

Digestión anaerobia del lactosuero en un reactor tubular a temperatura ambiente

Anne Marie Besson Veronique

Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de: Magister en Ingeniería

Química

Directores:

Humberto Escalante Hernández

PhD. en Ingeniería Química

Liliana Del Pilar Castro Molano

PhD. en Ingeniería Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ingenierías Físicoquímicas

Escuela de Ingeniería Química

Maestría en Ingeniería Química

Bucaramanga

2018

Contenido

	Pág.
Introducción	14
1. Digestión anaerobia del lactosuero	22
1.1 Principio de la DA	22
1.1.1 Etapas de la transformación: cinética microbiana	23
1.1.2 Producción teórica de metano	26
1.2 Parámetros de la digestión anaerobia.....	26
1.2.1 Sustrato	27
1.2.2 Inóculo	27
1.2.3 Temperatura	28
1.2.4 pH – Alcalinidad	29
1.2.5 Inhibiciones.....	30
1.3 Parámetros de operación de proceso batch	32
1.3.1 Relación Inoculo/Sustrato	32
1.3.2 Potencial de Biometanización (PBM).....	32
1.4 Parámetros de operación de proceso en continuo	33
1.4.1 Carga orgánica	34
1.4.2 Tiempo hidráulico de retención	34
1.4.3 Agitación.....	35

1.4.4 Configuración de reactores	35
1.5 Alternativas	38
1.5.1 Aspecto bioquímico: Co digestión anaerobia	38
1.5.2 Aspecto operacional: Reactor tubular	40
1.5.3 Aspecto microbiológico: Recirculación.....	40
2. Desarrollo de la investigación.....	41
2.1 Primera etapa: Análisis Físico-Químicas.....	42
2.2 Recolección y caracterización de los sustratos y del inóculo	42
2.2.1 Sustrato: Lactosuero.....	42
2.2.2.1 Sitio de recolección.....	42
2.2.2.2 Análisis estadístico.....	43
2.2.2.3 Caracterización del sustrato	43
2.2.3 Co- sustrato: Estiércol Bovino Fresco	44
2.2.4 Inóculo: Estiércol Bovino Aclimatado.....	44
2.3 Procesos de DA y CODA del LS	44
2.3.1 Diseño de los reactores	44
2.3.2 Puesta en marcha de los dos procesos.....	45
2.3.2.1 Condiciones de operación	45
2.3.2.2 Variables de respuesta.....	46
2.3.3 Procesos de DA y CODA en continuo.....	46
2.3.3.1 Condiciones de operación	46
2.3.3.2 Variables de respuestas	47
2.3.4 Evaluación de la variabilidad de la acidez en la dirección axial del reactor.....	47

3. Discusión de los resultados	48
3.1 Caracterización los sustratos	48
3.1.1 Variabilidad de la composición de lactosuero	48
3.1.2 Caracterización completa de los sustratos: LS y EBF	52
3.2 Digestión y co digestión anaerobia de lactosuero	54
3.2.1 Fase de puesta en marcha	54
3.2.2 Proceso de DA	56
3.2.3 Proceso de CODA	59
3.2.4 Validación de la hipótesis de separación de fases en el reactor	63
4. Conclusiones	66
Bibliografía	68
Apéndices	78

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Proceso de elaboración del queso fresco	15
Figura 2. Alternativas para aprovechamiento del LS.....	18
Figura 3. Etapas del proceso de digestión anaerobia del lactosuero.....	24
Figura 4. Diseño del reactor tubular empleado.....	45
Figura 5. Comportamiento en la caracterización del LS durante el análisis de 5 semanas: a) pH, b) Sólidos Volátiles.....	49
Figura 6. Gráfica de probabilidad normal por los datos de pH (a) y de los sólidos volátiles (b) .	51
Figura 7. Evolución de la estabilidad de los procesos de la DA y CODA: a) Capacidad Buffer (Relación AGV/AT), b) pH para ambos procesos	56
Figura 8. Evolución de a) Concentración en AGV, b) Producción de biogás y c) degradación de los sólidos volátiles para ambos procesos DA y CODA.....	58
Figura 9. Evolución de la estabilidad del proceso: a) Capacidad Buffer (Relación AGV/AT), b) pH a lo largo del proceso de CODA.....	60
Figura 10. Degradación de los sólidos volátiles en el proceso de CODA	61
Figura 11. Producción diaria del proceso de CODA	62
Figura 12. Producción de AGV durante el proceso de CODA.....	63
Figura 13. Evolución del pH del proceso de co-digestión anaerobia según la longitud.....	64

Figura 14. Evolución de la concentración en ácidos grasos volátiles a lo largo del reactor

durante el proceso de co-digestión anaerobia 65

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Productos de la industria láctea	14
Tabla 2. Caracterización fisicoquímica de lactosueros	16
Tabla 3. Estado del arte de la DA del LS.....	19
Tabla 4. Estado del arte de la CODA del LS	39
Tabla 5. Condiciones de operación al arranque del proceso.....	45
Tabla 6. Caracterización de lactosueros empleados en otros estudios.....	49
Tabla 7. Resultados de la prueba de Grubbs.....	52
Tabla 8. Caracterización completa de los sustratos	52
Tabla 9. Condiciones de operación para todas las fases (Proceso de DA)	55
Tabla 10. Condiciones de operación para todas las fases (Proceso de CODA).....	55

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A Determinación de solidos totales (ST) en muestras sólidas y semisólidas.....	78
Apéndice B. Determinación de solidos volátiles (SV) en muestras sólidas y semisólidas.....	80
Apéndice C: Determinación de la concentración de ácidos volátiles (AGV) y alcalinidad total (AT).....	82
Apéndice D. Análisis estadístico: Pruebas de Henry y Grubbs	85

Abreviaturas

AGV: Ácidos Grasos Volátiles

AT: Alcalinidad Total

CODA: Co-digestión Anaerobia

CSTR: Continuous Stirred Tank Reactor

DA: Digestión Anaerobia

DQO: Demanda Química en Oxígeno

EBA: Estiércol Bovino Aclimatado

EBF: Estiércol Bovino Fresco

HRT: Hydraulic Retention Time

LS: Lactosuero

OLR: Organic Loading Rate

PBM: Potencial de biometanización

PIB: Producto Interno Bruto

PFR: Plug Flow Reactor

RIS: Relación inóculo/Sustrato

SV: Sólidos Volátiles

UASB: Upflow Anaerobic Sludge Blanket

Resumen

Título: Digestión anaerobia del lactosuero en un reactor tubular a temperatura ambiente *

Autor: Anne Marie Besson Veronique **

Palabras Clave: Digestion Anaerobia, Reactor Tubular, Lactosuero, Recirculación

Contenido:

El Lactosuero (LS) es el subproducto principal de la industria láctea. En el presente estudio, se investigó la implementación de la digestión anaerobia (DA) como tecnología para tratar el LS generando una fuente de energía por producción de un biogás rico en metano. El LS tiene una capacidad a degradarse rápidamente, causando una alta producción de ácidos grasos volátiles (AGV), y hace la DA sensible a una inhibición por acumulación de AGV. Por ende, el rendimiento de producción de biogás se ve disminuido. Por lo cual, se implementaron tres alternativas con el fin de impedir una potencial acidificación y asegurar la estabilidad del proceso: uso de un reactor tubular, implementación de la recirculación del efluente y de la co-digestión anaerobia (CODA) del LS con estiércol bovino fresco (EBF). Se evaluó el impacto de la CODA, estableciendo un proceso de DA y uno de CODA en las mismas condiciones. Durante la experimentación, se monitoreó la estabilidad con la capacidad buffer, la acidez y la degradación de la materia orgánica del sistema. Además, se midió la producción de biogás. El aporte de un co-sustrato permitió evitar la acumulación de AGV, inhibición que la DA no pudo superar. Para la CODA de una mezcla de 65% de LS con 35% de EBF, demostró una estabilidad del proceso con una carga orgánica de 2 gSV/L día. Se obtuvo una degradación de la materia orgánica de 81%, alcanzando una producción de biogás de 0,409 m³biogás/kg SV.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ingenierías Físico-Químicas. Escuela de Ingeniería Química. Director Humberto Escalante Ing. Químico Ph.D. Codirectora Liliana del Pilar Castro Molano Ing. Química Ph.D

Abstract

Title: Anaerobic digestion of cheese whey in a tubular reactor at ambient temperature*

Autor: Anne Marie Besson Veronique**

Keywords: Anaerobic Digestion, Tubular Reactor, Cheese Whey, Recirculation

Content:

Cheese Whey (CW) is the main subproduct from the dairy industry. In this study, it was investigated the implementation of the anaerobic digestion (AD) process as a technology to treat CW by generating a new energy source, by biogas production. CW has an important capacity to decline rapidly which provoke a high volatile fatty acids (VFA) production and make the AD sensitive to inhibition by VFA accumulation. Thus, the biogas production yield is reduced. Therefore, three alternatives were employed in order to avoid a potential acidification and ensure the process stability: tubular reactor use, implementation of the effluent recirculation and of the anaerobic co-digestion (ACOD) process of CW with fresh dairy manure (FDM). The impact of the ACOD was evaluated by executing both processes: AD and ACOD in same conditions. During the experimentation, the process stability was monitored analyzing the buffer capacity; acidity and organic matter degradation were examined too. Also, the biogas production was measured. The co-substrate contribution allows avoiding the VFA accumulation, inhibition that the AD system was not able to overcome. For the ACOD, a mix of 65% of CW and 35% of FDW demonstrated the system stability with an organic loading road (OLR) of 2 g VS/L day. An organic matter degradation of 81% was reached, with a biogas production of 0,409 m³biogas/kg VS.

