivación de los microorganismos del biorreactor.

Por este motivo se evaluó el efecto tóxico del amonio cuaternario, en diferentes concentraciones, sobre la actividad metanogénica de los gránulos anaerobios provenientes de un reactor UASB, piloto industrial.

#### **8.2.2.2. Materiales y métodos**

La metodología seguida se describió en el apartado 4.5.

Se prepararon viales similares a los que se preparan para determinar AME, adicionándoles cantidades crecientes de amonio cuaternario.

El primer ensayo, denominado Serie I, se formuló con concentraciones de 20 ppm, 40 ppm y 60 ppm. En todas ellas hubo inhibición total de la AME, por lo que se realizó un segundo ensayo, llamado Serie II, donde las concentraciones de amonio cuaternario fueron 1,25 ppm, 5,2 ppm, 12,5 ppm.

#### **8.2.2.3. Resultados**

En las tablas 8.5, 8.6 y 8.7 se muestran los valores registrados de la producción de metano y los volúmenes acumulados en los viales dosificados con 1,25 ppm, 5,2 ppm y 12,5 ppm, respectivamente.

Adicionalmente, se muestran las temperaturas a las que se realizaron las mediciones.

En las figuras 8.5, 8.6 y 8.7 se observa el perfil de producción promedio de metano de estos viales.

También se ensayaron viales de control, sin amonio cuaternario, donde el porcentaje de inhibición es nulo.

Tabla 8.5. Registro de volumen de producción y acumulado de metano en viales dosificados con 1,25 ppm de amonio cuaternario.

		Volumen de metano registrado				Volumen de metano acumulado			Metano acum. Prom.
Tº	Tiempo (hs)	Blanco	Vial 1	Vial 2	Vial 3	Vial 1	Vial 2	Vial 3	
33,2	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0
33,4	23,5	1,2	10	11,2	9,9	8,8	10	8,7	9,2
32	47,7	2,4	18,9	21,3	22	25,3	28,9	28,3	27,5
34,2	94,2	4,6	55,0	77	69,0	75,7	101,3	92,7	89,9
34,1	142,0	2	52,0	50	45,0	125,7	149,3	135,7	136,9
33,6	189,5	1,6	24,0	23	20,0	148,1	170,7	154,1	157,6
33,4	261,2	1,1	9,0	7	6,0	156	176,6	159	163,9
34,3	310,0	1,6	3,2	2,7	2,5	157,6	177,7	159,9	165,1
34,1	358,3	0,9	1,6	1,6	1,6	158,3	178,4	160,6	165,8
34,9	429,7	1,3	2,2	4	3,5	159,2	181,1	162,8	167,7
34,2	478,1	1,9	2,5	0,5	2,9	159,8	181,1	163,8	168,23
35	526,6	1	1,4	3,5	1,5	160,2	183,6	164,3	169,37
34,2	598,7	1,4	2,4	1,7	1,3	161,2	183,9	164,3	169,8
34,6	671,1	0	0,5	0,3	0,3	161,7	183,9	164,3	169,97

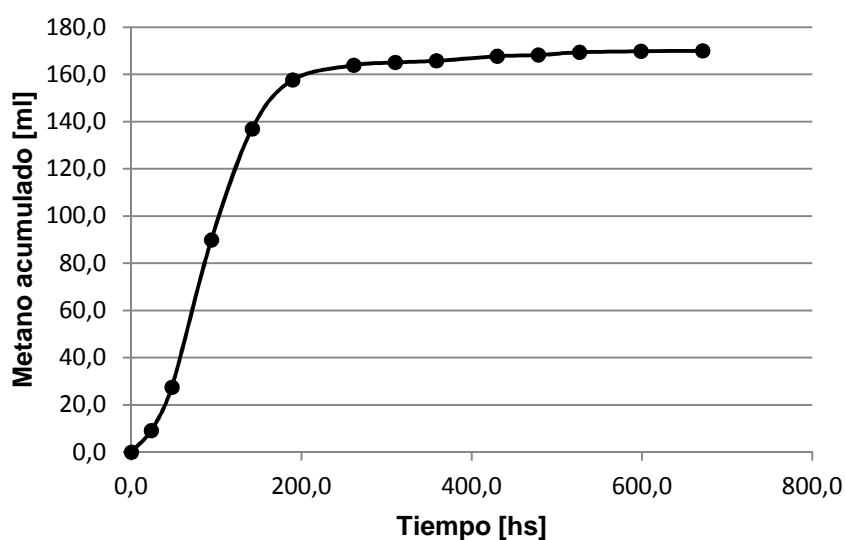


Figura 8.5. Producción de metano en viales con 1,25 ppm de amonio cuaternario.



Tabla 8.6. Registro de volumen de producción y acumulado de metano en viales dosificados con 5,2 ppm de amonio cuaternario.

		Volumen de metano registrado				Volumen de metano acumulado			Metano acum. Prom.
Tº	Tiempo (hs)	Blanco	Vial 1	Vial 2	Vial 3	Vial 1	Vial 2	Vial 3	
33,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33,4	23,6	1	15	13,8	14,5	14	12,8	13,5	13,4
32	47,0	1,8	24,7	26	23,9	36,9	37	35,6	36,5
34,2	93,6	3,3	33,6	33,9	30	67,2	67,6	62,3	65,7
34,1	141,5	2	40	41	42	105,2	106,6	102,3	104,7
33,6	189,2	1,5	31	21	23	134,7	126,1	123,8	128,2
33,4	261,1	0,4	11	12	13	145,3	137,7	136,4	139,8
34,3	309,8	1,5	3,5	3,6	8	147,3	139,8	142,9	143,3
34,1	358,1	1,5	2	1,9	0,4	147,8	140,2	142,9	143,6
34,9	429,5	0,5	2,3	2,4	2,4	149,6	142,1	144,8	145,5
34,2	477,9	1,9	2,1	0,9	2	149,8	142,1	144,9	145,6
35	526,45	0,7	1,4	3	1,6	150,5	144,4	145,8	146,9
34,2	598,35	1	1,8	1	1,4	151,3	144,4	146,2	147,3

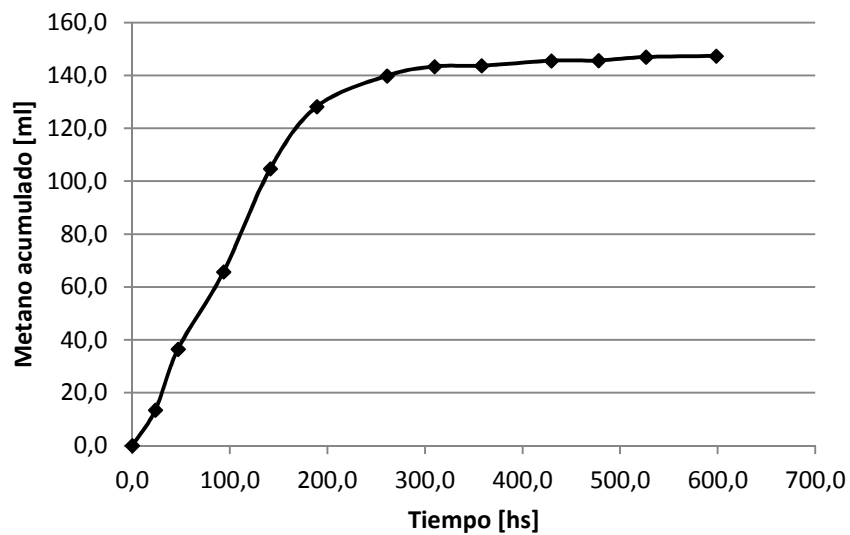


Figura 8.6. Producción de metano en viales con 5,2 ppm de amonio cuaternario.

Tabla 8.7. Registro de volumen de producción y acumulado de metano en viales dosificados con 12,5 ppm de amonio cuaternario.

Tº	Tiempo (hs)	Volumen de metano registrado				Volumen de metano acumulado			Metano acum. Prom.
		Blanco	Vial 1	Vial 2	Vial 3	Vial 1	Vial 2	Vial 3	
33,7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
33,4	24	0	0	0	0	0	0	0	0
32	47,1	0	0	0	0	0	0	0	0
34	94,05	0,4	1,3	1,7	1	0,9	1,3	0,6	0,9
34,2	141,4	0	0	0	0	0,9	1,3	0,6	0,9
33,4	189,8	0	0,6	0,3	0,7	1,5	1,6	1,3	1,5
33,2	261,4	0	0,4	0,3	0,4	1,9	1,9	1,7	1,8
34,2	310,2	0	0	0,6	0,5	1,9	2,5	2,2	2,2
33,8	358,4	0	0,5	0,4	0	2,4	2,9	2,2	2,5
34,2	429,9	0	0,3	0,3	0,4	2,7	3,2	2,6	2,8
34	477,9	0	0,9	0,7	0,4	3,6	3,9	3	3,5
35,2	526,4	0	0	0	0	3,6	3,9	3	3,5
33,9	598,6	0	0	0	0	3,6	3,9	3	3,5

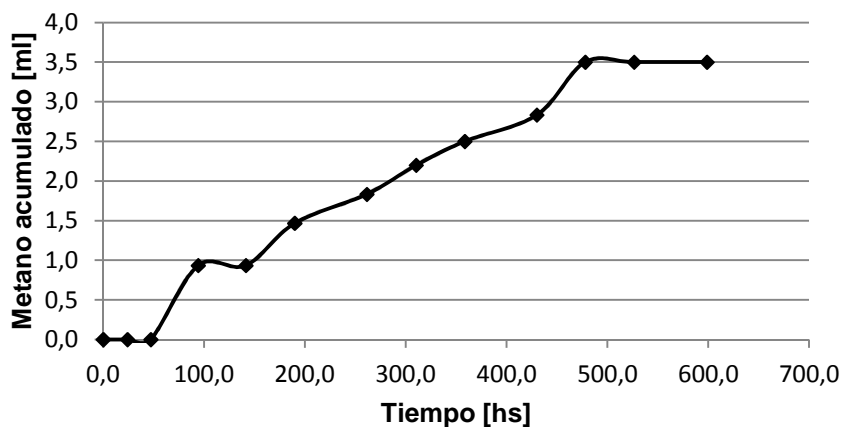


Figura 8.7. Producción de metano en viales con 12,5 ppm de amonio cuaternario.

De las gráficas se obtienen las pendientes máximas para el cálculo de la AME y el porcentaje de inhibición producido por el tóxico para cada ensayo (Figura 8.8). El valor del control es la referencia y equivale a 0% de inhibición.

El porcentaje de inhibición se calcula como:

$$\frac{\text{AME control} - \text{AME}_{xac}}{\text{AME control}} * 100$$

Donde

AME<sub>control</sub>: AME de los viales sin amonio cuaternario

AME<sub>xac</sub>: AME de viales con x concentración de amonio cuaternario.

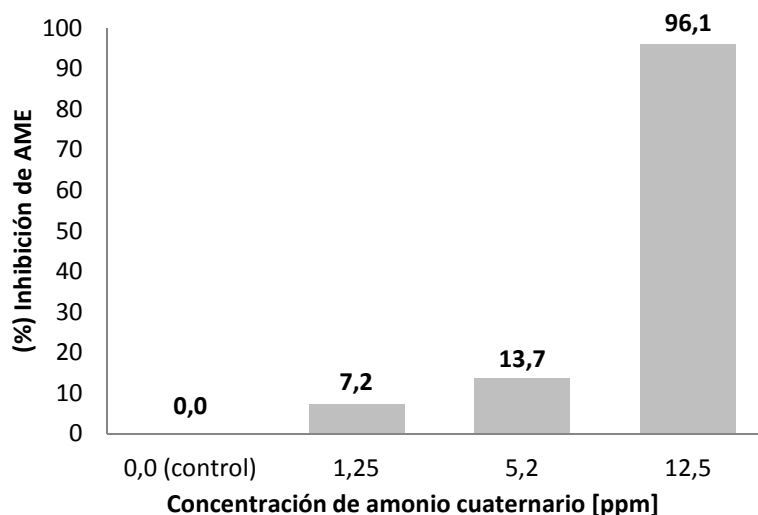


Figura 8.8. Inhibición de la AME a diferentes dosis de amonio cuaternario.

#### 8.2.2.4. Consideraciones sobre la toxicidad del amonio cuaternario

- Se midió una inhibición del 7,2% de la actividad metanogénica en presencia de 1,25 ppm de amonio cuaternario.
- Concentraciones de 12,5 ppm y hasta 60 ppm de amonio cuaternario produjeron inhibición casi total de la AME.
- Una concentración mayor a 5 ppm de amonio cuaternario en el reactor, podría afectar la actividad microbológica normal de un reactor biológico anaerobio, produciendo la inactivación parcial del consorcio microbiano.

#### 8.2.3. Toxicidad de floclulantes

##### 8.2.3.1. Introducción

Ciertos floclulantes poliméricos se emplean durante las operaciones de tratamientos primarios de aguas residuales a los efectos de mejorar la separación de sólidos suspendidos en los procesos de sedimentación.

También pueden usarse polímeros catiónicos para acelerar el arranque y favorecer la granulación de lodos anaeróbicos dispersos en reactores UASB (Show, et al., 2004).

Por lo tanto, se considera conveniente descartar la posibilidad de que estas sustancias tengan algún efecto pernicioso en la flora microbiana. Por ello, se estudió la inhibición microbiológica de un floculante habitualmente usado en la industria cítrica.

### 8.2.3.2. Materiales y métodos

La metodología empleada, idéntica a la empleada para medir AME, fue descrita en el apartado 4.5.

Se realizaron dos viales en blanco, sin floculante, y se ensayaron dosis de floculante de 50 ppm, 100 ppm, 500 ppm. Para cada dosis de floculante evaluada se realizaron cinco repeticiones.

### 8.2.3.3. Resultados

Tabla 8.8. Producción de metano de los viales con 50 ppm de floculante.

Control de Producción de Metano												
Tiempo [d]	Temp [°C]	Volumen de metano [ml]										
		Blancos		Muestras (repeticiones)					Muestras		Blancos	
		1	2	Vial 1	Vial 2	Vial 3	Vial 4	Vial 5	Prom	Desv. St.	Prom	Desv. St.
0,00		0	0	0,00	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0
0,88	22,50	0	0	0,00	0	0	0	0	0,0	0,0	0,0	0,0
1,88	23,00	1	1	13,00	15	16	17	14	15,0	1,6	1,0	0,0
2,85	24,00	1,8	1,5	24,00	26	24	24	24	24,4	0,9	1,7	0,2
3,85	25,00	3,2	3,2	35,00	33,00	33,00	31	33	33,0	1,4	3,2	0,0
5,84	26,00	2,6	2,6	37,50	36,00	29,00	37	28	33,5	4,6	2,6	0,0
7,87	26,00	0	0	35,00	37	35	37	41	37,0	2,4	0,0	0,0
10,85	24,00	1,2	1,2	37,50	21,5	25	15	30	25,8	8,5	1,2	0,0
12,89	21,00	0	0	10,00	10,5	9	9	14	10,5	2,1	0,0	0,0
14,85	21,00	1,3	1,3	11,50	14	14,5	12,5	14,5	13,4	1,3	1,3	0,0
18,83	24,00	2	2	6	6	8	7	11	7,6	2,1	2,0	0,0
21,95	20,00	1,6	1,6	2,5	2	2	2	3,5	2,4	0,7	1,6	0,0
24,87	17,00	0,7	0,7	1	1	0	1	1	0,8	0,4	0,7	0,0
<b>Temp. media</b>	22,79											

En la tabla 8.8 se muestra los valores de producción periódica de metano, tanto de los blancos de floculante como de los viales ensayados con 50 ppm de floculante.