* Thesis for "Master

** Faculty of Physic-chemical Engineering. School of Chemical Engineering. Director Humberto Escalante Chemical Engineer Ph.D. Co-director Liliana Del Pilar Castro Molano Chemical Engineer Ph.D

Introducción

La industria láctea en Colombia representa el 0,9% del Producto Interno Bruto (PIB) del país. Esta cadena productiva permite el empleo de 580.000 personas en la producción de la leche y de 17.750 en los productos derivados de la leche (mantequilla, queso, crema, etc.), representando el 3,18% del empleo nacional. Con más de 6500 millones de litros de leche producidos por año, Colombia es el cuarto país productor de leche de América Latina (FEDEGAN, 2015). En la tabla 1, se presenta la participación de cada producto derivado de la industria láctea. Las estadísticas indican que el queso ocupa un 10% de participación en los productos de la cadena láctea; lo que equivale a 650 millones de toneladas de leche por año usadas para fabricar queso.

Tabla 1.

Productos de la industria láctea

Eslabón	Participación (%)
Leche azucarada, helados y postres	11,9
Leche descremada y mantequilla	3,2
Leche en polvo	18,6
Leche pasteurizada	41,1
Leches ácidas y fermentadas	15,5
Queso	9,8
Total Cadena	100,0

Nota. Adaptado de: (DCP, 2009-2011)

Los procesos de fabricación de queso se llevan a cabo en diferentes etapas. El proceso puede cambiar según la maduración, la leche empleada, la adición de fermentativos. Sin embargo, de una manera global, el proceso de producción de queso fresco, se describe en cinco etapas (Figura 1): 1) coagulación, consiste en la separación entre la cuajada y el lactosuero 2) corta de la cuajada, en esta etapa permite separar toda la parte del líquido de la cuajada y recuperar solo los granos de la cuajada 3) agitación y cocción, el objetivo de esta fase es de facilitar la expulsión del suero de los granos 4) molienda y 5) salazón, que tiene por objeto mejorar el sabor, seleccionar la flora microbiana, regular la humedad, ayudar a la formación de corteza y permitir una mejor conservación del producto.. Después de la tercera etapa se separan dos productos: la cuajada y el lactosuero. La cuajada es la base del queso mientras que el lactosuero es un compuesto que no sigue en el proceso de fabricación del queso (Guinee, 2011).

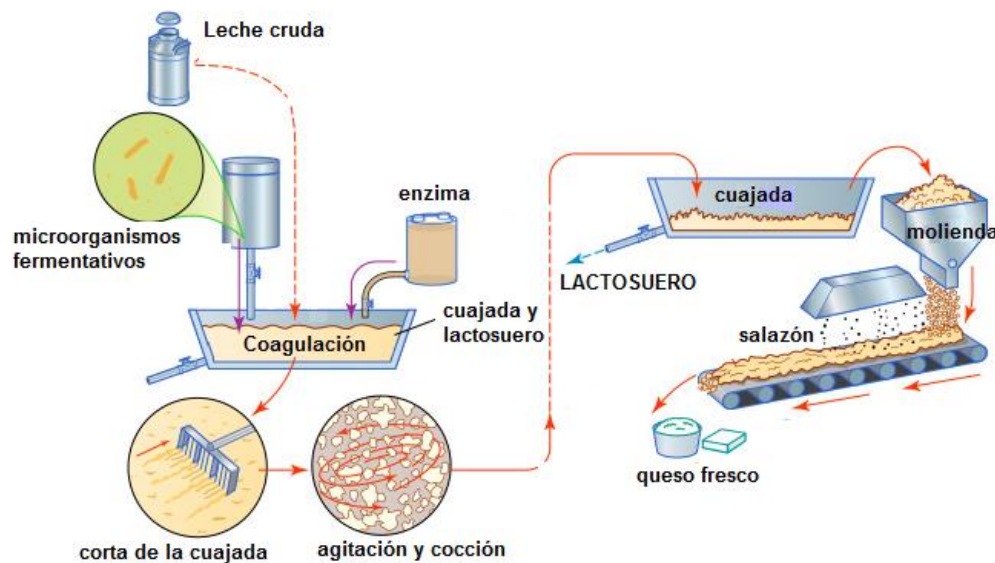


Figura 1. Proceso de elaboración del queso fresco

Nota. adaptado de ©Encyclopædia Britannica, Inc)

El LS es el subproducto principal de la cadena láctea y representa aproximadamente el 85-95% del volumen de leche empleada. El LS contiene 55% del total de nutrientes de la leche como lactosa, proteínas solubles, lípidos y sales minerales (Huertas, 2009) (Brandelli, Daroit, & Correa, 2015). Para producir un kilogramo de queso, se necesitan diez litros de leche, y se obtienen aproximadamente nueve litros de LS (PROEXPORT, 2013).

Dependiendo del proceso empleado, se distinguen dos coagulaciones, de las cuales se derivan dos sueros diferentes. Uno de ellos, proviene de un proceso que se realiza por vía enzimática, lo que significa que una enzima se agrega a la mezcla para mejorar la separación, la *quimosina* y la *pepsina* son las enzimas más usadas. En este caso, se recupera suero dulce cuyo pH está comprendido entre 6 y 7. El otro proceso consiste en una fermentación que, en ciertas ocasiones, se lleva a cabo mediante la adición de ácidos minerales u orgánicos, al fin de precipitar la caseína y por la cual se genera un suero ácido (pH<5) (Prazeres, Carvalho, & Rivas, 2012).

En la tabla 2, se presentan las caracterizaciones de los dos tipos de lactosueros. Estos valores pueden cambiar dependiendo de la leche empleada y del proceso de elaboración del queso.

Tabla 2.

Caracterización fisicoquímica de lactosueros

	Lactosueros dulces (g/kg de lactosuero)	Lactosueros ácidos (g/kg de lactosuero)
Materia seca	55-75	55-65
Lactosa	40 – 50	40-50
Grasa bruta	0-5	0-5
Proteína bruta	9-14	7-12
Cenizas	4-6	66-8
Calcio	0,4-0,6	1,2-1,4
Fosforo	0,4-0,7	0,5-0,8
Fosfato (g/L)	1,0-3,0	2,0-4,5
Potasio	1,4-1,6	1,4-1,6

	Lactosueros dulces (g/kg de lactosuero)	Lactosueros ácidos (g/kg de lactosuero)
Cloruros	2,0-2,2	2,0-2,2
Ácido láctico	0-0,3	7-8
pH	>6,0	<5

Nota. Tomado de: (Hernández, 2012)

El lactosuero tiene altas concentraciones de lactosa y proteína, por lo cual tradicionalmente se usa para la alimentación animal, en particular, para los cerdos. Sin embargo, las grandes industrias empezaron a ver el LS no como un residuo, sino como una fuente para otros productos lácteos. Por lo cual, hubo un aumento en la producción de productos con alto contenido en proteínas: polvo de lactosuero, proteínas de lactosuero, y el destacado mercado de la lactosa y de sus derivados, en el cual el 45% del LS está tratado (Aspasia, Chatzipaschai, G, & Stamatis, 2012).

El LS contiene una alta concentración de materia orgánica (MO), en términos de demanda química en oxígeno (DQO): 50-70kg DQO/ m³ (Demirel, Yenigun, & Onay, 2005). Estos valores reflejan que se requiere un tratamiento de disposición final para el lactosuero (Rico, Muñoz, Fernández, & Rico, 2015).

Otras empresas emplean procesos físico-químicos de tratamiento con los que se consigue eliminar componentes, tales como fósforo, nitrógeno, minerales y metales pesados: electrocoagulación química (Tezcan, Kandemir, Erginel, & Ocal, 2014), floculación y sedimentación seguida de filtración (Herrera, 2005), carbono activado, separación con membranas (Sluková, et al., 2016), combinación de digestión anaerobia y aerobia (J, Breton, Bruneau, Moetta, & Guiot, 2009). Sin embargo, todos estos procesos implementan costos considerables, tanto para los equipos, como para la alta demanda energética que necesitan (Kavacik, Topaloglu, & B, 2010). De acuerdo a lo anterior, para las pequeñas empresas (las cuales representan el 88% de la industria

del queso en Colombia (Fransico José Mojica, 2011)), el LS sigue siendo un residuo con problemas de disposición final.

En la Figura 1, se observan diferentes alternativas donde se considera al LS como un potencial sustrato para procesos biológicos. Entre ellos se destaca la digestión anaerobia.

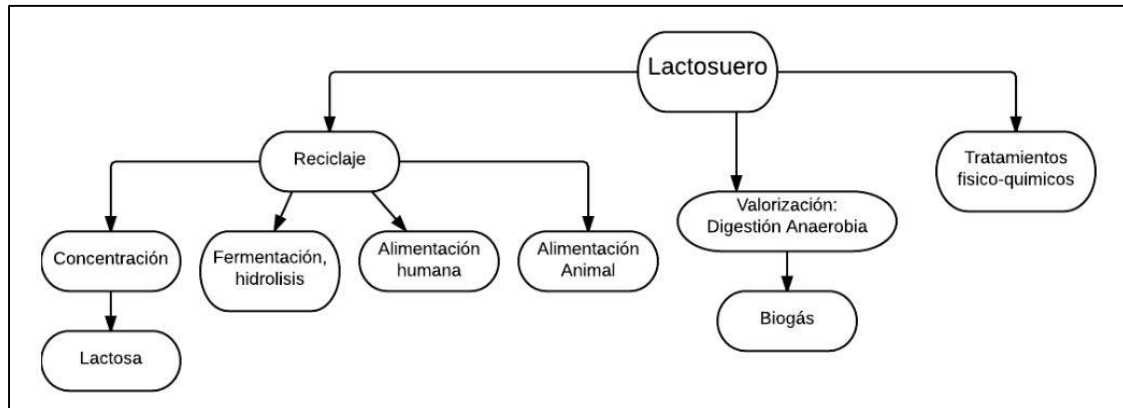


Figura 2. Alternativas para aprovechamiento del LS

Nota. Tomado de: (Cáceres, 2012)

La digestión anaerobia (DA) es un proceso biológico, elaborado en ausencia total de oxígeno. El proceso se realiza en cuatro etapas a) Hidrólisis, b) acidogénesis, c) acetogénesis, y d) Metanogénesis (I, Karakashev, Batsone, Plugge, & Stams, 2011) en las cuales actúan diferentes poblaciones de bacterias. De este proceso, se recupera una producción de biogás (Mao, Feng, Wang, & Ren, 2015) con un alto contenido de metano, y un digerido rico en minerales (potasio, nitrógeno, fosforo), tal que se puede usar como bio-fertilizante (Albuquerque, de la Fuente, & M, 2012). La DA es una alternativa prometedora para estabilizar la materia orgánica del lactosuero, y como oportunidad de valorización de este residuo (Comino, Riggio, & Russo, Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey, 2012). La DA es un proceso viable para el LS según los estudios económicos (Spachos & Stamatis, 2011).