También se registra la temperatura de medición de metano.

En la tabla 8.9 se registran los cálculos del metano promedio acumulado en cada repetición, según el tiempo de lectura, para el ensayo con 50 ppm de floculante.

Tabla 8.9. Metano acumulado en viales con 50 ppm de floculante.

<b>Tabla de metano acumulado</b>											
<b>Tiempo [d]</b>	<b>Blanco prom.</b>	<b>Vial 1 (Leído - blanco)</b>	<b>Vial 2 (Leído - blanco)</b>	<b>Vial 3 (Leído - blanco)</b>	<b>Vial 4 (Leído - blanco)</b>	<b>Vial 5 (Leído - blanco)</b>	<b>Vial 1 acum.</b>	<b>Vial 2 acum.</b>	<b>Vial 3 acum.</b>	<b>Vial 4 acum.</b>	<b>Vial 5 acum.</b>
0,00	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,88	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,88	1,0	12,00	14,00	15,00	16,00	13,00	12,00	14,00	15,00	16,00	13,00
2,85	1,65	22,35	24,35	22,35	22,35	22,35	34,35	38,35	37,35	38,35	35,35
3,85	3,2	31,80	29,80	29,80	27,80	29,80	66,15	68,15	67,15	66,15	65,15
5,84	2,6	34,90	33,40	26,40	34,40	25,40	101,05	101,55	93,55	100,55	90,55
7,87	0,0	35,00	37,00	35,00	37,00	41,00	136,05	138,55	128,55	137,55	131,55
10,85	1,2	36,30	20,30	23,80	13,80	28,80	172,35	158,85	152,35	151,35	160,35
12,89	0,0	10,00	10,50	9,00	9,00	14,00	182,35	169,35	161,35	160,35	174,35
14,85	1,3	10,20	12,70	13,20	11,20	13,20	192,55	182,05	174,55	171,55	187,55
18,83	2,0	4,00	4,00	6,00	5,00	9,00	196,55	186,05	180,55	176,55	196,55
21,95	1,6	0,90	0,40	0,40	0,40	1,90	197,45	186,45	180,95	176,95	198,45
24,87	0,7	0,30	0,30	0,70	0,30	0,30	197,75	186,75	180,25	177,25	198,75
28,88	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	197,75	186,75	180,25	177,25	198,75

A modo de ejemplo, en la Figura 8.9 se observa el perfil de producción de metano del vial 1. Las demás repeticiones exhiben un comportamiento similar.

Las pendientes máximas de cada vial y los resultados de los cálculos de las actividades metanogénicas se muestran en la tabla 8.10.

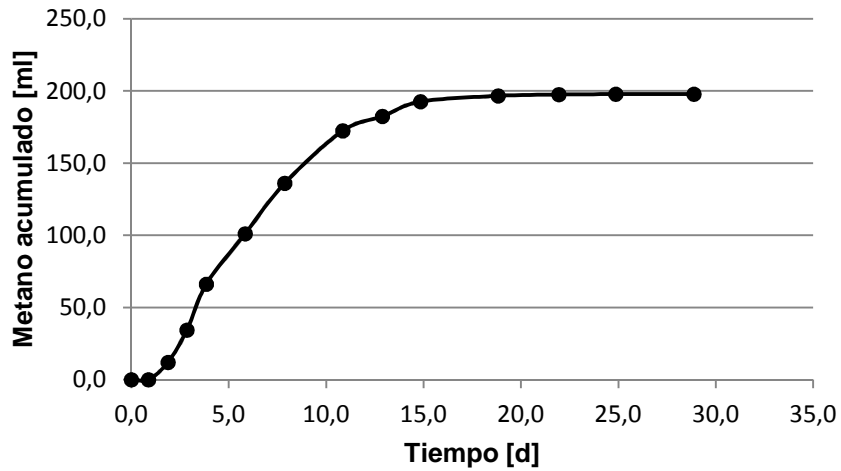


Figura 8.9. Metano acumulado en el vial N° 1.

Tabla 8.10. Pendientes máximas y AMEs de cada vial con 50 ppm de floculante

	Vial 1	Vial 2	Vial 3	Vial 4	Vial 5
<b>Pend. Max</b>	17,37	17,49	15,26	17,74	16,51
<b>AME [g DQO/gSSV. d]</b>	0,30	0,30	0,26	0,30	0,28

El valor promedio y su desviación standard se observa en la siguiente tabla:

Tabla 8.11. Promedio y desviación standard de la AME.

AME Medio	Desv. standard	P (N° de muestras)	Coef. de variación
0,29	0,02	5	6,89

El resultado obtenido se presenta en la tabla 8.12.

Tabla 8.12. Resultados obtenidos en ensayos de toxicidad

	Concentración de floculante [ppm]			
	0 (Control)	50	100	500
<b>AME [gDQO/gSSV. d]</b>	0,28	0,29	0,29	0,33
<b>Desviación standard</b>	0,02	0,02	0,02	0,04
<b>Repeticiones</b>	5	5	5	5
<b>Coeficiente de variación</b>	7,14	6,89	6,89	12,12
<b>Inhibición [%]</b>		0	0	0

#### **8.2.3.4. Consideraciones sobre la toxicidad del floculante.**

En las condiciones del ensayo, el floculante testeado no solo no presenta indicios de inhibición sobre la actividad metanogénica de los inóculos ensayados, sino que incluso se observa una leve mejora en la AME, aunque este valor posee una desviación standard mayor que las otras mediciones.

### **8.3. Evaluación de la biodigestión anaeróbica del efluente líquido citrícola a 32°C usando reactores tipo UASB a escala piloto**

#### **8.3.1. Introducción**

Las industrias que procesan el limón generan importantes volúmenes de efluentes, algunas de las cuales llegan a 250 m<sup>3</sup>/h, con valores de demanda química de oxígeno que puede oscilar entre 8 kg/m<sup>3</sup> y 16 kg/m<sup>3</sup>.

Al efluente crudo se le realiza un desbaste empleando diferentes tipos de mallas y tamices. Este tratamiento logra reducir el tenor de sólidos suspendidos hasta valores cercanos a 2300 ppm, o menos, y se generan condiciones para abordar el tratamiento biológico del efluente líquido empleando reactores de tipo UASB, aspectos que serán estudiados en este capítulo para dar respuesta al tercer objetivo de esta tesis.

#### **8.3.2. Materiales y métodos**

La planta piloto usada para realizar los trabajos de biodigestión anaeróbica del efluente líquido fue facilitada por una firma privada. Consiste en un módulo integrado por un conjunto de dispositivos diseñados para funcionar en diferentes condiciones de operación (Figura 8.10).

El reactor tiene un volumen de 30 litros, una sección cuadrada de 225 cm<sup>2</sup> y 1,5 metros de alto.

Posee seis separadores gas-líquido, diseñados para la recolección del biogás generado. Los colectores de biogás consisten en dos cilindros de acero inoxidable, dispuestos en forma vertical, que miden el biogás por desplazamiento de líquido.

Cuenta con dos bombas de diafragma para regular los caudales de alimentación al reactor y de un dispositivo de control on/off de temperatura.

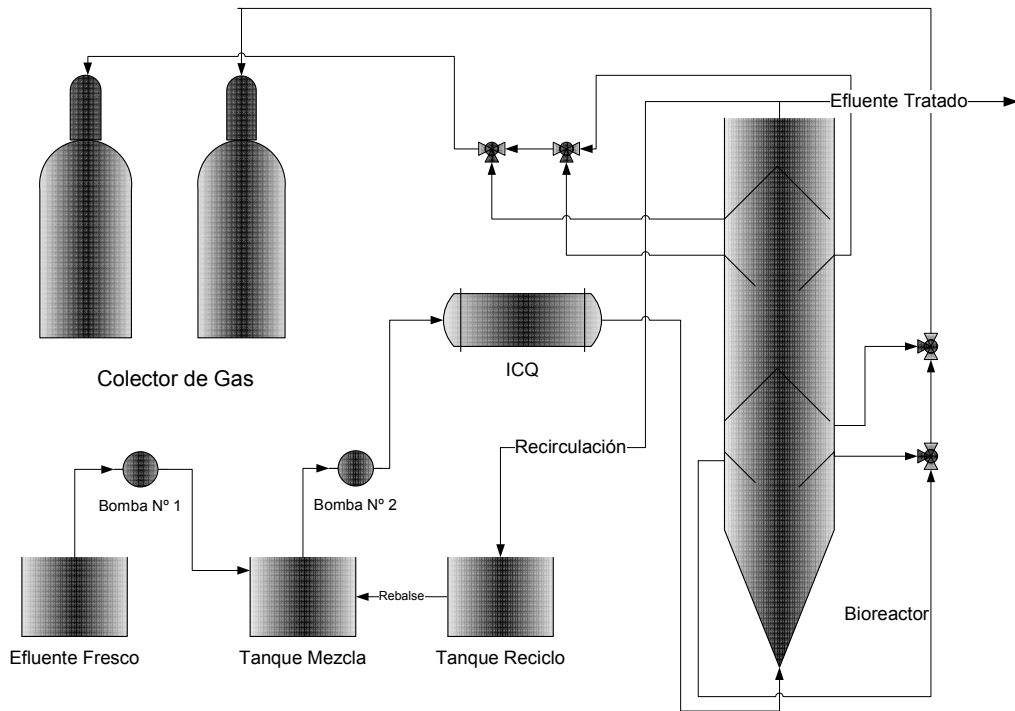


Figura 8.10. Esquema de la planta piloto para tratar efluente cítrico.

El sistema de alimentación y recirculación está formado por tres depósitos o tanques de acero inoxidable:

- a) Tanque efluente fresco: recibe el efluente industrial crudo, solo afectado de un tratamiento primario para reducir los sólidos en suspensión.
- b) Tanque reciclo: recibe una fracción del efluente tratado que sale del reactor (la otra fracción de efluente tratado se elimina).
- c) Tanque mezcla: recibe la corriente de los dos tanques anteriores. El efluente tratado diluye, en términos de contenido de materia orgánica, al influente crudo. De este tanque surge el flujo de alimentación al reactor, previa calefacción.

El efluente fresco o crudo llega al tanque correspondiente e inmediatamente es tomado por una de las bombas que alimentan el tanque mezcla.

Las bombas funcionan con aire comprimido y cada una de ellas tiene dos válvulas de ajuste (ajuste fino y ajuste grueso), regulando así la presión interior de la bomba para obtener el caudal deseado.

Por otro lado, una fracción del efluente tratado que sale del reactor se recircula, ingresando al tanque reciclo y por rebalse, desciende hasta el tanque mezcla, obteniéndose así una dilución constante y regulada.





Figura 8.11. Foto de la planta piloto para tratar efluente industrial citrícola.

Desde el tanque mezcla, la segunda bomba de diafragma impulsa el flujo de alimentación hacia la etapa de calentamiento.

El flujo de alimentación pasa a través de un serpentín sumergido en un baño de agua termostatazada, con el fin de mantener una temperatura apropiada para el metabolismo biológico. Una vez calentado, ingresa al reactor por la parte inferior del mismo.

Los efluentes líquidos de la citrícola Acherel S.A., que se usaron en la experiencia que se describe a continuación, poseen un tratamiento preliminar para remoción de sólidos por filtrado, ajuste de pH mediante la adición de cal, posteriormente una sedimentación primaria y, por último, un tratamiento biológico que ocurre en un humedal de flujo superficial usando aguapé (Becette *et al.*, 2011).

La planta piloto UASB fue alimentada con el efluente proveniente de un tanque sedimentador primario, caracterizado por una DQO variable entre 8.000-15.000 mg/l y un pH entre 4,4-5,8.

Para el arranque del reactor se colocaron 12 litros de lodos granulados, de los cuales 9 litros provienen de una anterior experiencia en una citrícola y los tres litros restantes proceden del reactor de una destilería de alcohol.

El arranque fue a baja carga (VCO:  $2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ), aumentando la alimentación de acuerdo a la respuesta del reactor.

La estabilidad del proceso se monitoreó mediante el cálculo de la relación alfa.

La DQO del efluente a tratar es poco variable en el tiempo, por lo que el caudal es la variable a manejar para ajustar el valor de VCO deseada.

### 8.3.3. Resultados y discusión

La velocidad ascensional del reactor fue de 1,33 m/h y el tiempo de residencia hidráulico entre 3,5 y 1,5 días. Estos valores se ajustan a los recomendados por Chamy (2003).

En la figura 8.12 se comparan la DQO del efluente crudo y la DQO del efluente tratado por el reactor UASB en promedios semanales, como así también la evolución de la VCO semanal que alcanzó los 8 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>, al finalizar la experiencia.

Se considera que el rápido acondicionamiento del reactor al efluente a tratar se debe, en gran medida, a que el 80% del inóculo utilizado se encontraba ya adaptado al funcionamiento con efluente cítrico.

Se observó un aumento de la razón alfa por arriba de 0,3 al aumentar el contenido de sólidos sedimentables en el influente por encima de 2,5 ml/l. Los sólidos son una variable que afecta al proceso de digestión anaeróbica del efluente cítrico en el reactor piloto UASB (Russo, *et al.*, 2010).

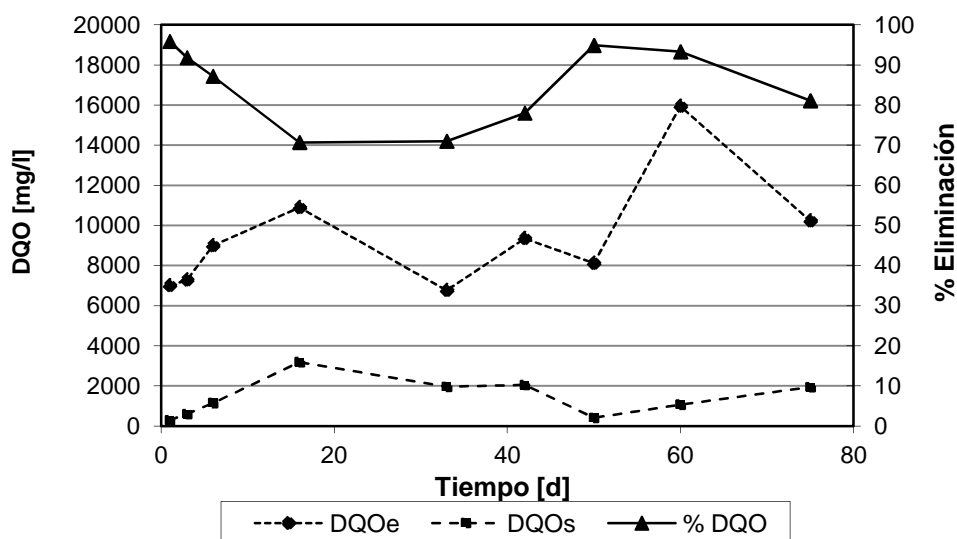


Figura 8.12. Comparación de la DQO del efluente crudo y tratado y evolución de la VCO semanal

En la sexta semana de funcionamiento del reactor se observó un incremento de la razón alfa hasta un valor de 0,42, coincidente con una reducción de la eficiencia del 83,7% al 78,7%, con respecto a la semana anterior.