La DA presenta diferentes ventajas considerables con respecto a los otros tratamientos mencionados: bajo requerimientos de nutrientes, bajo costo de operación, requerimientos operacionales y de diseño sencillos y económicos, soportan altas concentraciones de materia orgánica, los microorganismos se autoinmovilizan en forma natural, formando agregado granulares o biopelículas (Herrera, 2005).

La literatura reporta diferentes estudios realizados utilizando con el lactosuero como sustrato en procesos de digestión anaerobia. En la tabla 3, se presentan los resultados obtenidos por los distintos autores trabajando con diferentes reactores. El tipo de reactor utilizado permite evidenciar diferencias en el rendimiento de biogás.

Tabla 3.

Estado del arte de la DA del LS

Reactor	Carga Orgánica (kg DQO/m³ d)	Rendimiento de biogás (m³ CH₄/kg COD)	Conversión de la MO (%)	Referencia
ASBR	1,5	0,314	87	(Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015)
CSTR	0,6-2,1	0,110	78-90	(Lebrato, Pérez Rodríguez, Maqueda, & Morillo, 1990)
CSTR	1	0,350	94,6	(Yang, Yu, & Hwang, 2003)
CSTR	9	0,095-0,151	-	(Rugele, Mezule, Larsson, Vanags, & Rubulis, 2013)
UASB	4,5-38,1	0,0096	98	(Yan, Lo, & Liao, 1990)

Estudios demuestran limitaciones para la DA del lactosuero, asociadas a inhibiciones por ácidos grasos volátiles (AGV). Los AGV son productos de la biodegradación de la materia orgánica por la acción de bacterias. Estos AGV deben ser consumidos por arqueas metanogénicas. Sin embargo, el crecimiento de estas arqueas puede ser limitado por una acumulación de AGV. Esta acumulación puede provocar una inhibición del proceso, por lo cual, una disminución importante en la producción de biogás. Esta inhibición es debida a la falta de alcalinidad que presenta el LS y que no permite la consumación de estos ácidos.

De acuerdo con lo anterior, se requieren alternativas para sobrepasar una potencial acidificación del medio. Con el fin de omitir las carencias de alcalinidad total (AT), se ha planteado como alternativa la posibilidad de tratar no uno sino dos o más substratos favoreciendo el equilibrio de macronutrientes, micronutrientes y humedad del medio es decir la implementación de la co-digestión anaerobia (CODA). Esta opción permite disminuir los problemas de acidificación del medio por adición de otro componente. Entonces, se busca una mezcla homogénea cuyo contenido en AT y ácidos grasos volátiles (AGV) sería más favorable a la DA. Una composición balanceada en la mezcla genera un medio con todos los nutrientes y elementos trazos que los microorganismos metanogénicos necesitan para alcanzar altas tasas de crecimiento y utilización de sustrato. La CODA da la oportunidad de mantener un pH estable del medio de bio reacción (Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015).

Para favorecer las co-existencias de las poblaciones bacterianas, se presenta el uso de la recirculación como una opción para implementar un mejor equilibrio entre las diferentes comunidades de bacterias, aumentando la producción de biogás (Zamanzadeh, Hagen, Svensson, & Linjordet, 2016).

El diseño del reactor tiene una influencia sobre el comportamiento y la estabilidad del proceso de DA. La mayoría de los estudios se han realizados en reactores CSTR o UASB que presentan los dos diferentes métodos de funcionamiento. El CSTR permite una homogeneización total del medio de DA que tratando del LS acelera la acidificación del medio (Chen, Cheng, & Creamer, 2008). El reactor UASB implementa un flujo ascendente que causa una sedimentación en el fondo del reactor que impide el contacto inóculo/sustrato (Demirel, Yenigun, & Onay, 2005). Por último, el reactor a flujo pistón (PFR) se revela como un equipo favorable a la DA porque permite una distribución de los microorganismos a lo largo del tubo, implementado por el movimiento del flujo (Namsree, et al., 2012). Estas tres alternativas se presentan como soluciones al establecimiento de un proceso de DA del LS evitando la acidificación del medio. De acuerdo con lo anterior, el objetivo de este estudio fue de desarrollar un proceso de digestión anaerobia del lactosuero en un reactor tubular a temperatura ambiente, analizando el comportamiento y la estabilidad del proceso, mediante el uso de la recirculación y del estiércol bovino fresco como co-sustrato. Se quiso a lo largo del estudio comprobar la eficiencia del reactor por este proceso.

Este libro se presenta en tres partes principales. En el primer capítulo, se describen los fundamentos teóricos de la digestión anaerobia del lactosuero, tratando de los diferentes parámetros que existen alrededor de este proceso. Segundo, se detallan las diferentes etapas metodológicas realizadas en este estudio. Por último, se analizan y discuten los resultados obtenidos.

1. Digestión anaerobia del lactosuero

El proceso de digestión anaerobia (DA), llamado también proceso de metanización, consiste en la degradación de la materia orgánica (referida en términos de DQO y SV) mediante la acción de consorcios microbianos que actúan para la producción de un biogás (compuesto principalmente por metano), como fuente de energía térmica o eléctrica y un lodo efluente denominado digerido, con alto contenido en minerales (nitrógeno, fósforo y potasio) que permite utilizarse como biofertilizante (Alburquerque, de la Fuente, & M, 2012).

El lactosuero tiene una carga orgánica de 50-70kg DQO/ m³ (Demirel, Yenigun, & Onay, 2005), lo cual lo hace un sustrato atractivo para la digestión anaerobia. Sin embargo, la alta concentración de materia orgánica soluble fácilmente biodegradable (ácidos grasos volátiles) y pH ácido presente en el lactosuero, limitan la producción de biogás. (Kavacik, Topaloglu, & B, 2010).

En este capítulo se presentan los fundamentos teóricos relacionados con las variables que influyen en el proceso anaerobio del lactosuero y se discuten teóricamente tres estrategias de solución: el uso de un co-sustrato, la recirculación del efluente y el uso de un reactor tubular, como posibles soluciones al problema de acidificación del proceso.

1.1 Principio de la DA

La DA es un proceso biológico que se distribuye en diferentes etapas, en las cuales actúan diferentes poblaciones de bacterias. La DA es un proceso que permite transformar la materia

orgánica, produciendo un biogás principalmente compuesto de metano (48-65%) y de dióxido de carbono (36-41%) (Ward, Hobbs, Holliman, & Jones, 2008). La condición fundamental de este proceso es que se realiza en ausencia total de oxígeno. De acuerdo a lo anterior, se puede afirmar que la DA es un proceso de triple acción que permite considerar los residuos como una fuente importante de dos recursos renovables (producción de biogás y recuperación de un bio fertilizante), reduciendo considerablemente el problema de la contaminación del medio ambiente (Abbasi, Tauseed, & Abbasi, 2012).

En los años 1950, se descubrió en Europa esta tecnología pero siempre ha sido abandonado en provecho de energías fósiles. Sin embargo, Alemania fue uno de los pocos países que continuaron con el desarrollo de este proceso, entendiendo la rentabilidad y sostenibilidad del proceso y que hoy, en día tiene tecnologías avanzadas en este campo de la investigación (Métha'Concept, 2014). Actualmente, con el ánimo de encontrar tecnologías más limpias, diferentes países (Francia, China, Estados Unidos) está volviendo a tratar de este proceso anaerobio como una solución viable para diferentes fuentes de residuos: industrias alimentarias, explotaciones agrícolas, aguas residuales de plantas (Couturier, 2010). La energía recogida se usa generalmente para la demanda energética de las estructuras (calentamiento de los edificios, energía para el funcionamiento de equipos), o vendida a los servicios públicos nacionales de venta de electricidad (Couturier, 2010).

1.1.1 Etapas de la transformación: cinética microbiana Desde el punto de vista bioquímico, la DA se descompone en cuatro etapas principales: a) Hidrólisis, b) acidogénesis, c) acetogénesis, y d) Metanogénesis (Association Anaerobic Digestion and Bioresources, 2016) (Figura 3)

- **Hidrolisis**, etapa en la cual se transforman las macromoléculas en monómeros. El sustrato inicial tiene una alta concentración en moléculas complejas (proteínas, carbohidratos, lípidos)

que son hidrolizadas mediante reacciones de despolimerización a sustratos más simples: aminoácidos, ácidos grasos de cadena larga, azúcares. En el caso del lactosuero, se trata de la degradación de la lactosa.