Un aumento de los sólidos sedimentables en el influente durante la quinta y sexta semana, produjo el ingreso de sólidos al reactor, razón por la cual se apeló a coagulantes y floculantes para reducirlos.

En la séptima semana, el rendimiento aumentó nuevamente, disminuyendo la razón alfa.

La eficiencia en la remoción de la materia orgánica alcanzó valores del 90% en términos de DQO en la octava semana con una VCO de  $7 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ ; y del 94% en la novena semana para un valor promedio de  $6 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ .

En la figura 8.13 se representa la estrategia de arranque del reactor. Se inició con una VCO de  $2 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  y se la incrementó hasta un valor de  $8 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , disminuyendo el THR desde 3,5 días hasta 1,3 días.

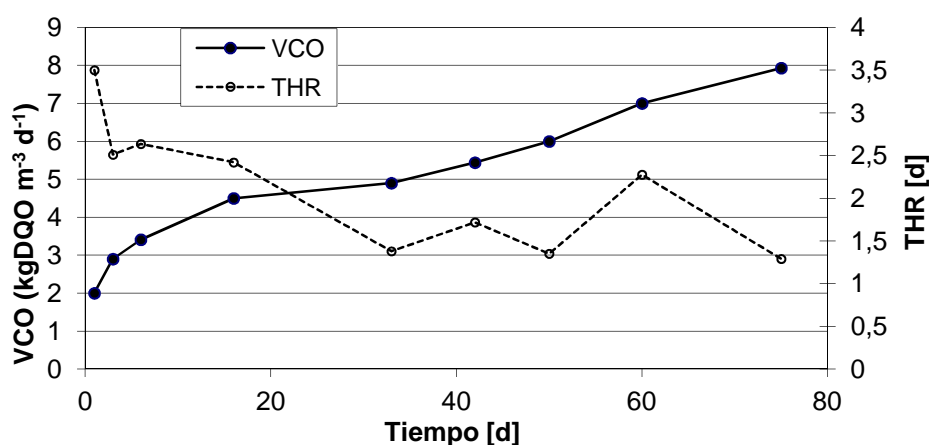


Figura 8.13. Estrategia de arranque: evolución VCO y THR.

En cuanto a la estabilidad del proceso en términos de pH, el efluente del sistema mantuvo valores en torno a 7,5 para valores en la alimentación de 5,5, observándose un claro descenso en el efluente a valores de 7 al disminuir el pH de la alimentación hasta valores de 4,3 (Figura 8.14).

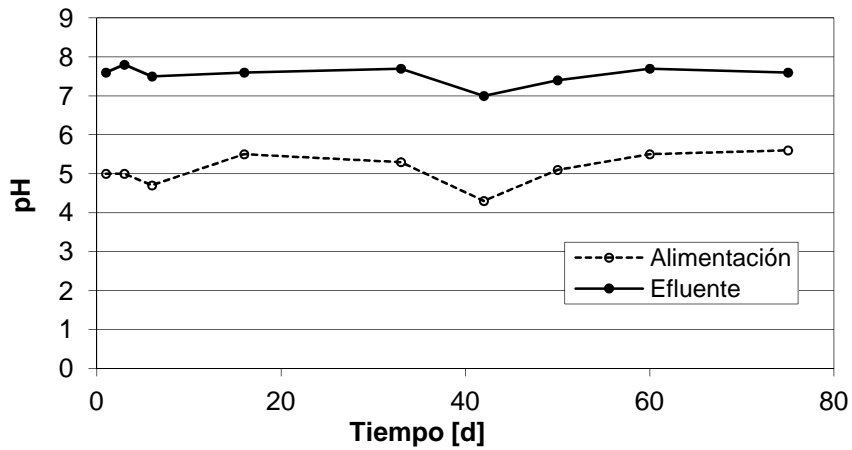


Figura 8.14. Evolución del pH de entrada y salida.

La Figura 8.15 exhibe la DQO de entrada y salida al reactor y la eliminación porcentual.

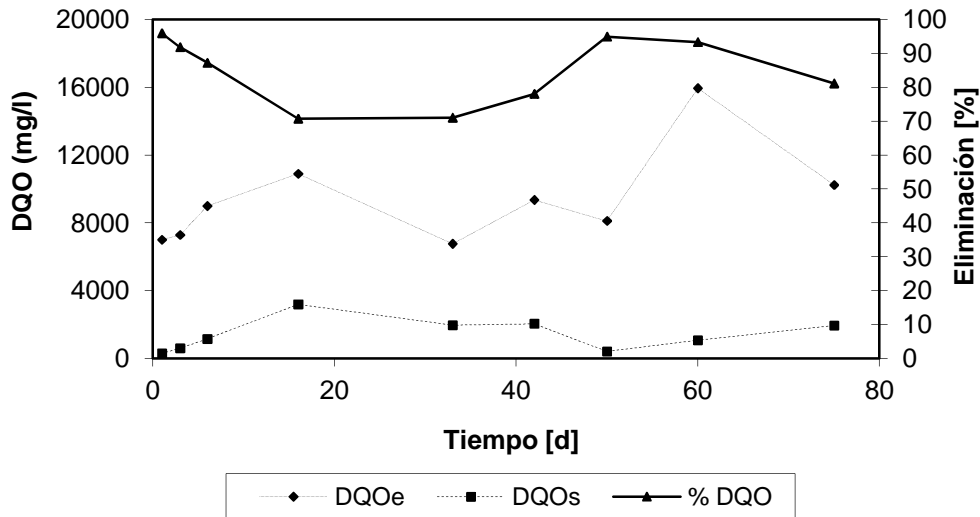


Figura 8.15. Abatimiento de DQO

La relación entre la velocidad de carga eliminada y la velocidad de carga de alimentación se presenta a continuación (Figura 8.16). Se obtiene un promedio de eliminación en torno al 84 %.

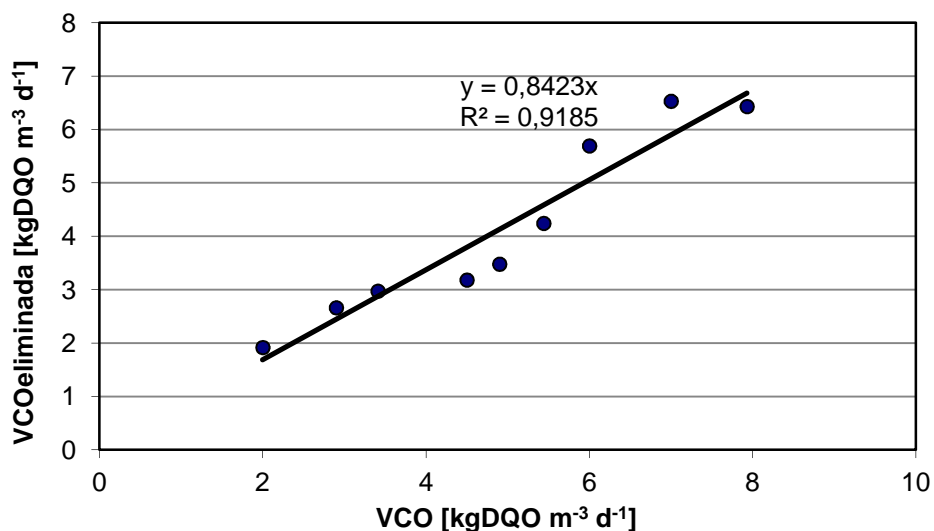


Figura 8.16. Relación entre VCO eliminada y VCO de alimentación.

### 8.3.4. Conclusiones

La tecnología UASB ensayada resultó eficiente en la reducción de la materia orgánica soluble contenida en el efluente proveniente de la industrialización del limón, alcanzando valores de eficiencia promedio comprendidos entre el 90% y 94% en términos de DQO, trabajando con VCO de hasta 7 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup>.

La presencia de sólidos sedimentables en el efluente crudo resultó una variable crítica para la estabilidad del reactor piloto UASB, siendo necesaria una remoción de sólidos sedimentables eficiente previa al tratamiento biológico en el UASB.

No hubo coincidencias entre los volúmenes de biogás colectados diariamente y el volumen teórico estimado en base a la DQO abatida, siendo los volúmenes recolectados mucho menores que los estimados.

Estas diferencias podrían deberse tanto a las pérdidas de biogás ocluido en el efluente de salida del reactor UASB, como a otras pérdidas en la estructura del reactor (Souza, Chernicharo, 2011).

Con las conclusiones expresadas se da respuesta al tercer objetivo de esta tesis.

## 8.4. Estudio de la granulación de lodos anaeróbicos dispersos en reactores de tipo UASB alimentados con efluente citrícola.

### 8.4.1. Introducción

La región del norte argentino carece de reactores industriales tipo UASB con la capacidad adecuada para proveer de lodo granular a nuevos digestores que se instalen en la zona.

Además, el traslado de lodo granular desde puntos alejados implica un considerable costo, el cual, a veces, se ve dificultado por las reglamentaciones locales.

A partir de esta circunstancia surge, como alternativa a la adquisición y traslado de lodos granulares, la posibilidad de generarlos a partir de lodos anaerobios dispersos, empleando un efluente industrial como sustrato.

Con este fin, se planteó el abordaje del proceso de granulación a escala piloto usando efluente citrícola, con lo cual también se cumple el estudio del cuarto objetivo de la presente tesis.

### 8.4.2. Materiales y métodos

Se ensayó el proceso de granulación a escala piloto, empleando el mismo reactor descrito en el capítulo anterior, cargado con un lodo disperso obtenido de las lagunas anaeróbicas de una industria textil.

Los datos del lodo usado se exhiben en la tabla 8.13.

Tabla 8.13. Caracterización del lodo disperso para ensayo piloto de granulación

AME y concentración media de sólidos en lodos dispersos	
ST [g/l]	16,18
SF [g/l]	4,79
SV [g/l]	11,39
SST [g/l]	12,95
SSF [g/l]	2,92
SSV [g/l]	10,03
AME [gDQO/gSSV. d]	0,462

Se arrancó con efluente cítrico sedimentado, almacenado en cámara frigorífica desde la temporada anterior, con una concentración de materia orgánica de 9 g/l de DQO.

A partir del tercer mes, momento en que se inició la temporada fabril, se incorporó efluente fresco con valores de hasta 15 g/l de DQO y un pH de 4,2.

Se cargaron 10 litros del lodo, con lo que la concentración de SSV dentro del reactor quedó en 3,34 gSSV/l, como se muestra en la siguiente secuencia de cálculos:

$$X_f = \frac{X_i \times V_i}{V_f}$$

$X_i$  = concentración inicial de lodos [g SSV/l].

$X_f$  = concentración final de lodos diluidos en el reactor [g SSV/l].

$V_i$  = volumen inicial de lodos concentrados cargados en el reactor [l].

$V_f$  = volumen de trabajo del reactor [l].

Entonces:

$$X_f = \frac{10,03 \frac{g}{l} \times 10 l}{30 l} = 3,34 \frac{gSSV}{l}$$

Se puede calcular la VCO máxima teórica que podría soportar el reactor considerando esta concentración de microorganismos y su actividad biológica:

$$VCO = X_f \times AME$$

Donde:

VCO: velocidad de carga orgánica [gDQO/l.d]

$X_f$ : concentración de lodos en el reactor [gSSV/l]

AME: actividad metanogénica específica [gDQO/gSSV.d]

Entonces:

$$VCO = 3,34 \frac{gSSV}{l} \times 0,462 \frac{gDQO}{gSSV.d} = 1,54 \frac{gDQO}{l}.d$$

Para el cálculo del caudal de alimentación de influente podemos usar la siguiente expresión:

$$Q_a = \frac{VCO \times V}{DQO}$$

Donde:

$Q_a$  = caudal de alimentación de influente (l/d)

VCO = velocidad de carga orgánica (gDQO/l.d)

DQO = concentración de materia orgánica en el influente a tratar (gDQO/l)

V = volumen de trabajo del reactor (l)

Teniendo en cuenta la VCO teórica máxima de 1,54 gDQO/l.d y una concentración de materia orgánica en el efluente a tratar, equivalente a 10 gDQO/l, la ecuación quedaría:

$$Q_a = 1,54 \frac{\text{gDQO}}{\text{l}} \cdot \text{d} \times \frac{30 \text{ l}}{10 \frac{\text{gDQO}}{\text{l}}} = 4,62 \frac{\text{l}}{\text{d}}$$

$$Q_a = 4,62 \text{ l/d} \times 1/24 \text{ d/h} = 0,19 \text{ l/h}$$

El caudal de alimentación de influente ( $Q_a$ ) representa el límite máximo de caudal de ingreso de influente a tratar. Si las circunstancias de operación lo demandan, puede elegirse un valor inferior.

Para calcular el caudal de entrada al reactor ( $Q_e$ ), se fija una velocidad ascensional ( $V_a$ ) atendiendo sugerencias bibliográficas (Chernicharo, 2007; Hulshoff Pol, 1987).

En este punto debe tenerse presente que, si bien una determinada velocidad ascensional es necesaria como presión de selección para la granulación, un valor muy elevado produciría la evacuación de los microorganismos con el consiguiente lavado del reactor.

Debido a que se arrancó con lodos dispersos, con una capacidad de sedimentación desconocida y probablemente baja, se inició el proceso con una  $V_a$  conservadoramente baja, del orden de 0,2 m/h.

El caudal de entrada al reactor se calcula así:

$$Q_e = V_a \times A$$

Donde:

$Q_e$ = Caudal de entrada al reactor ( $\text{m}^3/\text{d}$ )

$V_a$ = Velocidad ascensional (m/h)

$A$ = área del reactor ( $\text{m}^2$ )

Entonces:

$$Q_e = 0,2 \frac{\text{m}}{\text{h}} \times 0,0225 \text{ m}^2$$

$$Q_e = 0,0045 \text{ m}^3/\text{h} \longrightarrow Q_e = 0,0045 \text{ m}^3/\text{h} \times 1000 \text{ l/m}^3 = 4,5 \text{ l/h}$$



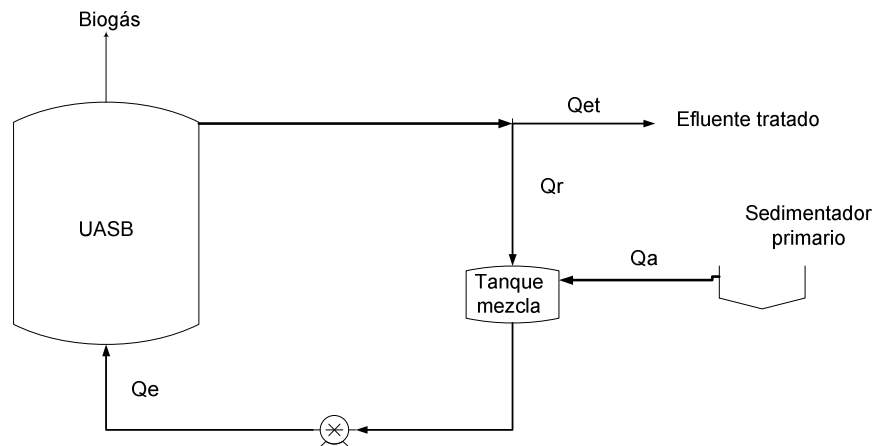


Figura 8.17. Esquema de caudales del reactor

En la figura 8.17 se esquematiza el sentido de flujo de los caudales calculados:

Qa: caudal de alimentación de influente.

Qe: caudal de entrada al reactor UASB.

Qet: caudal de efluente tratado o caudal de salida = Qa.

### 8.4.3. Resultados y discusiones

En la tabla 8.14 se muestran los promedios mensuales de las variables operativas registradas durante el proceso de granulación en el reactor piloto.

Tabla 8.14. Variables operativas del reactor piloto durante la granulación.

	DQO Influyente Prom. [mg/l]	VCO Prom. [gDQO/l.d]	T [°C] reciclo	pH reciclo	Qa Prom. [ml/h]	Va. Prom. [m/h]
<b>Arranque</b>	9040	0,56	27,6	7,6	78,00	0,69
<b>Mes 1</b>	9640	1,85	26,4	7,6	240,00	0,67
<b>Mes 2</b>	9420	3,15	25,9	7,4	417,60	0,77
<b>Mes 3</b>	14470	4,20	24,6	7,24	362,40	0,79
<b>Mes 4</b>	13535	4,85	24,1	7,11	447,60	0,79
<b>Mes 5</b>	11928	2,83	24,29	7,56	296,40	0,84
<b>Mes 6</b>	12986	7,47	24,69	7,42	718,80	0,86
<b>Mes 7</b>	13188	7,45	24,7	7,42	720,1	0,92
<b>Mes 8</b>	14754	1,97	25,4	7,95	380,0	0,88

Las modificaciones de las cargas orgánicas aplicadas se realizaron según criterios de estabilidad del proceso, tomando la relación alfa como parámetro indicador. Cuando los valores de relación  $\alpha$  fueron  $\geq 0,5$ , se cortó la alimentación y se recirculó el contenido del reactor hasta que el parámetro vuelva al valor óptimo de 0,3.

Se puede tener una idea de la estabilidad del proceso observando la figura 8.18, donde se visualiza la evolución del pH del influente y el pH del efluente del reactor.

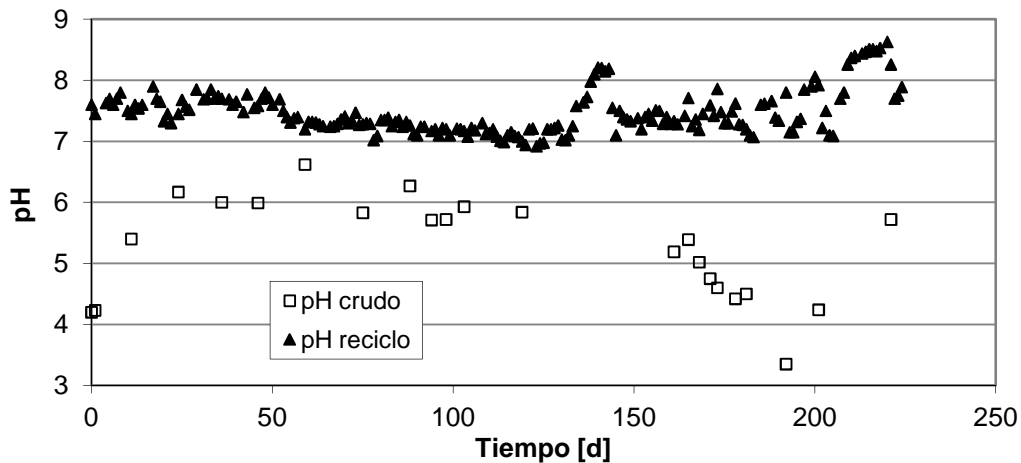


Figura 8.18. Evolución del pH de entrada (crudo) y de salida (reciclo).

Los caudales de alimentación calculados pueden variar según varía la DQO del influente a tratar o según se modifiquen las otras variables, como ser la temperatura del reactor.

La variación de caudales trae aparejada la variación del TRH.

En la figura 8.19 se observa que el TRH disminuye en los primeros 50 días, desde un valor de 35 días hasta valores en torno a 2 días, aunque hay variaciones del TRH por fluctuaciones del caudal de la bomba.

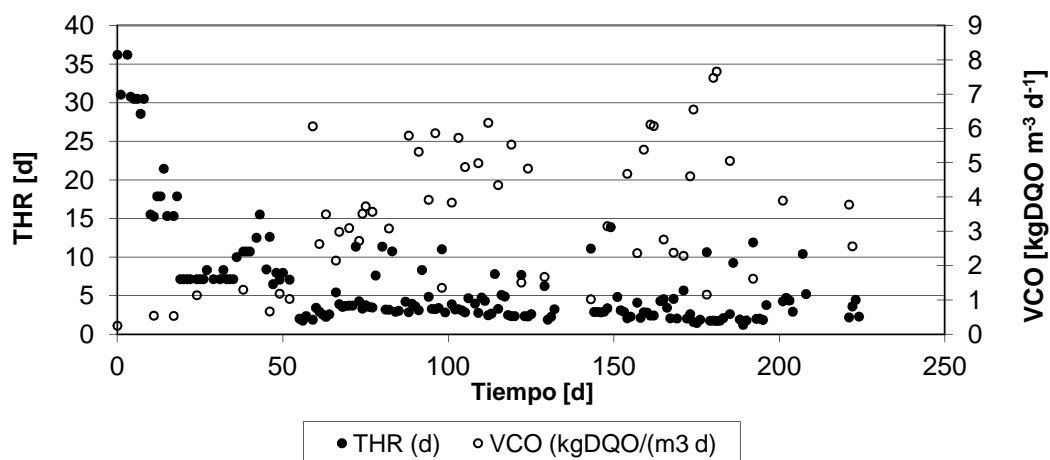


Figura 8.19. Evolución del TRH y de la VCO.

En la figura 8.20 se observa la evolución de las DQO de entrada y de salida del reactor, asociadas al porcentaje de eliminación. Esta última está en torno al 75%, inferior al obtenido en la experiencia anterior, lo que se atribuye al tipo de lodo empleado. Sin embargo, se logró trabajar a cargas similares sin problemas críticos. Esta situación también se refleja en la gráfica de la figura 8.21.

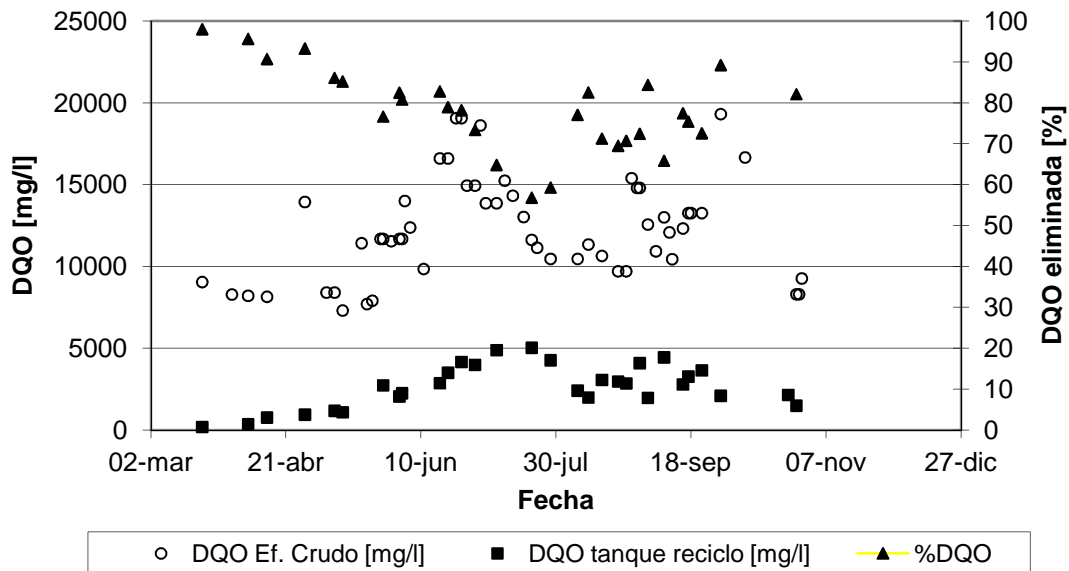


Figura 8.20. Evolución de DQO, entrada y salida, y eliminación.

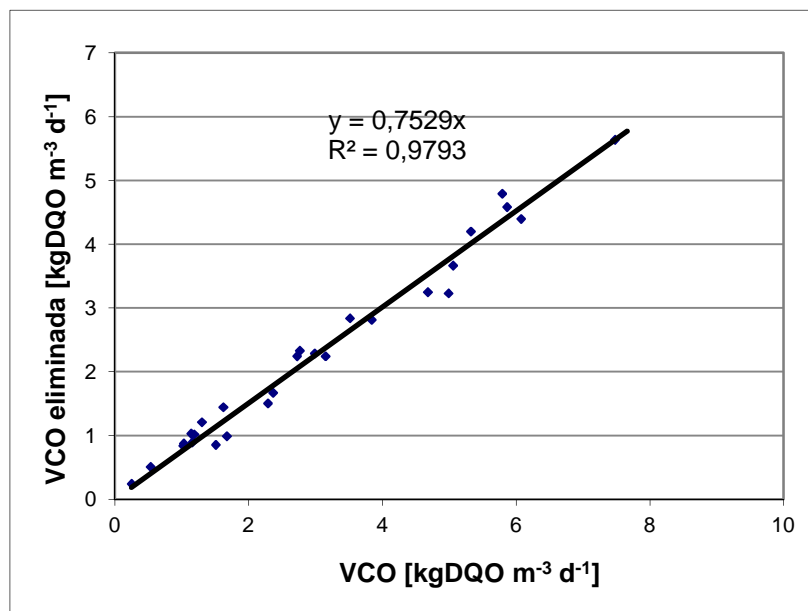


Figura 8.21. Relación entre la VCO y la velocidad de carga eliminada.

En cuanto al proceso de granulación, en las figuras 8.22 y 8.23 se muestra una secuencia fotográfica del lodo del reactor y el tiempo transcurrido al que corresponde.

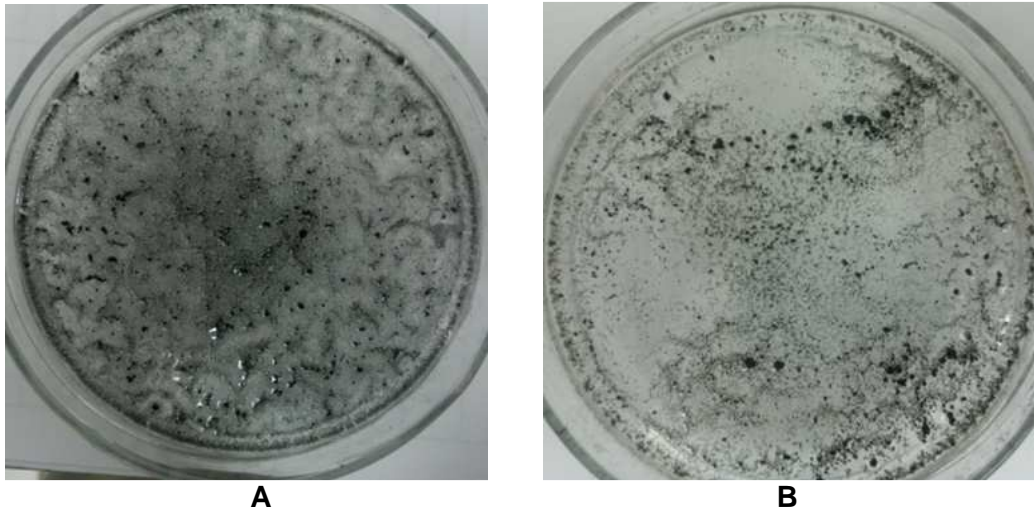


Figura 8.22. Fotografías de los lodos del reactor correspondientes al primer mes (A) y segundo mes (B).

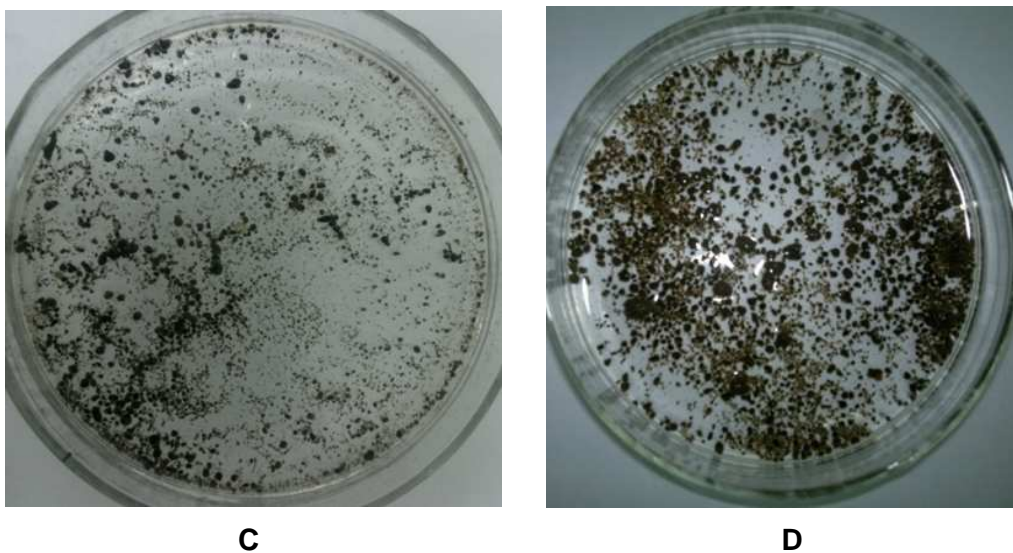


Figura 8.23. Fotografía de los lodos del reactor correspondientes al tercer mes (C) y al sexto mes (D).

Para la determinación de la distribución de tamaños de las partículas, se realizaron placas de agar de 20 cm x 20 cm, donde se suspendió 1 ml de muestra de lodo tomadas del tomamuestra inferior. Se digitalizaron las imágenes de las placas y luego se las procesó a través del programa Image tool. Con el programa se identifican, cuentan y agrupan las partículas por rangos de tamaños de un área seleccionada a partir de la imagen digital. En las figuras 8.24 a la 8.27 se muestran las placas de agar de los ensayos granulométricos respectivos.



Figura 8.24. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 1.

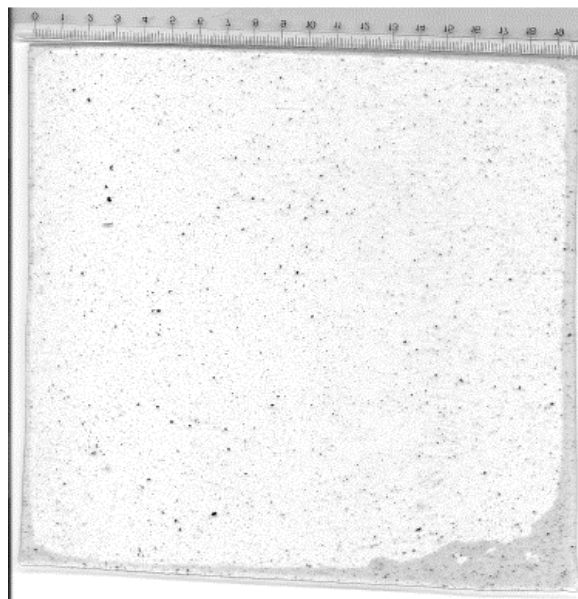


Figura 8.25. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 2.