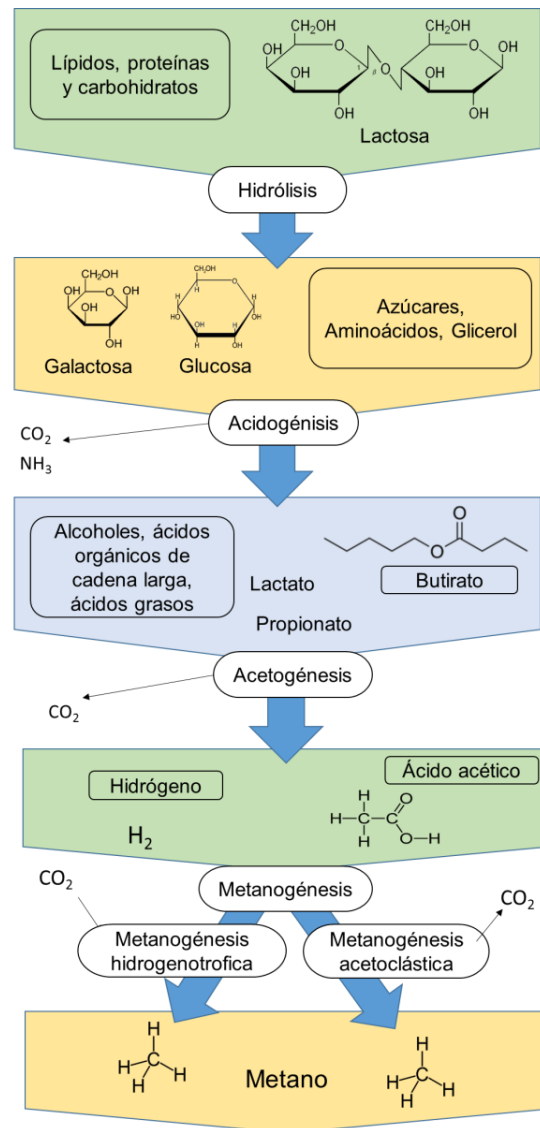


Figura 3. Etapas del proceso de digestión anaerobia del lactosuero

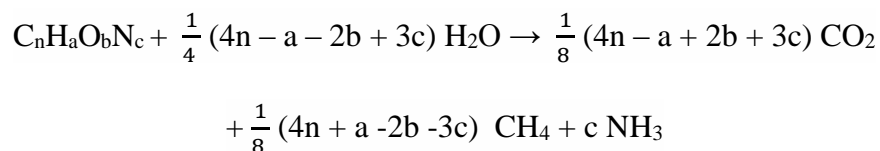
Nota. Adaptado de: Angelidaki, 2011

Esta transformación está realizada por la acción de bacterias aerobias y anaerobias, contenidas en el inóculo, las cuales liberan enzimas que catalizan la reacción. Aunque el desarrollo de estas bacterias anaerobias es muy rápido, esta etapa de la DA tiene una velocidad de reacción muy baja.

- **Ácidogénesis**, esta etapa permite la transformación de los productos anteriores en ácidos grasos volátiles (AGV): ácidos orgánicos, residuos de dióxido de carbono y de hidrógeno y alcoholes: metanol y etanol. Es una fermentación conducida por bacterias ácidogénicas, cuyo ritmo de crecimiento es muy elevado y provoca una velocidad muy alta de crecimiento. Particularmente, el lactosuero como sustrato, tiene un contenido muy alto en lactosa (80% de la materia seca (Heldal Hagen, 2014)). Este compuesto se puede considerar de fácil biodegradación (Heldal Hagen, 2014), lo que significa que las etapas de hidrólisis y ácidogénesis se realizan simultáneamente, por lo cual se puede afirmar que en la degradación del lactosuero se describe en la fase de ácidogénesis (la fase de hidrólisis casi no se necesita) (Fernández, Biogas and hydrogen production from cheese whey, 2014). Por lo anterior, se produce una alta concentración de AGV, principalmente butirato, seguido de acetato y propionato (Kaan-Dereli, 2015).
- **Acetogénesis**, en esta etapa se produce en su mayoría acetato. También se obtienen los siguientes gases: hidrógeno, dióxido de carbono y ácido acético. Esta etapa está combinada con la **homoacetogénesis**, que genera ácido acético a partir de los gases producidos. Para realizar estas etapas, se utilizan dos grandes familias de bacterias: las bacterias “*acetogénicas syntrophicas*”: productoras de hidrógeno, y bacterias “*homoacetogénicas*”: de las cuales unas transforman el sustrato en acetato, y las otras transforman los gases en acetato. La velocidad de la acetogénesis es relativamente lenta, y puede ser inhibida por una concentración alta de hidrógeno.

- **Metanogénesis**, que permite obtener el biogás y que contiene principalmente, metano, dióxido de carbono y agua. Esta etapa es ejecutada por la acción de arqueas metanogénicas. El crecimiento de las arqueas con respecto al de las bacterias hidrolíticas y fermentativas es lento. De acuerdo con lo anterior, en la mayoría de los casos, ésta es la etapa limitante del proceso (I, Karakashev, Batsone, Plugge, & Stams, 2011).

1.1.2 Producción teórica de metano La cantidad de biogás producida durante la degradación anaerobia puede ser expresada partiendo de la composición elemental de la materia orgánica tratada. El modelo más usado es la ecuación de Buswell (ecuación 1), que expresa el contenido del biogás a partir de la composición en carbono, hidrógeno y oxígeno del sustrato.



(Ecuación 1)

Este modelo ofrece la ventaja de tener una producción teórica de biogás. En la realidad nunca se alcanzan estos resultados. Esto se justifica porque realmente no toda la materia orgánica se transforma en biogás porque, por ejemplo, una parte del sustrato es utilizado para el crecimiento microbiano (Bollon, 2012).

1.2 Parámetros de la digestión anaerobia

En esta sección, se presentan los diferentes factores que influyen en el proceso de metanización. Se presenten diferentes grupos de parámetros: unos que son generales para la DA, y otros que se necesitan para implementar este proceso en continuo.

1.2.1 Sustrato Con el fin de tener un crecimiento favorable de los microorganismos necesarios para la DA, se requiere una composición nutricional particular. Una falta de nutrientes puede causar una incompleta e inestable bioconversión de la materia orgánica hasta inhibir el proceso (Kayhanian & Rich, 1995). Se considera que para un buen arranque de la DA, la relación C/N/P tiene que ser alrededor de 700-1000/5/1. La relación C/N está considerada como óptima en el rango entre 20 y 30. Así, se asegura un equilibrio en el aporte de nutrientes (Rizwan Haider, Zeshan, Naseem, & Visvanathan, 2015). El sustrato empleado en este estudio fue el lactosuero.

1.2.2 Inóculo n las cuatro etapas de la DA interviene diferentes microorganismos, razón por la cual el inóculo utilizado en este proceso es un consorcio microbiano. Se utilizan como fuente de inóculo los lodos de plantas de tratamiento de agua residual provenientes de reactores tipo UASB, estiércoles porcinos y bovinos (Córdoba, 2016). Como métodos de control de la actividad bacteriana del inóculo, se pueden evaluar las actividades hidrolítica (AH) y metanogénica (AM) del consorcio microbiano, para asegurar su capacidad para permitir la biodegradación del sustrato estudiado y garantizar el buen funcionamiento del reactor. La AH representa la capacidad de la microbiota del inóculo para hidrolizar un polímero en las condiciones del laboratorio. Depende de la presencia de enzimas específicas para romper los enlaces poliméricos del sustrato (primera etapa de la DA). La AM se caracteriza como la capacidad de la biomasa microbiana y arqueas metanogénicas, para transformar el hidrógeno, acetato y propionato en metano (Diaz Báez, Espitia, & Moina, 2002).

Existen dos inóculos que se suelen usar para implementar el proceso de DA del LS. Estudios usando como inóculo el estiércol bovino aclimatado (EBA). Éste es un inóculo por lo cual se deja una cantidad de estiércol bovino fresco (EBF) en un reactor con una agitación y a una temperatura

de $37^{\circ}\text{C}\pm 1$ para que degrade la materia orgánica, y que favorece el crecimiento de los microorganismos que se requieren del inóculo (Comino, Riggio, & Russo, Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey, 2012). Otros autores usaron los lodos de plantas como aporte de microorganismos (Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015). Se realizó un estudio comparativo de los dos inóculos por la DA del LS: lodos de plantas de tratamientos de aguas residuales y estiércol bovino aclimatado. Se demostró que el EBA reportaba una mayor producción de metano considerable (Lozano Verjel, 2014).

1.2.3 Temperatura La temperatura siempre ha sido un parámetro muy importante en los procesos biológicos. En efecto, las poblaciones de bacterias no se desarrollan de la misma manera a diferentes temperaturas. La temperatura influye sobre el crecimiento de las bacterias y que por tanto, la velocidad del crecimiento está relacionada con la velocidad de degradación del sustrato.

Generalmente, se diferencian dos rangos de temperatura:

- **Mesofílico:** este proceso es el más empleado porque se realiza entre 35 y 40 grados Celsius, con objetivo de acercarse a la temperatura óptima de 37°C , en la cual las bacterias están en las mejores condiciones para crecer y desarrollarse. Esta temperatura es muy usada dado que se considera como un régimen estable (Mao, Feng, Wang, & Ren, 2015).
- **Termofílico:** las bacterias empleadas necesitan condiciones de adaptación más difíciles que implementar. Se trata de una DA entre 45 y 65°C . Tiene ventajas considerables: disminución del tiempo de retención, facilidad de degradación de las cadenas largas y menor viscosidad del medio. Sin embargo, son procesos que requieren una demanda energética para mantener esta temperatura dentro del reactor, por lo cual, más del 35% del calor producida por el proceso debe ser reutilizada en la calefacción permanente (Boulenger & Galloui, 2009).

Sin embargo, estos dos rangos de temperaturas implementan una demanda energética importante. Es decir que el medio tiene que estar siempre a la misma temperatura, por lo cual se necesita un aporte de calor de una fuente exterior. A escala laboratorio, se usa generalmente un baño de agua. También se puede realizar a otras temperaturas, en las cuales las bacterias no estarían en condiciones óptimas. Se puede comprobar la actividad de las bacterias en condiciones de temperatura ambiente, con el fin de disminuir los costos de implementación y de mantenimiento del proceso.