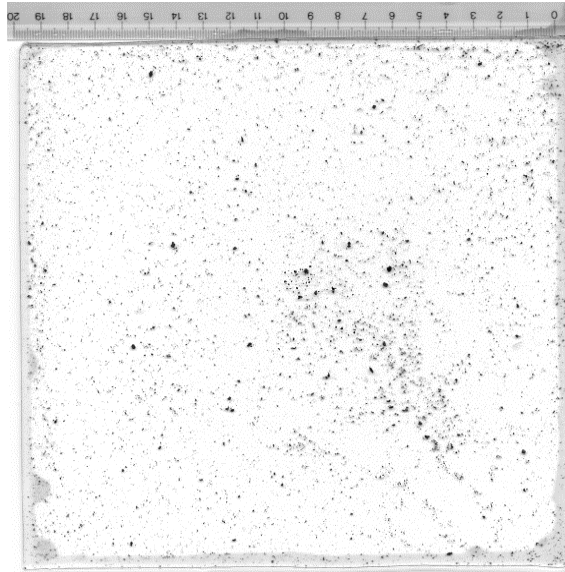


Figura 8.26. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 3.

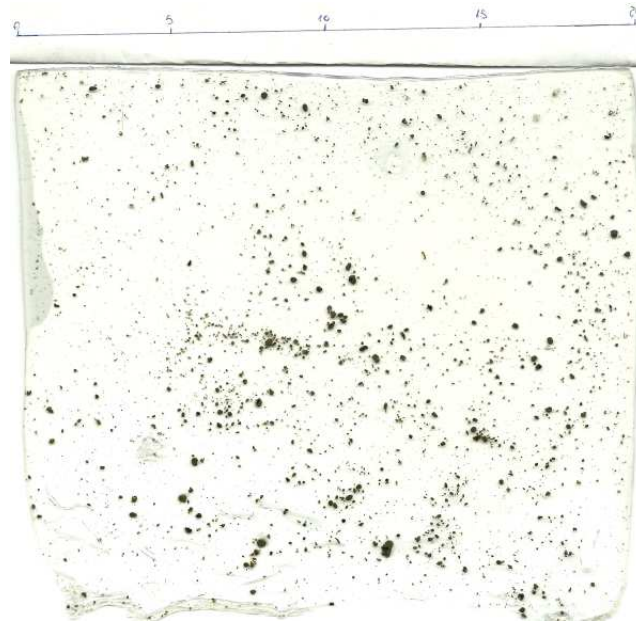


Figura 8.27. Placa de agar del ensayo granulométrico correspondiente al mes 6.

En la tabla 8.15 se exhiben los valores de distribución de tamaños de las partículas para cada mes ensayado.

Tabla 8.15. Distribución de tamaños de partículas durante el proceso de granulación.

Rangos de tamaños [mm]	Mes 1 [%]	Mes 2 [%]	Mes 3 [%]	Mes 4 [%]	Mes 5 [%]	Mes 6 [%]	Mes 7 [%]	Mes 8 [%]
0,20 - 0,50	95,7	96,9	84,5	80,1	75,8	75,2	67,8	34,4
0,50 - 0,70	3,3	2,2	9,7	9,9	10,6	9,9	11,4	34,3
0,70 - 1,00	0,8	0,7	4,3	6,0	7,0	7,5	10,8	19,4
1,00 - 1,50	0,2	0,2	1,0	2,2	4,2	4,8	6,1	3,8
1,50 - 1,70			0,3	0,6	0,8	0,9	1,0	3,9
1,70 - 2,00			0,1	0,7	0,8	0,8	1,3	2,6
2,00 - 2,50				0,4	0,5	0,6	1,0	0,4
2,50 - 2,70				0,1	0,2	0,2	0,2	0,6
2,70 - 3,00					0,1	0,1	0,2	0,2
3,00 - 3,50						0,1	0,1	0,0
3,50 - 3,70							0,1	0,1
3,70 - 4,00								0,2

En la Figura 8.28 se observa la evolución del tamaño promedio de las partículas.

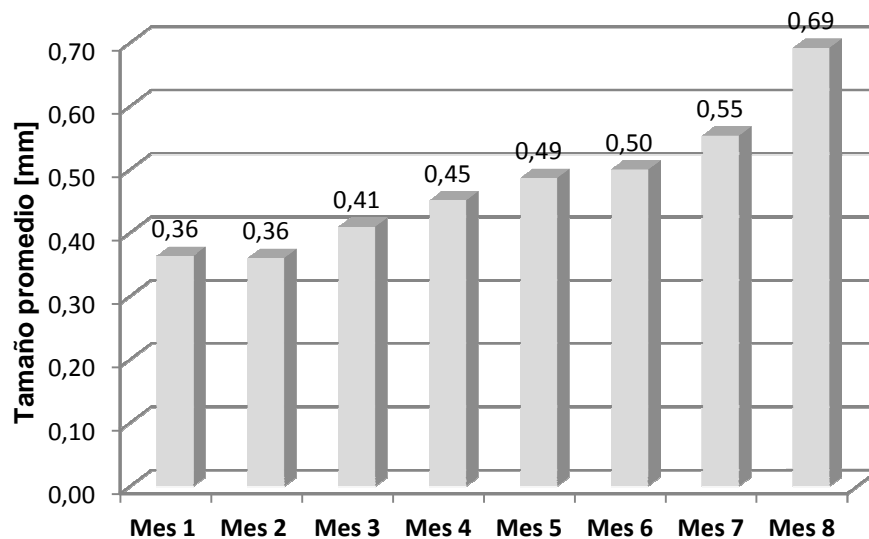


Figura 8.28. Tamaño promedio de las partículas durante el proceso de granulación.

Se conocen trabajos de granulación empleando lodos floculentos y sustratos sintéticos elaborados a base de glucosa y adición de nutrientes, a temperaturas próximas a 30°C, VCO entre 2 y 8 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> y velocidades ascensionales superiores a 0,2 m/h

(Francese, 1993). En estos, se reporta presencia de gránulos a los dos meses de iniciado el ensayo.

También Ghangrekar y colaboradores (2005), empleando glucosa y nutrientes como sustrato, reportaron granulación efectiva a los 80-90 días, aunque trabajando a velocidades ascensionales bajas, entre 0,05 a 0,125 m/h, cargas orgánicas variables entre 1,43 y 9,50 kgDQO m<sup>-3</sup> d<sup>-1</sup> y temperaturas entre 24 y 32°C.

Son escasos los trabajos de granulación anaeróbica empleando efluentes industriales o, particularmente, empleando efluentes del procesamiento industrial del limón. Esto dificulta la posibilidad de comparar la metodología utilizada en la presente tesis con otras modalidades.

#### **8.4.4. Conclusiones**

La eliminación de materia orgánica se situó en torno al 75%, inferior a la obtenida en la experiencia anterior, efectuada con lodo granular. Sin embargo, se logró trabajar a cargas similares sin problemas críticos.

El arranque y operación propuestos son viables a partir de un lodo floculento, aunque evidentemente se precisan tiempos más largos para alcanzar altas velocidades de carga.

El protocolo practicado fue, al menos, suficiente para arribar a la formación de gránulos anaerobios definidos. Estas conclusiones dan respuesta al cuarto objetivo de esta tesis.

### **8.5. Arranque del proceso de granulación en un reactor industrial**

#### **8.5.1. Introducción**

Considerando los resultados obtenidos en el apartado anterior, se recomendó un protocolo de arranque a una industria citrícola local para poner en marcha su reactor UASB.

El objetivo fue implementar el arranque a temperatura ambiente de un reactor industrial tipo UASB partiendo de lodo disperso y alimentado con efluente citrícola, con vistas a reproducir la biomasa activa, generar la granulación anaeróbica y alcanzar condiciones de operación de diseño.



### 8.5.2. Materiales y métodos

El reactor UASB industrial tiene una capacidad de 7170 m<sup>3</sup>.

El influente ingresa por la parte inferior, a través de una red de distribución diseñada para mantener fluidizado el manto de lodos anaeróbicos. Este sistema de alimentación prevé una alimentación homogénea, bajas posibilidades de obstrucción y minimización de volúmenes muertos dentro del reactor.

En la parte superior posee campanas para separar las tres fases. Este sistema separador está constituido por 16 unidades de 6 m de longitud y 2,5 m de ancho.

El reactor está equipado con un conjunto de cinco niveles de cañerías para tomar muestras, además de una válvula de inoculación y extracción de lodo.

El biogás generado se recoge en el separador de tres fases y se conduce a un tratamiento para eliminar la humedad y depurarlo. Finalmente, va hacia una caldera para calentar agua y calefaccionar el reactor, o para ser quemado en una antorcha.

La antorcha tiene una capacidad de flujo de biogás de 1500 Nm<sup>3</sup>/h y está equipada con instrumental conforme a los requerimientos de la UNFCCC (United Nations Framework Convention on Climate Change), que incluyen analizador de gases para controlar el porcentaje de metano en el biogás, controlador de temperatura y presión del biogás y control de temperatura de la llama.

En la tabla 8.16 se exhiben algunos parámetros operativos del reactor y en la tabla 8.17 se muestran datos sobre las dimensiones del equipo (Formulario documento de diseño de proyecto (CDM-SSC-PDD)- Citromax SACI-2012).

Tabla 8.16. Parámetros operativos del reactor UASB industrial

Parámetros	Valor Promedio	Valor Máximo
Caudal [m <sup>3</sup> /d]		5280
Caudal [m <sup>3</sup> /h]		220
DQO [kg/d]	58000	70000
VCO [kg DQO/m <sup>3</sup> .d]	8,28	10
Caudal de recirculación [m <sup>3</sup> /h]		250
Caudal de circulación (promedio+recirculación) [m <sup>3</sup> /h]		490
Producción de metano (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kgDQO removida)	0,32	0,35

Tabla 8.17. Dimensiones del reactor industrial UASB

Dimensiones del reactor UASB industrial	
Volumen [m <sup>3</sup> ]	7170
Diámetro [m]	31
Columna de agua [m]	9,5
Altura total [m]	10
Superficie [m <sup>2</sup> ]	755

Las figuras 8.29 y 8.30 muestran fotografías del reactor UASB industrial.



Figura 8.29. Vista del reactor UASB industrial (1).



Figura 8.30. Vista del reactor UASB industrial (2).

### 8.5.3. Planificación del arranque de granulación a escala industrial

Ya contando con las experiencias de granulación con efluente cítrico a escala piloto, se elaboró un plan de trabajo para encarar la granulación de lodo floculento, alimentado con efluente cítrico, a escala industrial.

La estrategia consistió en iniciar el proceso con lodos dispersos provenientes de una planta de tratamiento anaeróbico de efluentes de una industria textil.

Posteriormente, se cargó con agua el reactor hasta el rebose, para luego iniciar la alimentación con efluente cítrico a bajas VCO, la que se fue aumentando en función del equilibrio ácido-base que demuestre el sistema.

Periódicamente se monitoreó la concentración y actividad de la biomasa para recalculer la alimentación. El proceso se llevó a cabo en las siguientes etapas:

- 1) Selección de lodos dispersos para inóculos, en función de la concentración de su biomasa, determinada por los sólidos suspendidos volátiles (SSV) y por su actividad metanogénica específica (AME).
- 2) Caracterización del efluente y requerimiento de los lodos
- 3) Transporte y transferencia de los lodos al reactor.
- 4) Arranque del reactor.
- 5) Control del funcionamiento del reactor.

### 8.5.4. Inoculación del reactor industrial con lodo floculento

Se cargaron aproximadamente 2000 m<sup>3</sup> de lodo floculento en el reactor y luego se llenó con agua. La tabla 8.18 muestra el análisis de sólidos y de AME de los lodos cargados.

Tabla 8.18. Análisis de los lodos provenientes de una industria textil.

Análisis de lodos	
ST [g/l]	16,18
SF [g/l]	4,79
SV [g/l]	11,39
SST [g/l]	12,95
SSF [g/l]	2,92
SSV [g/l]	10,03
AME [gDQO/g SSV. d]	0,462

La carga de lodo se realizó fuera del período de actividad de la planta industrial, por lo que no se disponía de efluente citrícola para alimentar los lodos cargados en ese momento.

Se decidió incorporar 6 m<sup>3</sup> de pulpa que se tenía almacenada a los efectos de brindar alguna fuente de carbono a los lodos cargados.

Con los valores de AME y concentración de SSV, la máxima VCO sería:

$$VCO = X_f \times AME$$

Donde:

VCO: velocidad de carga orgánica [gDQO/l.d]

X<sub>f</sub>: concentración de lodos en el reactor [gSSV/l]

AME: actividad metanogénica específica [gDQO/gSSV.d]

Entonces:

$$VCO = 1,2 \frac{gSSV}{l} \times 0,24 \frac{gDQO}{gSSV.d} = 0,288 \frac{gDQO}{l}.d$$

Este cálculo permite conocer el valor máximo teórico de VCO con que se podría alimentar el reactor.

#### 8.5.5. Arranque

El influente crudo a ingresar al reactor, durante su tratamiento primario, atraviesa dos filtros rotativos y tres filtros parabólicos con mallas de filtrado de 500 micras para separar sólidos gruesos. Los sólidos separados se trasladan a las playas de compostaje.

Después, la corriente de efluente líquido llega a un tanque de neutralización, donde se le agrega cal y polímeros controlados por sondas de pH y caudal. Luego, sigue una etapa de sedimentación y posterior remoción de los sólidos separados, los que también se destinarán a compostaje, incorporando ingredientes que aporten textura y equilibrio en la relación C/N, como la cachaza, tal como se describió en el capítulo 7.

El efluente tratado se bombea a un tanque de mezcla, de 250 m<sup>3</sup>, cercano al reactor anaerobio. Este tanque está equipado con un intercambiador de calor y agitador para mejorar el flujo de recirculación y la calefacción del efluente.

Después de este tratamiento el efluente alcanza valores medios de 13,4 gDQO/l, 2200 mg SST/l y pH en el orden de 5,4.

Se inició la alimentación del reactor con una VCO de 0,3 kgDQO/m<sup>3</sup> d<sup>-1</sup>, manteniéndose una temperatura de unos 24°C dentro del reactor.

### 8.5.6. Resultados

En la figura 8.31 se observa la variación del TRH y de la VCO del reactor industrial.

Los puntos que indican VCO igual a cero representan situaciones donde no se suspendió la alimentación para evitar la acidificación del sistema.

Para controlar el arranque se empleó la estrategia de suspender la alimentación cuando el pH baja de 6,4 y realimentar cuando el pH sube a 6,7.