1.2.4 pH – Alcalinidad El pH tiene un papel muy importante en el funcionamiento bioquímico y físico-químico de la DA, ya que sus variaciones impactan sobre la actividad de los microorganismos y también sobre los equilibrios químicos. El pH siempre ha sido un parámetro primordial que es muy difícil de controlar, debido a la complejidad de los múltiples fenómenos y especies químicas implantadas en el proceso. No obstante, se trata de controlarlo teniendo en cuenta solo las especies mayoritarias: AGV, iones amonio y los bicarbonatos. Cada una de estas especies, tiene un papel de tampón en sus rangos de pH respectivos. Los AGV predominan en los bajos valores de pH, los iones amonio en los altos y en el bicarbonato en los valores neutros (Bollon, 2012). Además, este parámetro influye sobre la bioquímica. Cada microorganismo tiene su intervalo óptimo de pH en el cual su crecimiento es ideal. Generalmente, estos intervalos se encuentran alrededor de la neutralidad. Cada grupo responde de forma diferente a cambios de pH. Las bacterias hidrolíticas y ácidogénicas no resultan muy afectadas por variaciones de pH. Mientras que las bacterias acetogénicas y metanogénicas no pueden soportar importantes cambios (Nielsen, 2007). Sin embargo, se ha reportado que existe un intervalo óptimo general de pH para obtener un rendimiento favorable de producción de biogás en la DA. Los valores de pH se deben

encontrar entre 6,5 y 8. La desestabilización del proceso se indica con valores de pH inferiores a 4 o superiores a 9,5 (Poh & Chong, 2009).

1.2.5 Inhibiciones Tratando de la inhibición del proceso de DA, los compuestos que más influyen el proceso son: los ácidos grasos de cadena larga, el amonio libre y el sulfuro de hidrogeno. La concentración de amoniaco libre depende principalmente de tres parámetros (concentración de amoniaco total, temperatura y pH). Aumentando la temperatura y el pH, la concentración en amonio libre aumenta también, y por lo tanto arriesga la inhibición del proceso (Wu, et al., 2016). La interacción entre el amoniaco libre, los AGV y el pH puede conducir a un “estado estacionario inhibido”, es decir que el proceso se mantiene estable pero la producción de metano es muy débil (Angelidaki & Ahring, 1993)

Durante el proceso de DA, los AGV determinan el pH que como ya se ha mencionado, es uno de los parámetros que más afecta el proceso. La potencial inhibición por los AGV sobre la actividad de las arqueas metanogénicas es debido a un cambio brusco de pH en el reactor (Wang, Zang, Li, & Liu, 2016). Se ha estudiado el aumento de las cargas orgánicas sobre la acumulación de AGV en el medio de reacción. Se ha concluido que la producción de biogás empezaba a disminuir, con el aumento de la concentración en AGV. Se demostró que la concentración inicial de inhibición se encontraba entre 1500 et 2500 mg/L y que el proceso estaba totalmente inhibido por concentraciones mayores a 5500mg/L (Xu, et al., 2014). En este estudio, se trató únicamente de la inhibición por acumulación de los AGV que suele pasar con un sustrato ácido.

En efecto, el LS tiene una alta concentración en ácidos grasos volátiles (AGV). Así pues, dado a su pH muy bajo y su concentración acida, el LS se transforma en un sustrato difícil de

implementar en este proceso (Malaspina, Cellmare, Stante, Tilche, & A, 1996) (Comino, Riggio, & Russo, Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey, 2012).

Esta complejidad se explica tratando de los microorganismos que realizan las reacciones del proceso de DA. Para entender mejor las actividades de las bacterias, los microorganismos que actúan en el proceso de la DA se pueden agrupar en dos partes principales. Primero, se tratan de los productores de AGV (bacterias de la hidrólisis y acetogénesis) y los consumidores de AGV (bacterias acetogénicas y arqueas metanogénicas) (Liu & Ghosh, 1997).

La lactosa es uno de los principales compuestos del LS (80% de la materia seca del sustrato) y es fácilmente biodegradable (Heldal Hagen, 2014). La degradación de la lactosa provoca una rápida y alta producción en AGV gracias a las bacterias acidogénicas. Entonces, el medio necesita una actividad muy efectiva de las arqueas metanogénicas para alcanzar a transformar estos ácidos. Sin embargo, la baja velocidad de crecimiento y la sensibilidad que tienen las arqueas metanogénicas con compuestos tóxicos con respecto a la velocidad y a la resistencia de las bacterias acidogénicas convierte el medio en una compleja coexistencia microbiana (Kaan-Dereli, 2015). Por ejemplo, un aumento de la carga orgánica del sistema puede acelerar el proceso de la acidificación, las arqueas pueden encontrar problemas para consumir todo el hidrógeno producido, lo que genera una acumulación de los AGV, y puede provocar una acidificación del medio (Heldal Hagen, 2014). Un compuesto se puede considerar como inhibidor cuando causa la inhibición del crecimiento de microorganismos, o afecta la actividad microbiana (Palatsi, 2011). De acuerdo con lo anterior, se puede confirmar que los AGV tienen el papel de inhibidores por este proceso. Además, el LS tiene una alcalinidad muy baja, lo que reduce la capacidad buffer ante una disminución de pH (Venetsaneas, Antonopoulou, Kornaros, Lyberatos, & G, 2009). Por lo anterior, la estabilidad del proceso y el rendimiento de la digestión anaerobia del lactosuero pueden

ser limitados (Aspasia, Chatzipaschali, & Anastassios, *Biotechnological Utilization with a focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects*, 2012).

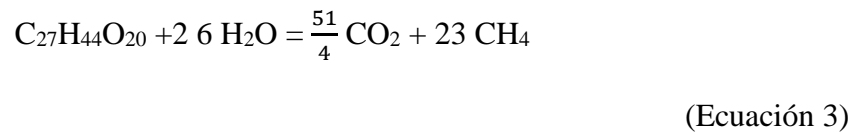
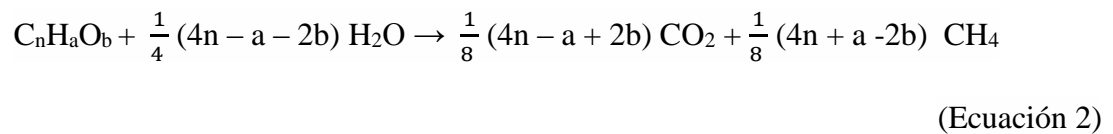
1.3 Parámetros de operación de proceso batch

1.3.1 Relación Inóculo/Sustrato La relación Inóculo/Sustrato (RIS) expresa el contenido en SV del inóculo por la concentración de sólidos volátiles adicionados por el sustrato (gSV del inóculo/gSV del sustrato). Este parámetro es fundamental en el proceso de la DA, y en la determinación del potencial de biometanización para cualquier residuo (Rizwan Haider, Zeshan, Naseem, & Visvanathan, 2015). Diferentes estudios se realizaron estudiando esta relación, con co-digestión de residuos de comida y cascarillas de arroz (Rizwan Haider, Zeshan, Naseem, & Visvanathan, 2015), aguas residuales de frigorífico (Kalloum, Salem, Kouki, & Mokaddem, 2014) y digestión de LS (Lozano Verjel, 2014). Se demostró que disminuyendo esta relación es directamente proporcional a la producción de biogás. Lo anterior indica que altas concentraciones de sustrato reducen la producción de biogás. Los mejores rendimientos de biogás y de degradación de la materia orgánica se encontraron con una RIS mayor a 1. Además, presentan un punto límite del proceso de DA por acumulación de AGV con una RIS inferior a 1 (Rizwan Haider, Zeshan, Naseem, & Visvanathan, 2015).

1.3.2 Potencial de Biometanización (PBM) El PBM es un proceso que permite evaluar la viabilidad de la DA para determinado sustrato. El PBM se define como la cantidad de metano que se podría producir a partir de la materia orgánica disponible en la fuente (I, et al., 2009). El PBM permite obtener un volumen de metano potencialmente producido a partir de la cantidad de materia

orgánica tratada (en términos de gramos de SV) en condiciones estándares de presión y temperatura. El PBM se expresa en $\text{m}^3 \text{CH}_4/\text{gSV}$ (I, et al., 2009).

Se puede calcular en PBM teórico que El rendimiento teórico de producción de metano ($\text{PBM}_{\text{teó}}$) se calculó usando una aproximación teórica basada en la fórmula de Buswell (Ecuación 2) y supone la degradación total de los componentes orgánicos fermentables. En la ecuación 3, se presenta la aquella aproximación definida para el LS. El PBM teórico obtenido se expresa como en la ecuación 4 (Busweel & Neave, 1930):



$$\text{PBM}_{\text{teó}} = \frac{\frac{n}{2} + \frac{a}{8} + \frac{a}{4}}{12n + a + 16b} \times 22,4 \text{ (m}^3\text{CH}_4/\text{kg SV)}$$

(Ecuación 4)

Este cálculo permite comprobar la capacidad de producción de metano que tiene un sustrato, gracias a la DA.

1.4 Parámetros de operación de proceso en continuo

Las distintas investigaciones realizadas de DA, se ha estudiado dos regímenes de proceso: el batch (reactor cerrado) y el continuo (reactor semiabierto o abierto). El continuo presenta ventajas muy interesantes que el régimen cerrado no tiene. En efecto, el continuo permite de tratar un volumen de carga más importante debido al flujo constante tratado. Como consecuencia de éste, el tiempo de retención en el reactor disminuye con respecto al batch. Por último, la velocidad de producción

del biogás aumenta gracias al flujo mantenido (El Achkar, et al., 2016). Trabajando con este régimen, se implementan los siguientes parámetros y configuraciones que se necesitan estudiar.

1.4.1 Carga orgánica La carga orgánica (OLR por sus siglas en inglés: *Organic Loading Rate*) representa la cantidad de materia orgánica alimentada en el digestor por día en condiciones de proceso en continuo. Suele expresarse en términos de kg SV/m³ día o kg DQO/m³ día. Se ha comprobado que aumentando la OLR, la producción de biogás también aumenta. Sin embargo, el equilibrio y la productividad del proceso de DA puede ser desestabilizado. Por consiguiente, agregando un gran volumen de materia orgánica diariamente puede cambiar el medio del digestor y potencialmente inhibir las actividades de algunas bacterias. Una alta carga orgánica causa un aumento de la actividad de las bacterias productoras de AGV que puede llegar a una acidificación del medio (Mao, Feng, Wang, & Ren, 2015).