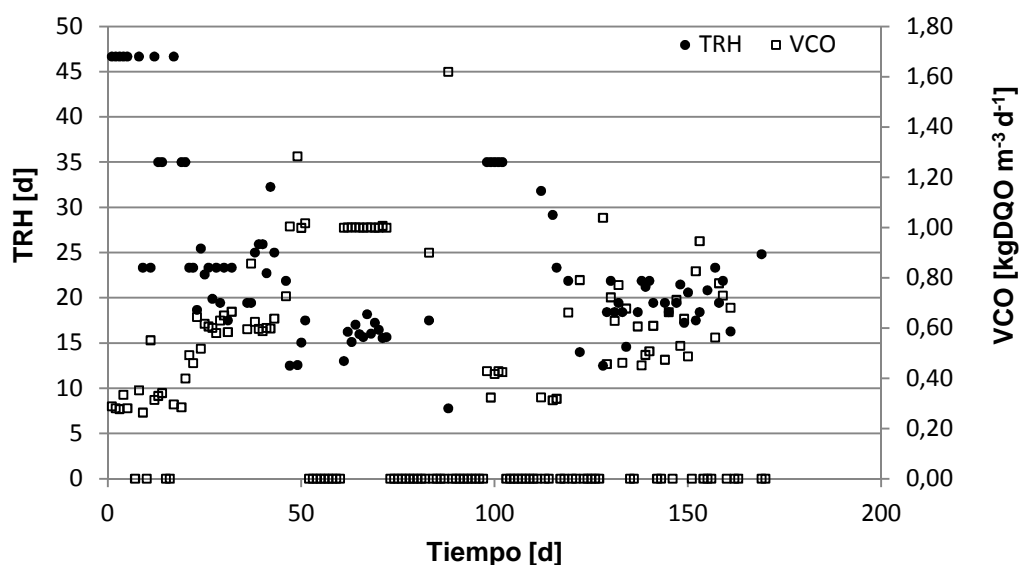


Figura 8.31. Parámetros operativos del reactor industrial (TRH y VCO).

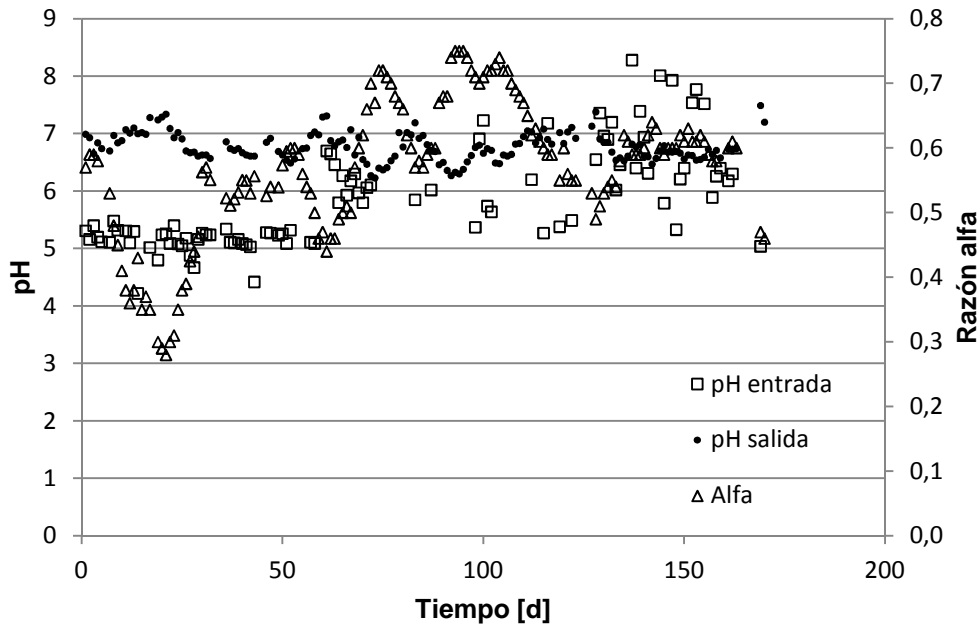


Figura 8.32. Estabilidad ácido-base del proceso

La figura 8.32 ilustra la estabilidad ácido-base del proceso en términos de pH y relación de alcalinidad. En los últimos días los valores de pH de entrada fueron más elevados debido, probablemente, al uso de mayor proporción de cal para neutralizar.

La figura 8.33 exhibe la variación de la DQO de entrada y de salida y la VCO.

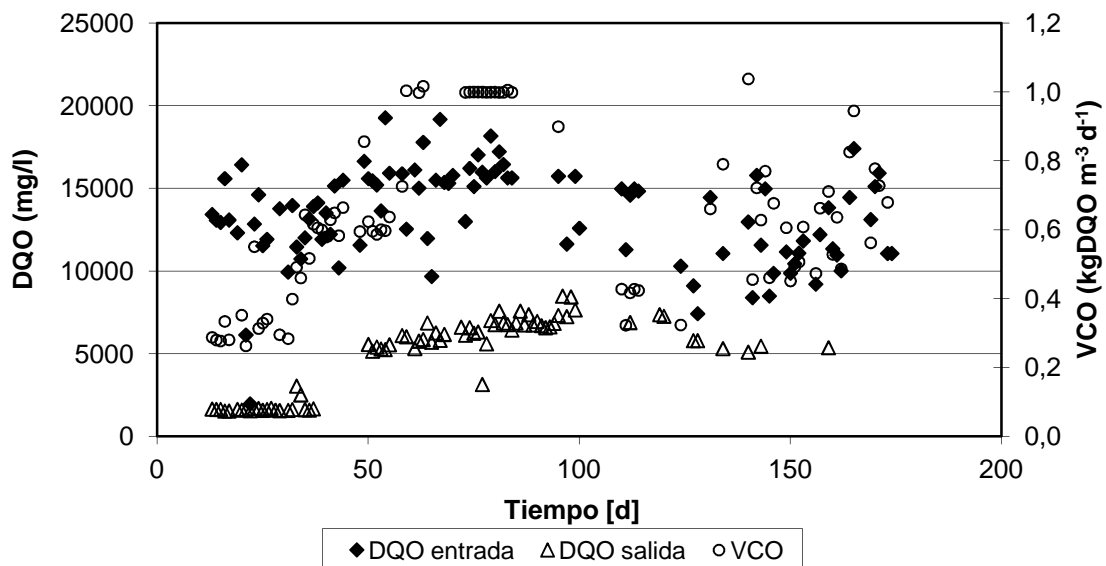


Figura 8.33. Variación de DQO y VCO

La figura 8.34 relaciona la VCO de alimentación con la VCO eliminada, donde nos da una eliminación promedio (pendiente) del 64% (inferior a la obtenida en el reactor piloto).

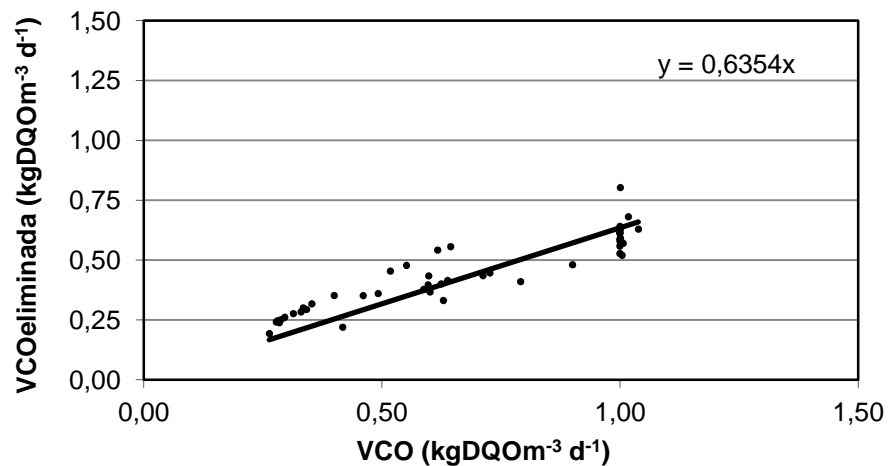


Figura 8.34. Eliminación promedio.

En la figura 8.35 se grafica la variación de los SST de entrada y salida del reactor, donde se advierte que los primeros oscilan en torno a los 2000 mg/l, con picos del orden de 3000 mg/l. A la salida se agrupan en torno a los 250 mg/l, con algunos valores puntuales por encima de los 1500 mg/l.

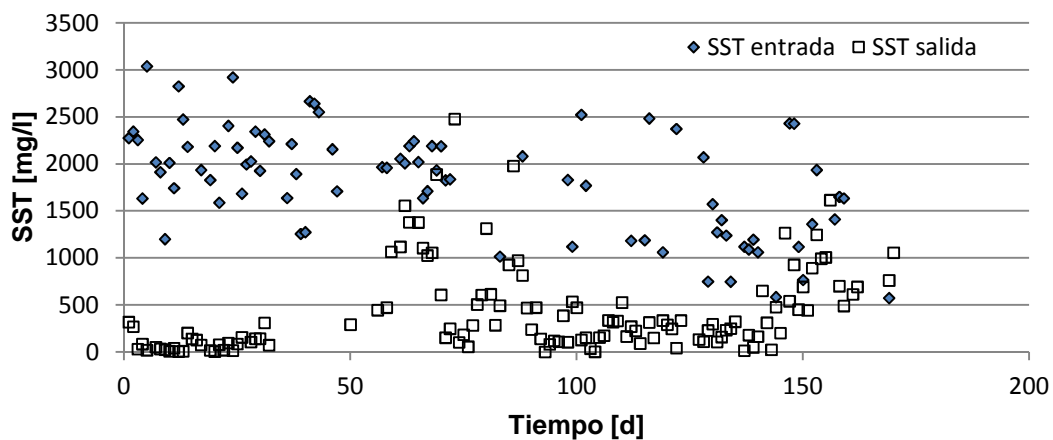


Figura 8.35. Variación de los sólidos suspendidos totales.

La determinación de la biomasa activa en el reactor se realizó a través de la determinación del perfil vertical de sólidos, considerando que los SSV constituyen una medida de la masa de materia celular.

Los valores de SSV de cada nivel se multiplican por el volumen correspondiente de la zona de reactor muestreada. La suma de las cantidades de biomasa de cada zona del reactor constituye la masa total de biomasa del reactor.

En la tabla 8.19 se muestran las alturas de los tomamuestras y la distancia de separación con el tomamuestra precedente.

Tabla 8.19. Tomamuestras, alturas y separación.

Nº de tomamuestra	Distancia entre toma muestras [m]	Alturas [m]
1	0,45	0,45
2	0,5	0,95
3	0,5	1,45
4	0,5	1,95
5	1	2,95
6	1	3,95
7	2,3	6,25

En la tabla 8.20 se muestran los valores de SSV del reactor para cada fecha, su AME y la VCO teórica con que podría alimentarse.

El sistema de alimentación del reactor permite variar, ya sea voluntariamente o aleatoriamente, los puntos de ingreso del influente, lo cual conduce a que los lodos del interior del reactor se orienten de diferentes modos con respecto a los tomamuestras.

Tabla 8.20. Biomasa en el reactor.

Desarrollo de SSV en el reactor					
Fecha	Día	Total SSV [Kgssv/m <sup>3</sup> ]	SSV (Ton)	AME (KgDQO/Kgssv.d)	VCO max.teórica (kgDQO m <sup>-3</sup> d <sup>-1</sup> )
10/02/2015	Tras inoculación	1,80	8,66	0,304	0,55
10/03/2015	Mantenimiento con pulpa	2,39	11,27	0,172	0,41
14/04/2015	0	2,39	11,27	0,172	0,41
15/05/2015	31	2,93	13,80	0,455	1,33
24/06/2015	71	2,21	10,42	0,358	0,79
22/07/2015	99	4,60	21,68	0,303	1,39
26/08/2015	134	4,22	19,88	0,272	1,15

En el muestreo correspondiente al 24 de junio no se estandarizó el flujo de alimentación, por lo que los lodos tomaron otra disposición en el interior del reactor y se registró un valor poco coherente con los obtenidos en el muestreo precedente y en el posterior.



La figura 8.36 representa la cantidad total de SSV en el tiempo.

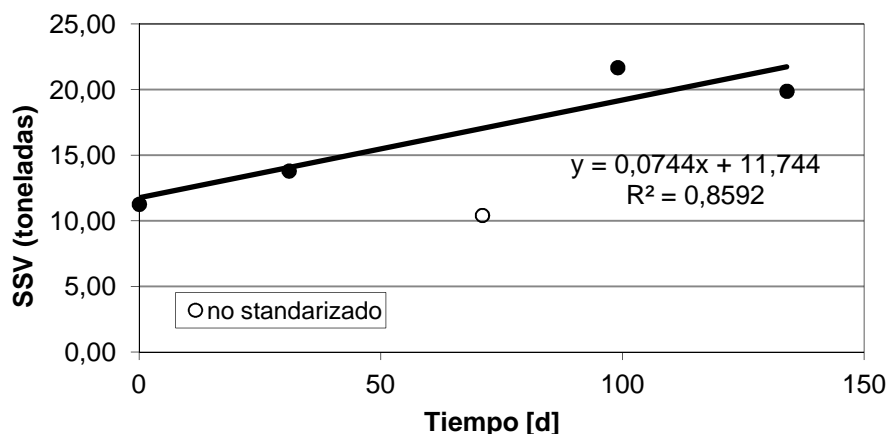


Figura 8.36. Evolución de los SSV del reactor

Se puede inferir que la velocidad de crecimiento de los SSV en ese periodo, representada por la pendiente de la línea de tendencia, es 0,0744 tn/d (74,4 kg/d).

En términos de DQO, multiplicando por 1,41 gDQO/gSSV, se arriba a un valor de 104,904 kgDQO (como SSV)/d.

Por otro lado, considerando la VCO promedio de  $0,65 \text{ kgDQO m}^{-3} \text{ d}^{-1}$  de los días que realmente estuvo en funcionamiento, unos 83 días, y con un rendimiento de eliminación del 64%, el promedio de eliminación por día sería de:

$$\text{Eliminación promedio} = 0,65 * 0,64 * 7000 * 83 / 134 = 1804 \text{ kgDQO/d.}$$

Con lo que el factor de crecimiento observado sería:

$$Y_{\text{obs.}} = 104,9 / 1804 = 0,058.$$

Este es un valor muy próximo al valor teórico para el crecimiento de biomasa anaerobia lo que indica que por un lado la retención de la biomasa en el reactor es adecuada y que no hay acumulación de sólidos en suspensión lentamente biodegradables en el mismo.

La figura 8.37 refleja la evolución de las AME y las VCO máximas teóricas a 35°C.