Tratando de la DA del LS, se ha estudiado bajas cargas orgánicas debido al importante riesgo de acidificación del medio: cargas menores a 2kg SV/m³ día. Se reportan cargas orgánicas de 0,6 a 2,1 kg SV/m³ día (Lebrato, Pérez Rodríguez, Maqueda, & Morillo, 1990), 1,5 kg SV/m³ día (Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015) y 1 kg SV/m³ día (Yang, Yu, & Hwang, 2003) por reactores CSTR. Sin embargo, con un reactor UASB, se puede tratar de cargar mucho más altas debido al diseño del reactor (Rico, Muñoz, Fernández, & Rico, 2015).

1.4.2 Tiempo hidráulico de retención El tiempo de retención (HRT por sus siglas en inglés: *Hydraulic Retention Time*) es el tiempo que se requiere para cumplir la degradación total de la materia orgánica. Este parámetro depende de la temperatura del proceso, la OLR y sobre todo de la composición del sustrato. Se define como en la ecuación 5.

$$\text{HRT} = \frac{V}{Q} \quad (\text{Ecuación 5})$$

Donde V es el volumen del reactor (m³) y Q el caudal volumétrico de alimentación (m³/día).

En término medio, se necesitan 15-20 días para tratar residuos en condiciones mesofílicas. Aumentando la carga orgánica, se disminuye el tiempo hidráulico de retención, por lo tanto puede desestabilizar el medio, como se ha mencionado analizando el aumento de la OLR de 15-20 días (Mao, Feng, Wang, & Ren, 2015).

1.4.3 Agitación La agitación es un parámetro importante en la DA porque puede tener influencias determinantes en la performance del proceso. En efecto, si el medio tiene un mala agitación, por lo cual, una parte del medio queda estancada creando una sedimentación de la materia orgánica, un parte del biogás producido puede quedarse atrapada en el lodo. Igualmente, se puede disminuir el contacto entre el sustrato y los microorganismos causando una reducción de la producción de biogás (Tian, Zou, Yuan, Wang, & Zhang, 2015). Sin embargo, las fases de acidogénesis y metanogénesis no tienen las mismas condiciones así que una homogeneización total del medio puede provocar una acidificación más rápida del proceso (Namsree, et al., 2012).

1.4.4 Configuración de reactores

:

- **Reactor Abierto Perfectamente Agitado** (Por sus siglas en inglés CSTR: *Continuous Stirred Tank Reactor*)

Este reactor presenta la ventaja de obtener una homogenización perfecta y constante del medio. Sin embargo, la producción de biogás generalmente no está muy alta, en particular con sustratos

ácidos porque con la agitación, y teniendo en cuenta la velocidad de producción de los AGV, el medio tiene tendencia a acidificarse rápidamente y no permite a las arqueas metanogénicas de consumir estos AGV. La inhibición del proceso puede ocurrir pronto con este tipo de reactor (Chen, Cheng, & Creamer, 2008). Varios autores reportan investigaciones de la DA del lactosuero en este reactor que alcanzaron una estabilización del proceso, sin embargo, trabajan con cargas orgánicas bajas. Una baja carga causa un tiempo de retención más elevado, se realizó un estudio con una carga máxima de 2,48 kg SV/m³ día, que implicaba un HRT de 42 días, obteniendo un rendimiento de la producción de biogas de 0,666 m³biogas/kg VS (Comino, Riggio, & Russo, Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey, 2012).

- **Reactor a flujo ascendente con mando de lodos** (Por sus siglas en inglés UASB: *Upflow Anaerobic Sludge Blanket*)

Este reactor es un reactor con un único tanque. El flujo de materia orgánica entra por el fondo del reactor y circula de manera ascendente. Este flujo, ayudado por las burbujas de biogás producido, maneja la agitación del reactor (Letinga, Van Velsen, Hobma, de Zeeuw, & Klapwijk, 1980). Este reactor tiene como ventaja muy importante la disminución alta del tiempo de retención (menos de 5 días) y entonces, el tratamiento muy eficiente del residuo (Ergüder, Tezel, Güven, & Demirer, 2001). Tratando de la DA del LS, se pudo, por ejemplo, manejar HRT de 1,3 con una OLR de 28,7kgDQO/m³ día (Rico, Muñoz, Fernández, & Rico, 2015). Sin embargo, para mantener este flujo ascendente, obviamente se necesita una fuente de energía importante. Igualmente los equipos que asuran estos flujos presentan costos altos y con una tecnología reciente y un mantenimiento permanente. Además, el diseño del reactor puede generar una acumulación de los micro-organismos en la parte abaja del reactor y pues reducir el contacto inoculo/sustrato (Demirel, Yenigun, & Onay, 2005). Además, como desventajas de este reactor se han revelado los

siguientes: periodo largo de aclimatación de las bacterias, una pérdida de biomasa y una adición casi obligatoria de tampón para estabilizar el pH (Strydom, Mostert, & Britz, 1995) (Cohen, Thiele, & Zeikus, 1994).

- **Reactor a flujo pistón** (Por sus siglas en inglés PFR: *Plug Flow Reactor*)

Un reactor tubular no tiene agitación sino que está manejada por la circulación del flujo a lo largo del reactor. Por lo cual, se puede considerar que un reactor como éste, la difusión se hace poco a poco en el reactor. Este fenómeno permitiría una distribución efectiva de los microorganismos a lo largo del reactor, (Jabeen, Zeshan, Rizwan, & Malik, 2015). De acuerdo a lo anterior, este tipo de reactor permite obtener una separación de las fases en el reactor, lo que quiere decir que se evitaría la acidificación del medio mediante una fase acidia (pH bajo, concentración en AGV alta) en la primera parte, y una segunda fase de metanogénicas cuyo pH estaría más alto (Liu & Ghosh, 1997). Autores han trabajado con este tipo de reactor con diferentes tipos de sustratos: se degradó el 77% de la materia orgánica inicial con un sustrato bastante alcalino que son lodos municipales (Liu & Ghosh, 1997). Se reporta una menor conversión con la DA de residuos de piñas (60-65%) (Namsree, et al., 2012). Se estudió también la DA de un sustrato ácido, que son residuos de frutas pero usando un co-sustrato que fueron cascarillas de arroz. Este proceso alcanzó una degradación de 82% de los sólidos volátiles (Jabeen, Zeshan, Rizwan, & Malik, 2015).

Teniendo en cuenta lo discutido anteriormente, en este trabajo de investigación se presentan 3 alternativas: la primera desde el punto de vista bioquímico, operacional y microbiológico para mitigar el problema de acidificación del lactosuero en un proceso anaerobio.

1.5 Alternativas

1.5.1 Aspecto bioquímico: Co digestión anaerobia Tradicionalmente, la DA usa un sustrato. Sin embargo, se han realizados estudios con mezcla de sustratos. Este proceso se llama co-digestión anaerobia (CODA). El uso de uno o más co-sustrato(s) presenta varias ventajas aprovechables: una mejor digestión de la materia orgánica, un aumento de la producción de biogás y de la proporción de metano en el biogás debido a la adición de nutrientes. Además, permite el tratamiento de dos o más sustratos sin implementar nuevos costos de equipos o de mantenimiento (Ajeej, Thanikal, Narayanan, & Senthil Kumar, 2015).

Se ha estudiado la CODA con mezclas con favorables interacciones, es decir implementando mezcla cuyo contenido en macro y micro-nutrientes era equilibrado y/o mezcla en la cual los compuestos potencialmente inhibitorios eran diluidos. En este caso, se ha probado que la producción de biogás por la CODA de dos sustratos era mayor que la suma de la producción de biogás por dos sistemas de DA (con los mismos sustratos), eso se representa por $1+1 \leq 2$ (Mata-Alvarez, et al., 2014).

La CODA se presenta, como una mejora al tratamiento anaerobio de un sustrato que presenta carencias como un sustrato ácido permitiendo aportar la alcalinidad que hace falta al sustrato, y también, ayuda a una co-existencia favorable entre las comunidades bacterianas en el reactor (Zang, et al., 2016).

La CODA del lactosuero se ha estudiado con diferentes sustratos. En la tabla 4, se presentan los resultados de estos estudios. Se puede observar que la mayoría de las investigaciones se hicieron con Estiércol Bovino Fresco (EBF) que presenta una alta alcalinidad, que se traduce en capacidad buffer del proceso, permitiendo estabilidad del proceso (Kavacik, Topaloglu, & B,

2010). Además, el EBF y el LS son sustratos que puedan provenir de la misma estructura y ser tratados al tiempo en un mismo bio digestor. Los resultados muestran que las relaciones de mezcla volumétricas sustrato: co sustrato se encuentran en el rango de 50 y 70%

Tabla 4.

Estado del arte de la CODA del LS

Co-sustrato(s)	Proporción volumétrica (LS: co-sustrato)	Temperatura (°C)	Rendimiento de biogás (m ³ CH ₄ /kg SV)	Conversión de los SV (%)	Referencia
EBF	65:35	35	1,37	60	(Rico, Muñoz, & Rico, 2015)
EBF	65:35	35	-	88	(Rico, Muñoz, Fernández, & Rico, 2015)
EBF	60:40	37	0,258	83	(Bertin, Grilli, Spagni, & Fava, 2013)
EBF: Agua	1:2:1	34	-	50	(Kavacik, Topaloglu, & B, 2010)
Sorgo ensilado: EBF	55:40:5	37	0,326	66	(Dareioti, 2015)

Co-sustrato(s)	Proporción volumétrica (LS: co-sustrato)	Temperatura (°C)	Rendimiento de biogás (m ³ CH ₄ /kg SV)	Conversión de los SV (%)	Referencia
EBF	65:35	35	0,155	60	(Comino, Riggio, & Russo, 2012)
Gallinaza	50:50	37	-	-	(Gelenis, 2007)
Gallinaza	50:50	37	0,223 (m ³ biogás/kg SV)	58	(Carlini, Castelluci, & Moneti, 2015)
Residuos de verduras y frutas	50:50	37	-	16	(Gomez-Romero J., 2014)

1.5.2 Aspecto operacional: Reactor tubular Como se mencionó anteriormente, el tipo de configuración de un reactor tubular permite una notoria separación de las fases, ayudando la estabilización y el funcionamiento del proceso de DA., por lo tanto para este trabajo se seleccionó este tipo de configuración bajo la primicia de evitar la acumulación de los AGV. La literatura es limitada en cuanto a la digestión anaerobia del lactosuero en este tipo de reactor.