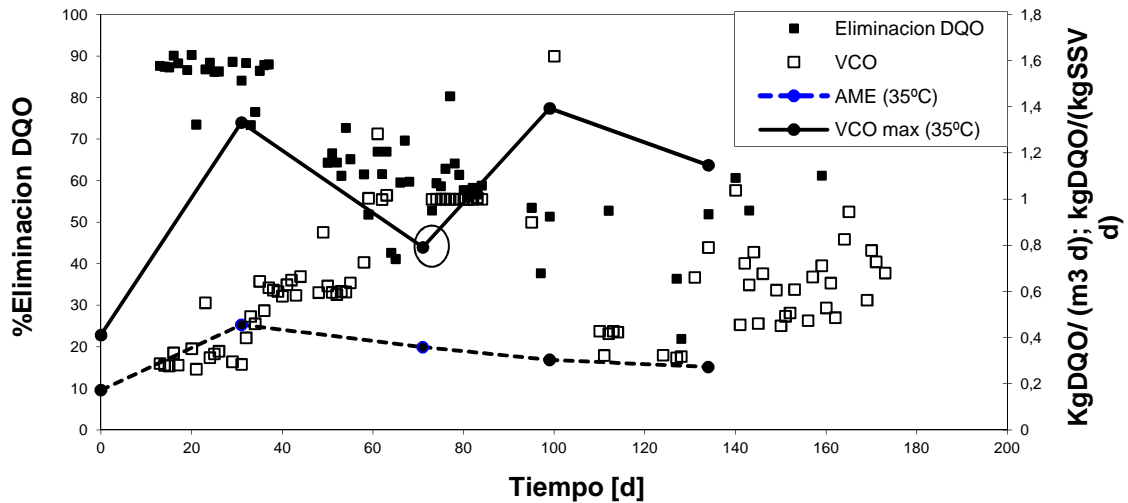


Figura 8.37. Evolución de las AME, eliminación y VCO máximas teóricas

En cuanto a la evolución del tamaño de los gránulos no fue posible aún reproducir el desarrollo obtenido a escala piloto, aunque en la gráfica 8.38 se puede observar el crecimiento del tamaño promedio de los gránulos correspondientes al tomamuestra 4, para los meses de mayo, julio y agosto.

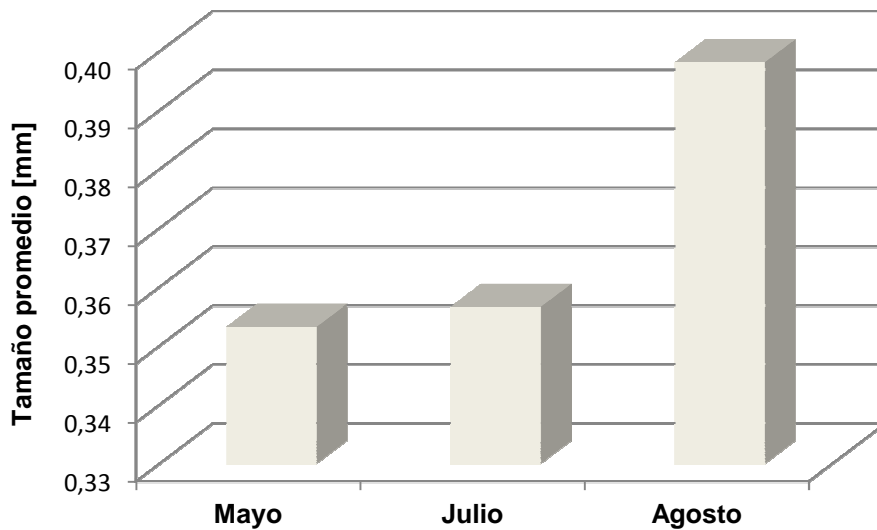


Figura 8.38. Desarrollo del tamaño promedio de los gránulos del toma 4.

Las mediciones del caudal de biogás producido no resultaron fiables por fallas en los sensores de los instrumentos, pero los sistemas automáticos permitieron poner en marcha la caldera para calentar agua hasta que la presión de biogás baja de un cierto valor. También fue posible encender la antorcha.

### **8.5.7. Conclusiones**

Lo estudiado en este último bloque permite diagnosticar que el reactor cuenta, hasta el presente, con bajas concentraciones de lodos, lo que augura un tiempo prolongado para el desarrollo de una población microbiana aceptable para un desempeño eficiente.

Por este motivo resulta recomendable reinocular con más lodo floculento a los efectos de iniciar el siguiente período con mayores posibilidades de aumentar la velocidad de carga orgánica, generando cantidades más importantes de biogás, que habilite la posibilidad de quemarlo para calefaccionar el reactor.

Por otra parte, y dado los análisis expuestos en los párrafos precedentes, se concluye que la estrategia de arranque y el control realizado sobre la biomasa del reactor resultaron lo suficientemente adecuados como para establecer los diagnósticos necesarios y las recomendaciones a futuro.

## 9. COMENTARIOS FINALES

Los resultados de las experiencias montadas en este trabajo muestran, como principal aportación, que los residuos orgánicos generados por la industrialización del limón pueden ser tratados por métodos biológicos con cierta eficiencia.

En primer lugar, es necesario enfatizar sobre la necesidad de realizar una eficiente separación de los sólidos en suspensión en las líneas donde se los genera, lo cual es una práctica infrecuente en las empresas locales.

Si esta premisa no se cumple, es necesario implementar un desbaste más riguroso del efluente crudo, de cara a un posterior tratamiento biológico del efluente líquido.

El compostaje de los residuos semisólidos separados tiene lugar de manera satisfactoria, siempre y cuando se equilibre la relación C/N inicial incorporando un producto adecuado, como la cachaza proveniente de la actividad azucarera, la que también le aporta una textura apropiada que favorece la efectividad de las operaciones de aereación o volteo.

Los mayores inconvenientes que presenta esta modalidad de tratamiento están asociados a las dificultades de acarreo, considerando el elevado contenido de agua que acompaña a los restos de pulpa y cáscara, y a los costes que esto conlleva.

Por otro lado, la biodigestión anaeróbica de los residuos semisólidos se presenta como una metodología emergente para escalas industriales, en estas latitudes, y los resultados obtenidos estimulan a encarar proyectos de mayor envergadura. Algunas firmas locales así lo interpretaron y ya se establecieron algunos diseños teóricos para ensayarlos próximamente.

De las experiencias descritas tratando el efluente citrícola con el reactor UASB piloto, se advierte a simple vista la factibilidad de aplicar esta tecnología para reducir sus contenidos de materia orgánica soluble, a temperaturas por arriba de los 25°C.

El proceso es muy efectivo a temperaturas mesofílicas, usando inóculos granulados. Si bien solo se registraron datos del ensayo hasta una VCO de 8 kgDQO m<sup>-3</sup>d<sup>-1</sup>, la tendencia indica que sería posible probar mayores cargas, teniendo la precaución de sostener valores reducidos de sólidos en suspensión en el influente.

Por otro lado, con el mismo proceso empleando lodos floculentos, se arribó una eliminación cercana al 75%.

Sin embargo, la contribución más relevante de esta experiencia fue la obtención de gránulos anaerobios partiendo de lodos dispersos y empleando el efluente industrial como sustrato.

Este resultado es importante en el contexto regional de poca accesibilidad a contar con volúmenes industriales de lodos granulares y brinda información útil para encarar el proceso en reactores a escala industrial.

La decidida voluntad de mejorar los desempeños medioambientales manifestados por algunos sectores empresariales tucumanos, particularmente la fábrica de levaduras CALSA S.A. y las principales citrícolas, abrió las puertas al estudio y concreción de proyectos de tratamiento de residuos vinculados a las tecnologías de biodigestión anaerobia.

Las firmas citrícolas más importantes ya adoptaron estas metodologías y es de esperar que el resto sigan el mismo camino.

Estas industrias generan importantes volúmenes de efluentes líquidos de relativamente alta carga orgánica (entre 8 y 16 gDQO/l , dependiendo de la rigurosidad del tratamiento primario aplicado). Ensayar y encontrar los métodos apropiados para estabilizar esta materia orgánica, permitirá realizar su disposición acorde a las normas vigentes. En el historial industrial local, esta meta representa todo un hito y un ejemplo a seguir.

Además de los beneficios medioambientales, y posiblemente energéticos, que recibirían las industrias citrícolas por emplear estas tecnologías, surge también el hecho de asumir el rol de impulsores y modelos a seguir para otras actividades productivas locales que generen residuos de naturaleza biodegradable.

A partir de las investigaciones realizadas, se genera la expectativa de divulgar en el ámbito regional, el conocimiento de las tecnologías de digestión anaerobia, tanto en la faz académica como en sus aplicaciones prácticas.

## BIBLIOGRAFIA CITADA

**Albaladejo Meroño, Q. (1999).** El Aceite Esencial de limón producido en España. Contribución a su evaluación por Organismos Internacionales. Departamento de Tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología - Facultad de Veterinaria - Universidad de Murcia.

**Albornoz, P. et al. (2012).** Compost a partir de pulpa de limón y cachaza, Revista Avance Agroindustrial, volumen 33, N°1, año 2012, página 34 al 38.

**Álvarez de la Puente, J. (2006).** Manual de compostaje para agricultura ecológica (consultado 8 marzo 2010). Disponible en:

[www.agroecologia.net/recursos/asesoramiento/recursos-ja/compostaje/compostaje.pdf](http://www.agroecologia.net/recursos/asesoramiento/recursos-ja/compostaje/compostaje.pdf).

**American Public Health Association (APHA – 2005).** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 21. ed. APHA, Washington DC, USA.

**Angelidaki, I., Ahring, B. K. (2000).** Methods for increasing the biogas potential from the recalcitrant organic matter contained in manure. *Water Science & Technology*, 41(3), 189-194.

**Angelidaki, I., Sanders, W. (2004).** Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology*, 3(2), 117-129.

**Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

**Becette, M.V., Russo, M.N., Ocón, A., Juárez, P., (2011).** Digestión Anaerobia del Efluente Proveniente de la Industrialización del Limón mediante un Reactor Piloto UASB.

**Björnsson, L., Murto, M., Jantsch, T. G., Mattiasson, B. (2001).** Evaluation of new methods for the monitoring of alkalinity, dissolved hydrogen and the microbial community in anaerobic digestion. *Water Research*, 35(12), 2833-2840.

**Bouallagui, H., et al. (2004).** Bioreactor performance in anaerobic digestion of fruit and vegetable wastes. *Process biochemistry*, 40(3), 989-995.

**Boucher, O., et al. (2009).** The indirect global warming potential and global temperature change potential due to methane oxidation. *Environmental Research Letters*, 4(4), 044007.

**Brown International Corporation (2013).** Disponible en:

<http://www.brown-intl.com/industrial-fruit-processing-systems/CitrusOilExtractor/>

**Caicedo Messa, F.J. (2006).** Diseño, construcción y arranque de un reactor UASB piloto para el tratamiento de lixiviados. (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia-Sede Manizales).

- Castillejos, L., Calsamiglia, S., Ferret, A. (2006).** Effect of essential oil active compounds on rumen microbial fermentation and nutrient flow in in vitro systems. *Journal of Dairy Science*, 89(7), 2649-2658.
- Chamy Maggy, R., et al. (2003).** Avances en Biotecnología Ambiental: Tratamiento de Residuos Líquidos y Sólidos.
- Charles W., Walker L., Cord-Ruwisch R. (2009).** Effect of pre-aeration and inoculum on the start-up of batch thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste. *Bioresour Technol.* 2009 Apr;100(8):2329-35. doi: 10.1016/j.biortech.2008.11.051. Epub 2009 Jan 6.
- Cheeseman, P. et al. (1972).** Isolation and properties of a fluorescent compound, Factor 420, from *Methanobacterium* Strain M.o.H. *Journal of Bacteriology*, 112(1), 527-531.
- Chernicharo, C. A. (2007).** Biological wastewater treatment series. Anaerobic reactors. (Vol. 4) IWA publishing.
- Chernicharo, C. A. (2007).** Reatores aneróbios Vol. 5, Princípios do Tratamento Biológico de Aguas Residuárias, 2ª ed. Dpto. de Engenharia Sanitária e Ambiental – DESA. Universidade Federal de Mina Gerais, Brasil.
- Citrotecno, 2011.** Disponible en: <http://www.citrotecno.com/index.php>
- Coulibaly, L., Gourene, G., Agathos, N. S. (2004).** Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 620-630.
- C&D Ingeniería (2012).** Disponible en: <http://www.centrifugesdecanter.com.ar/index.htm>
- Dabbah, R., Edwards, V. M., Moats, W. A. (1970).** Antimicrobial action of some citrus fruit oils on selected food-borne bacteria. *Applied microbiology*, 19(1), 27-31.
- Day, M. et al. (1998).** An investigation of the chemical and physical changes occurring during Commercial Composting. *Compost Science & Utilization*, 6(2), 44-66.
- Delafontaine, M. et al. (1979).** Fluorimetric monitoring of methanogenesis in anaerobic digestors. Laboratory of applied enzymology and laboratory of natural polymers, University of Louvain, B-1348, Louvain, Belgium. *Biotechnology Letters*, 1(2), 71-74.
- De Zeeuw, W., Lettinga, G. (1980).** Acclimation of digester sewage sludge during start-up of upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactor. In Proceedings of the 35th industrial waste conference, May 13-15 1980, at Purdue University, Lafayette, Indiana, USA (pp. 39-47). School of Civil Engineering, Purdue Univ.
- De Zeeuw, W. (1988).** Granular sludge in UASB reactors. En Granular anaerobic sludge; Microbiology and Technology - GASMAT-Workshop (Editado por Lettinga, G., Zehnder, A.J.B, Grotenhuis, J.T.C. y Hulshoff Pol, L.W.), pp 132-145 Pudoc, Wageningen, The Netherlands.

**Documento de Diseño de Proyecto (CDM–SSC–PDD). (2006).** Recuperación de biogás y producción de energía térmica en la planta citrícola de CITROMAX, en Tucumán, Argentina.

**Dolfing, J., Mulder, J. (1985).** Comparison of methane production rate and coenzyme F<sub>420</sub> content of methanogenic consortia in anaerobic granular sludge. *Applied and environmental microbiology*, 49(5), 1142-1145.

**Dubourgier HC, Prensier G, Albagnac G. (1987).** Structure and microbial activities of granular anaerobic sludge. In: Lettinga G, Zehnder AJB, Grotenhuis JTC, Hulshoff Pol L.W., editors. *Granular anaerobic sludge: microbiology and technology*. The Netherlands: Pudoc Wageningen; p.18–33.

**Elango, D. et al (2006).** Production of biogas from municipal solid waste with domestic sewage. *Journal of hazardous materials*, 141(1), 301-304.

**Elessia, 2013.** Disponible en: <http://www.elessia.com/es/explicacion-del-proceso-ultrafiltracion.html>

**Fandos, C.; Scandaliaris, P.; Carreras Baldrés, J.; Soria, F. (2012).** *Reporte Agroindustrial: Estadísticas y márgenes de cultivos tucumanos. Superficie con cítricos en Tucumán en el año 2012.* Boletín N°70, Octubre 2012.

**Field, J., Sierra Alvarez, R., Lettinga, G. (1988).** Ensayos Anaerobios en: *Depuración Anaerobia de Aguas Residuales*. Actas del 4° Seminario D.A.A.R, Ed. Coordinada por F. Fdz Polanco; P.A García; S. Hernando; Secretariado de Publicaciones Universidad de Valladolid. Valladolid, España.1988.

**Field J. (2002).** Toxicidad Metanogénica. En *Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodo UASB: manual del curso* (pp. 1-57). UNIVALLE.

**Flottweg Separation Technology (2015).** Disponible en: <https://www.flottweg.com/es/la-gama-de-productos/centrifugas/>

**Francese, A. P. (1993).** UASB reactor start up. Tesis Doctoral, Universidad de San Luis, Argentina.

**Ghangrekar, M. M., Asolekar, S. R., Joshi, S. G. (2005).** Characteristics of sludge developed under different loading conditions during UASB reactor start-up and granulation. *Water research*, 39(6), 1123-1133.

**Gogate, P. R., Pandit, A. B. (2004).** A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions. *Advances in Environmental Research*, 8(3), 501-551.

**Gujer, W., Zehnder, A.J.B. (1983).** Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science & Technology*, 15(8-9), 127-167.

**Gunaseelan, V. (2003).** Biochemical methane potential of fruits and vegetable solid waste feedstocks. *Biomass and Bioenergy*, 26(4), 389-399.



- Hashimoto, G. (1986).** Ammonia inhibition of methanogenesis from cattle wastes. *Agricultural Wastes*, 17(4), 241-261.
- Haug, R. T. (1993).** The practical handbook of compost engineering. CRC Press.
- Haug, R. T., Stuckey, D. C., Gossett, J. M., McCarty, P. L. (1978).** Effect of thermal pretreatment on digestibility and dewaterability of organic sludges. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 73-85.
- Henze, M., Harremoës, P. (1983).** Anaerobic treatment of wastewater in fixed film reactors - a literature review. *Water Science & Technology*, 15 (8-9), 1-101.
- Hobson, P. N. (1987).** A model of some aspects of microbial degradation of particulate substrates. *Journal of fermentation technology*, 65(4), 431-439.
- Hulshoff Pol, L. W. (1987).** Arranque y operación de reactores UASB, en Manual del curso: Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodo (UASB). Universidad del Valle (Colombia), Universidad Agrícola de Wageningen (Holanda).
- Hulshoff Pol, L. W. (1989).** The phenomenon of granulation of anaerobic sludge (Doctoral dissertation, Landbouwniversiteit te Wageningen).
- Hulshoff Pol, L. W., et al. (2004).** Anaerobic sludge granulation. *Water Research* 38(6), 1376-1389.
- James, A., et al. (1990).** The development of a new methodology for the assessment of specific methanogenic activity. *Water Research*, 24(7), 813-825.
- JBT Corporation (2009).** Disponible en:  
<http://www.jbtfoodtech.com/en/Solutions/Knowledge/FoodTechReports/Archive/FoodTech-Report-volume-7-issue-1/Articles/Ask-the-expert>
- Jian, C., Shi-yi, L. (1993).** Study on mechanism of anaerobic sludge granulation in UASB reactors. *Water Science & Technology*, 28(7), 171-178.
- Knobloch, K., Pauli, A., Iberl, B., Weigand, H., Weis, N. (1989).** Antibacterial and antifungal properties of essential oil components. *Journal of Essential Oil Research*, 1(3), 119-128.
- Koster, L. W., et al. (1985).** Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH-levels.
- Koster, I. y Cramer, A. (1986).** Inhibition of methanogenesis from acetate in granular sludge by long-chain fatty acids.
- Kugelman, I. J., McCarty, P. L. (1965).** "Cation toxicity and stimulation in anaerobic waste treatment. I. Slug feed studies." *Journal of the Water Pollution Control Federation*. 37, 97-116
- Lettinga, G., de Zeeuw, W., Wiegant, W., y Hulshoff Pol, L. W. (1987).** High-rate anaerobic granular sludge UASB-reactors for wastewater treatment. En

Bioenvironmental Systems 1 (Editado por Wise, D.L.), pp 132-159. CRC Press, Boca Ratón, Fla.

**Li, Y. Y., Noike, T. (1992).** Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by thermal pretreatment, *Water Science and Technology*, 26(3-4). 857-866.

**Liu Y., Xu, H. L., Yang, S. F., Tay, J. H. (2003).** Mechanisms and models for anaerobic granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Water Research*, 37(3), 661-673.

**Luzzy SA, Extractor de jugo cítrico EXZEL (2014).** Disponible en: <http://www.luzzysa.com/productos.php>

**Machado, W. D. (2003).** Gestión y tratamiento de residuos de la industria citrícola. Suficiencia investigativa de la Carrera de Doctorado. Universidad de Burgos. España.

**MacLeod, F. A., et al. (1990).** Layered structure of bacterial aggregates produced in an upflow anaerobic sludge bed and filter reactor. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1598-1607.

**Madigan, M., Mertinko, J., Parker, J. (1997).** Brock Biología de los microorganismos. Prentice Hall. New Jersey, USA.

**Maguna, F. P., Romero, A. M., Garro, O. A., Okulik, N. B. (2006).** Actividad antimicrobiana de un grupo de terpenoides. Facultad de Agroindustrias, UNNE, Argentina. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas en Internet. Consultado: 6 julio 2015. Disponible en: <http://www.unne.edu.ar/>.

**Marti Klyver et al (2000).** Características analíticas de diferentes tipos de aceites de limón - Anales de SAIPA (Sociedad Argentina para la Investigación de Productos Aromáticos) - IX Congreso Nacional de Recursos Naturales Aromáticos y Medicinales - Volumen XVI.

**Mata-Alvarez, J., Mace, S., Llabres, P. (2000).** Anaerobic digestion of organic solid wastes. An overview of research achievements and perspectives. *Bioresource technology*, 74(1), 3-16.

**Merianos, J. J., (2001).** Surface, Active Agents, in: *Desinfection, Sterilization, and Prevention*. 5<sup>th</sup> Edition. Editor, Seymour S. Block, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, P.A. USA.

**Migliavacca, J., (2011).** Tratamiento anaeróbico de efluentes cítricos con captación de biogás para la reducción de gases de efecto invernadero. Tesis para la obtención del título de Magister en Ingeniería Ambiental. Universidad Tecnológica Nacional. Facultad Regional Tucumán.

**Molina, F., et al. (2008).** Characterization of anaerobic granular sludge developed in UASB reactors that treat ethanol, carbohydrates and hydrolyzed protein based wastewaters. *Proteins*, 1, 2-6.

- Moreno Andrade, I. et al. (2002).** Cuantificación de los grupos bacterianos de cinco inóculos usados en la prueba de biodegradabilidad anaerobia. Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancún, México.
- Morgan, J. W., Evison, L. M., Forster, C. F. (1991).** The internal architecture of anaerobic sludge granules. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 50(2), 211-226.
- Morisaki, N. et al, (1988).** Nitrogen transformation during thermophilic composting. *Journal of fermentation and bioengineering*, 67(1), 57-61.
- Mudhoo, A., Kumar, S. (2013).** Effects of heavy metals as stress factors on anaerobic digestion processes and biogas production from biomass. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 10(6), 1383-1398.
- Mueller, R. F., Steiner, A. (1992).** Inhibition of anaerobic digestion caused by heavy metals. *Water Science & Technology*, 26(3-4), 835-846.
- Navarro, R. et al. (2013).** Anaerobic treatment of residual lemon pulp in digesters with semi-continuous feed. *Water Science & Technology*, 67(3), 514-520.
- Oh, H. K., Sakai, T., Jones, M. B., Longhurst, W. M. (1967).** Effect of various essential oils isolated from Douglas fir needles upon sheep and deer rumen microbial activity. *Applied microbiology*, 15(4), 777-784.
- Oude Elferink, S. J. et al. (1994).** Sulfate reduction in methanogenic bioreactors. *FEMS Microbiology Reviews*, 15(2-3), 119-136.
- Omnia SRL. Speciale machinery for citrus processing line (2007).** Disponible en: <http://www.speciale.it/espanol/sistemainline.htm>
- Palmowski, L.M y Müller, J.A (2000).** Influence of the size reduction of organic waste on their anaerobic digestion. *Water Science and Technology*, 41(3), 155-162.
- Paredes, V., Pérez, D., Rodríguez, G. (2011).** *El limón en Tucumán, la Argentina y el mundo: producción y exportación durante el período 1999/2000-2010/2011. Revista Avance Agroindustrial*, 32(3), 15-21.
- Pavlostathis, S. G., Gossett, J. M. (1985).** Alkaline treatment of wheat straw for increasing anaerobic biodegradability. *Biotechnology and Bioengineering*, 27(3), 334-344.
- Pavlostathis, S. G., Giraldo-Gomez. E. (1991).** Kinetics of anaerobic treatment. A critical review. *Critical Reviews in Environmental Control*, 21, 411-490.
- Payán Saldívar, L. E. (2015).** Evaluación del efecto combinado de los antimicrobianos naturales nisina, D-limoneno, glucósido de steviol y citral sobre *Listeria monocytogenes* en alimentos de origen vegetal.
- Pereboom, J. (1994).** Size distribution model for methanogenic granules from full scale UASB and IC reactors. *Water science and technology*, 30(12), 211-221.

- Pérez, D.R. (2001).** “*Los Citrus del Noroeste Argentino*” – Sección Economía Agrícola. EEAOC.
- Ploper, L. D., Fadda, G. S. (2010).** “En el mañana, hoy”. EEAOC.
- Rajan, R. V., Lin, J. G., Ray, B. T. (1989).** Low-level chemical pretreatment for enhanced sludge solubilization. *Research Journal of the Water Pollution Control Federation*, 1678-1683.
- Rincón, N., Behling, E., Díaz, A., Mata Álvarez, J. (2006).** Utilización de ultrasonido como técnica de pretratamiento en lodos biológicos. Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Punta del Este.
- Rintala, J. A., Ahring, B. K. (1994).** Thermophilic anaerobic digestion of source-sorted household solid waste: the effects of enzyme additions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 40(6), 916-919.
- Rojas, O. (1987).** Relación alcalinidad-ácidos grasos volátiles. En: Curso Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos. Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia, 1987.
- Ruiz, B., Flotats, X. (2014).** Citrus essential oils and their influence on the anaerobic digestion process: An overview. *Waste Management*, 34(11), 2063-2079.
- Russo, M. N., Ahmed, P. M., Quaia, E. A., (2010).** Tratamiento biológico anaeróbico del efluente de una cítrica utilizando una planta piloto con bio-reactor del tipo UASB. Congreso iberoamericano de ambiente y calidad de vida, Catamarca, Argentina.
- Sam-Soon, P. A. L. N. S., Loewenthal, R. E., Dold, P. L., Marais, G. V. R. (1987).** Hypothesis for pelletisation in the upflow anaerobic sludge bed reactor. *Water Sa*, 13(2), 69-80.
- Sarmiento Guerra, F., et al. (2012).** Antibacterial activity of the essential oil of *Citrus limon* against multidrug resistant *Acinetobacter* strains. Department of Pharmaceutical Sciences, Federal University of Paraíba, 58051-970, João Pessoa - PB, Brazil.
- Schieder, D., Schneider, R., Bischof, F. (2000).** Thermal hydrolysis (TDH) as a pretreatment method for the digestion of organic waste. *Water Science and Technology*, 41(3), 181-187.
- Schloss, P., Walker, L. (1999).** Measurement of process performance and variability in inoculated composting reactors using ANOVA and power analysis. *Process Biochemistry*, 35(9), 931-942.
- Schmidt, J.E., Ahring, B.K. (1995)** Granular sludge formation in upflow anaerobic sludge blanket (UASB) reactors. *Biotechnology and Bioengineering*, 49(3), 229-246.
- Show, K. Y., Wang, Y., Foong, S. F., Tay, J. H. (2004).** Accelerated start-up and enhanced granulation in upflow anaerobic sludge blanket reactors. *Water Research*, 38(9), 2293-2304.

- Seghezzo, L., et al. (1998).** A review: The anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors. *Bioresource Technology*, 65(3), 175-190.
- Seghezzo, L., (2007).** Lettinga Associates Foundation for environmental protection and resource conservation. Manual for the design of UASB reactors.
- Seyhan E. (2000).** Química Orgánica, Estructura y Reactividad. Tomo 2. 3ª Edición. Editorial Reverté S.A., Barcelona, España.
- Sierra-Alvarez, R., Kato, M., Lettinga, G. (1990).** The anaerobic biodegradability of paper mill wastewater constituents. *Environmental technology*, 11(10), 891-898.
- Siles, J. et al. (2007).** Anaerobic digestion of wastewater derived from the pressing of orange peel generated in orange juice production. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(5), 1905-1914.
- Sinclair, W. B. (1984).** The biochemistry and physiology of the lemon and other citrus fruit. Division of Agriculture and Natural Resources. University of California. ISBN: 0-931876-64-8
- Sino-NSH Oil Purifier Manufacturer.(2014)** Disponible en:  
<http://nshoilfilter.weebly.com/centrifugal-oil-separator.html>
- Souza, C. L., Chernicharo, C. A. (2011).** Methane losses in UASB reactors treating domestic wastewater: mass balance and possible improvements. Federal University of Minas Gerais, B. Horizonte – Brazil
- Speece, R. E. (1983).** Anaerobic biotechnology for industrial wastewater treatment. *Environmental science & technology*, 17(9), 416A-427A.
- Stroot, P. G., et al. (2000).** Anaerobic codigestion of municipal solid waste and biosolids under various mixing conditions – I Digester Performance. *Water Research*, 35(7), 1804-1816.
- Sundberg, C. et al. (2004).** Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. *Bioresource Technology*, 95(2), 145-150.
- Sundberg, C. (2005).** Improving compost process efficiency by controlling aeration, temperature and pH. Doctoral Thesis No.2005:103, Faculty of Natural Resources and Agriculture, Swedish University of Agricultural Sciences. Pp. 10, 11, 16-17
- Sztern, D., Pravia, M. (1999).** “Manual para la elaboración de compost. Bases conceptuales y procedimientos”. Organización Panamericana de la Salud. Organización Mundial de la Salud.
- Tay, J. H., Xu, H. L., Teo, K. C. (2000).** Molecular mechanism of granulation. I: H<sup>+</sup> translocation-dehydration theory. *Journal of Environmental Engineering*, 126(5), 403-410.

- Thaveesri, J., Daffonchio, D., Liessens, B., Vandermeren, P., Verstraete, W. (1995).** Granulation and Sludge Bed Stability in Upflow Anaerobic Sludge Bed Reactors in Relation to Surface Thermodynamics. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(10), 3681.
- Torres, P., Cardoso, A., Rojas, O. (2004).** Mejoramiento de la calidad de lodos anaerobios. Influencia de la adición de cloruro férrico. *Ingeniería y Competitividad*. Vol. 5 N°. 2pp. 23-31.
- Vaclavik, V., Christian, E. 2002.** Fundamentos de ciencia de los alimentos. Editorial Acribia.
- van Haandel, A., Lettinga G. 1994.** Anaerobic Sewage Treatment – A practical guide for regions with a hot climate. John Wiley y Sons.
- Von Sperling, M., Chernicharo, C. A. (2006).** Biological wastewater treatment in warm climate regions, Departamento de Sanidad e Ingeniería Ambiental – Universidad Federal de Minas Gerais (Brasil).
- Watertreaters, 2015.** Disponible en: <http://www.watertreaters.com/d203.html>
- Wiegant, W. M. (1987).** The “spaghetti theory” on anaerobic sludge formation, or the inevitability of granulation. En: Lettinga G., Zehnder A., Grotenhuis J., Hulshoff Pol L., editors. *Granular anaerobic sludge: Microbiology and technology*. The Netherlands: Pudoc, Wageningen; p146-52.
- Zeeman, G. et al. (1985).** The influence of the total ammonia concentration on thermophilic digestion of cow manure. *Agricultural Wastes*, 14(1), 19-35.