1.5.3 Aspecto microbiológico: Recirculación La recirculación del efluente es una manera de manejar y mejorar la microbiología de la DA (Nordber, 2007). Ésta permite una mejor estabilización del pH por adición de un medio de alcalinidad más alta (Wu, et al., 2016). Igualmente, este fenómeno admite posicionar los micro-organismos que han sido lavados por el

sistema. Eso quiere decir que se agrega poblaciones suplementarias al medio y ayuda la estabilización del medio, en consecuencia un mejor funcionamiento y rendimiento del proceso cuando se usa un sustrato ácido, como se ha estudiado con DA de residuos de piñas (Namsree, et al., 2012). Una recirculación del 40% del efluente provocó un aumento de 11% en la producción de biogás y de 33% en la producción específica de metano. Además, la degradación de la materia orgánica alcanzó un rendimiento de 80,9 mientras que sin la recirculación no superó el 60,4% de degradación de la DQO. En término de alcalinidad, se reportó una alcalinidad total doblada entre un proceso sin recirculación y el proceso con recirculación (Zamanzadeh, Hagen, Svensson, & Linjordet, 2016).

La recirculación se presenta como una alternativa eficiente para sobrepasar el problema de la acidificación por los AGV, ayudando el equilibrio bacteriano dentro del reactor (Zamanzadeh, Hagen, Svensson, & Linjordet, 2016).

2. Desarrollo de la investigación

En este capítulo, se presentan las diferentes etapas realizadas durante el estudio. Primero, se describen las caracterizaciones físico-químicas. Se detallan la recolección y caracterización de los sustratos y del inóculo que se necesitaban por empezar los procesos de DA y CODA. Tratando de los procesos, se destacan tres etapas: el estudio de la puesta en marche, los dos procesos en operación continuo y la evaluación de la variabilidad de la acidez a lo largo del reactor.

2.1 Primera etapa: Análisis Físico-Químicas

A lo largo del proyecto, se han realizado diferentes muestras que permitieron caracterizar tanto los sustratos empleados, que el comportamiento de los procesos implementados.

- Determinación de pH: el pH se determinó mediante el método potenciométrico utilizando un pH-metro (Metrohm 744).
- Determinación de los Solidos Volátiles (SV) y totales (ST): Ambos se midieron con respecto al procedimiento de los métodos estándares N°2540G (A.W.W.A, 2005) (Anexo A)
- Determinación de los Ácidos Grasos Volátiles (AGV) y de la Alcalinidad Total (AT): Las dos concentración se midieron por un método titrimétrico con respecto al procedimiento de un método estándar (Anderson & Yang, 1992) (Anexo .B)

2.2 Recolección y caracterización de los sustratos y del inóculo

2.2.1 Sustrato: Lactosuero

2.2.2.1 Sitio de recolección El lactosuero se recogió en la industria láctea Villa Aurora, productora de quesos ubicada en Bucaramanga, en el departamento de Santander, Colombia (Lat: N 7°8' 19, 2'' Long W 73°7' 31, 298''). Produce en mayoría quesos frescos y costeños. La leche empleada en su proceso está recogida en Santander, por los mismos productores.

La empresa establece el proceso de elaboración del queso en un tanque en el cual se manejan 1600 litros de leche. Se realiza un proceso una vez por día, lo que quiere decir se tratan de esta

cantidad de leche diariamente. Como mencionado anteriormente, el proceso genera el 90% de la leche en forma de lactosuero. Entonces, son alrededor de 1440 litros de lactosuero producidos por día por una producción de alrededor de 160kg de queso. El mismo proceso está implementado cada día, así que el lactosuero recogido siempre ha sido subproducto de la etapa de coagulación de la leche. Esta empresa suele usar el lactosuero como base de alimentación para los cerdos.

Para este estudio, el lactosuero fue recolectado 2 veces por semana durante 5 semanas. Las muestras fueron caracterizadas en términos de SV para cuantificar la materia orgánica, el pH fue tenido en cuenta como parámetros de acidez. Cada prueba fue realizada por duplicado. El LS después de su recogido, se ha almacenado en una nevera a 4°C.

2.2.2.2 Análisis estadístico Con el fin de comprobar los potenciales cambios en principales características del sustrato (SV y pH), se ha requerido un análisis de los valores extremos. El test más usado en estos análisis es el la prueba de Grubbs. Esta prueba permite analizar los valores extremos de un lote para ver si se deben considerar como aberrantes (Grubbs, 1969). Sin embargo, para usar esta prueba, el lote estudiado debe seguir la ley normal (también denominada la ley de Gauss). Para asegurarse que la serie sigue esta ley, se debe realizar le prueba de Henry (Chambers, Cleveland, Kleiner, & Tukey, 1983). En Anexo D, se encuentran el procedimiento de realización de estos análisis.

2.2.2.3 Caracterización del sustrato Con el fin de caracterizar completamente el LS empleado, se hicieron las pruebas siguientes: ST, SV, pH y AGV. Gracias a la composición en elementos (C, H, O, N) se pudo determinar la formula empírica del sustrato y determinar su potencial de biometanización teórico ($PBM_{teó}$)

2.2.3 Co- sustrato: Estiércol Bovino Fresco El co-sustrato fue un estiércol bovino recolectado del frigorífico Vijagual en Bucaramanga (Lat: N 7°12' 14, 029'' Long W 73°7' 50, 47''). Fue recogido y almacenado en un tanque.

Como para el sustrato, se determinaron para caracterizar el EBF, ST, SV, pH, AGV y PBM teórico.

2.2.4 Inóculo: Estiércol Bovino Aclimatado El inóculo empleado fue un estiércol bovino recolectado del frigorífico Vijagual en Bucaramanga (Lat: N 7°12' 14, 029'' Long W 73°7' 50, 47''). Este inóculo fue pre-incubado a 25°C para reducir el contenido de materia orgánica residual. La composición del inóculo fue 28,2ST/kg_{muestra} y 65% de sólidos volátiles (SV) con respecto a la fracción de los sólidos totales (ST). Al inóculo se le realizó el recuento de grupos tróficos (Número más probable de células por concentración de inóculo (NMP_{células/gssv}) reportando la presencia de $2,8 \times 10^4$ arqueas metanogénicas acetoclásticas, $2,3 \times 10^4$ arqueas metanogénicas hidrogenotróficas y $2,9 \times 10^4$ arqueas metanogénicas del metanol (Alzate-Moncada & Quintero-Silva).

2.3 Procesos de DA y CODA del LS

2.3.1 Diseño de los reactores La DA y Co DA del lactosuero se llevó a cabo en dos reactores tubulares respectivamente. Los reactores fueron construidos en cloruro de polivinilo, manteniendo una relación longitud/diámetro, de acuerdo a las especificaciones de la literatura, las dimensiones se determinaron gracias a la análisis de dimensionamiento de un reactor tubular a flujo pistón (Martí-Herreó & Cipriano, 2012). Las dimensiones del reactor fueron: 1 metro de longitud con un diámetro de 1,1 cm. Presenta un volumen disponible de 9 litros. El reactor cuenta con una entrada,

y una salida, ambas cerradas con válvulas herméticas y dos puntos de muestreos a lo largo del reactor (respectivamente con una distancia de la entrada de 0,33 y 0,66 metros) (Figura 4)

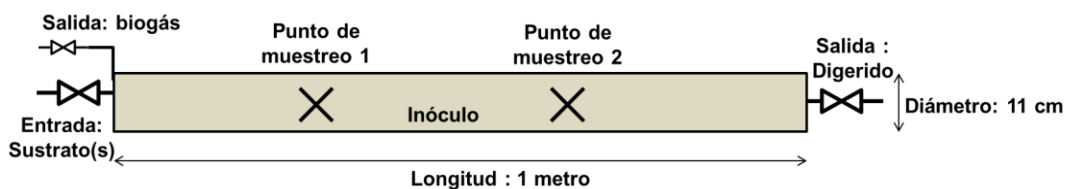


Figura 4. Diseño del reactor tubular empleado

2.3.2 Puesta en marcha de los dos procesos

2.3.2.1 Condiciones de operación En la tabla siguiente (Tabla 5), se presentan las diferentes condiciones de operación establecidos durante todo el proceso.

Contrariamente a muchos estudios, los procesos de DA y CODA se llevaron a cabo a temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$) para simular las condiciones locales.

Tabla 5.

Condiciones de operación al arranque del proceso

Parámetros	Unidades	Valor
Temperatura	$^{\circ}\text{C}$	26 ± 2
Volumen del reactor	L	9
Volumen de operación	L	$4,8 \pm 0,1$
Inóculo	-	EBA
RIS	gSV inóculo/ gSV substrato	1,5
Sustrato principal	-	LS
Co-sustrato (proceso CODA)	-	EBF

Parámetros	Unidades	Valor
Relación sustrato: co-sustrato (Volumen)	-	65:35

La relación volumétrica se escogió gracias a un estudio realizado con estos sustratos, con el fin de determinar una relación sustrato: co-sustrato favorable (Lozano Verjel, 2014).

En primer tiempo, se dejó los dos procesos en un tiempo de estabilización. Se requiso llevar a cabo hasta que la degradación de los SV alcanzó los 75%. Durante esta fase, los dos reactores se dejaron en régimen Batch, es decir en un sistema cerrado.

2.3.2.2 Variables de respuesta Diariamente, se midió el biogás producido por cada reactor. Esta medida se realiza por desplazamiento en una solución saturada en cloruro de sodio. Esta solución permite medir el volumen desplazado, que corresponde al biogás producido (I, Karakashev, Batsone, Plugge, & Stams, 2011).

Como soporte al control de la estabilidad del proceso, se midieron a partir de quince días, cada 5 días, los AGV y AT del proceso, en el fin de analizar la capacidad Buffer expresada por la relación AGV/AT. Además, para observar la degradación de la materia orgánica y así, definir el tiempo de esta fase, se midieron los SV.

2.3.3 Procesos de DA y CODA en continuo

2.3.3.1 Condiciones de operación Después de esta fase, se arrancó los procesos en continuo, empezando con una carga de 2gSV/L sin recirculación. Los tiempos de retención se han podido calcular con la relación entre la carga orgánica y el tiempo. El objetivo fue disminuir este tiempo

para aumentar y acelerar el proceso. El tiempo de operación no era igual al tiempo de retención sino menor. Después de 20 días, se implementó la recirculación para ambos reactores. A partir de esta carga, se quiso aumentar la carga orgánica de 0,5 gSV/L entre cada carga, con el fin de aumentar la producción de biogás. Se aumentó la carga hasta que los procesos presentaron una acidificación notoria del medio, y entonces, la inhibición del proceso.

2.3.3.2 Variables de respuestas Diariamente, se midió el biogás producido por cada reactor. Esta medida se realiza por desplazamiento en una solución saturada en cloruro de sodio. Esta solución permite medir el volumen desplazado, que corresponde al biogás producido (I, Karakashev, Batsone, Plugge, & Stams, 2011).

Cada 5 días, se hicieron las pruebas de SV para analizar la degradación de la MO. También, se midieron la concentración en ácidos grasos volátiles y el pH para estudiar la acidez. Por último, la alcalinidad total de las muestras se determinó. Esta última prueba grupada con la concentración en AGV, permitió tener valores de la capacidad buffer que se expresa como la relación AGV/AT, que es un factor importante en la análisis de la estabilidad de los procesos de DA.

2.3.4 Evaluación de la variabilidad de la acidez en la dirección axial del reactor Con el ánimo de comprobar si el uso de un reactor tubular por el proceso de DA permitiría una verdadera separación de fases, y así relacionar esta potencial separación con una estabilidad del proceso, se midieron los AGV y el pH, cada 5 días, de muestras recogidas en los puntos de muestreos 1 y 2.

3. Discusión de los resultados

En este último capítulo, se presentan y se discuten los resultados obtenidos en este estudio. Primero, se presentan el análisis realizado sobre características del sustrato principal: el LS. Después, se analizan los dos procesos establecidos: DA y CODA del lactosuero, según diferentes puntos de vista: comportamiento y estabilidad del proceso, producción de biogás, degradación de la materia orgánica. Por último, se investiga la acidez a lo largo del tubo.

3.1 Caracterización los sustratos

3.1.1 Variabilidad de la composición de lactosuero Los resultados del muestreo de lactosuero durante 5 semanas en la industria láctea villa aurora se presenta en las figuras 5a y 5b. Se observa que los valores se sitúan dentro del rango definido por el valor de la desviación estándar. Durante el tiempo de muestreo el pH se mantuvo en un intervalo entre 4,37 y 4,75 y los SV presentaron valores entre 50,47 y 59,74 gSV/kg.

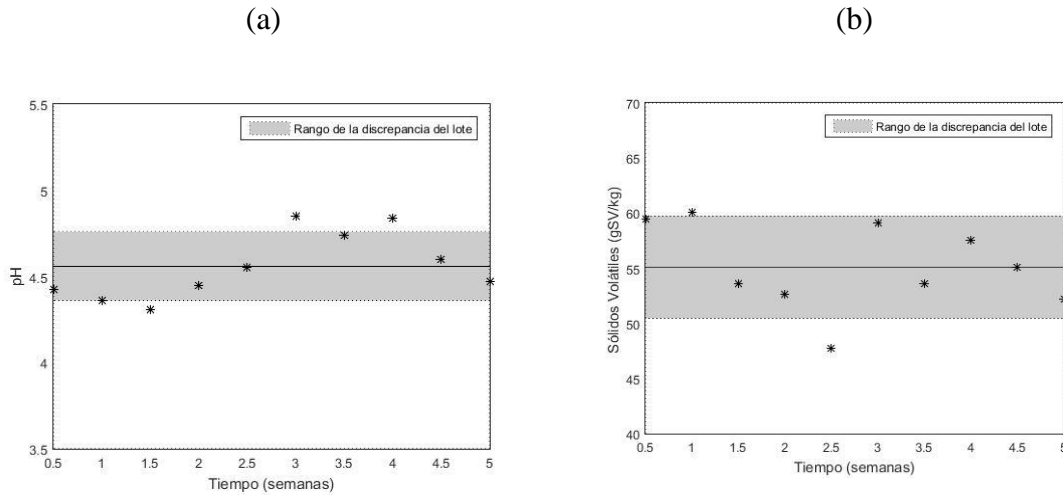


Figura 5. Comportamiento en la caracterización del LS durante el análisis de 5 semanas: a) pH, b) Sólidos Volátiles

En la Tabla 6, se presentan un consolidado de las características de pH y SV para lactosuero proveniente de diferentes estudios. Se observa que los resultados obtenidos en este estudio se encuentran dentro de los valores reportados en la literatura.

Tabla 6. Caracterización de lactosueros empleados en otros estudios

Parámetros		Referencia
SV (g/kg)	pH	
55,10± 4.63	4,56± 0.19	Este estudio
45	4,12	(Comino, Riggio, & Rosso, Above ground part of common reed to enhance anaerobic co-digestion of farm biomasses: Potential, monitoring and efficiency, 2015)
59,8±8,8	4,9±0,27	(Saddou, Hassaïri, & Sayadi, 2007)
65,881±6,020	5,8±0,1	(Jasko, Skipsts, Dubrovski, Zabarovskis, & Kotelenecs, 2011)

Parámetros		Referencia
SV (g/kg)	pH	
58-60	-	(Kastoni, Mantzavinos, & Diamadopoulos, 2014)
30,1±0,1	4,5-5,5	(Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015)
47,8±1,8	-	(Rico, Muñoz, Fernández, & Rico, 2015)
-	3,92	(Ergüder, Tezel, Güven, & Demirer, 2001)

Los resultados del muestreo de lactosuero durante 5 semanas en la industria láctea villa aurora se evaluaron mediante la prueba estadística de Henry para comprobar la normalidad de la serie. Las figuras 5 (a) y 5 (b) indican que los datos se ajustan a una distribución normal para los valores de pH y SV. Se observa una línea recta que cruza el eje de las abscisas en el punto igual al promedio (promedio del pH=4,56, y de los SV=55,10 gSV/kg).

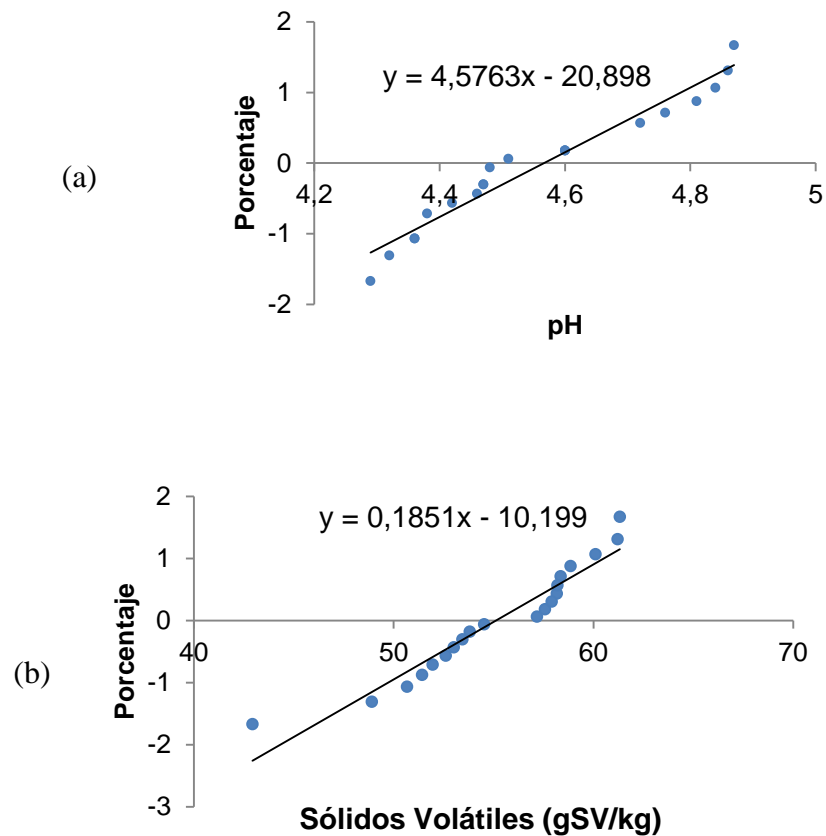


Figura 6. Gráfica de probabilidad normal por los datos de pH (a) y de los sólidos volátiles (b)

En la Tabla 7, se presentan los resultados de la prueba de Grubbs para el pH y los SV. Se compara el valor de G con el G teórico máximo. Así que se debe comparar a 2,701 para considerar el valor aceptable a con un error de 5%. Se observa que no existe ningún valor atípico, por consiguiente se puede concluir que las muestras de lactosuero recolectadas presentan características homogéneas. Adicionalmente, se presentan los valores promedio y desviación, confirmando la precisión en las mediciones realizadas.

Tabla 7.

Resultados de la prueba de Grubbs

Parámetro	Sólidos Volátiles	pH
G por valor máximo	1,34	1,63
G por valor minino	2,63	1,41
Promedio	55,10	4,56
Desviación	4,63	0,19

Los anteriores resultados, permiten concluir que para realizar el proceso de digestión anaerobia de lactosuero a la industria láctea villa aurora el suministro de sustrato puede ser recolectado periódicamente sin presentar cambios significativos en su pH y SV.

3.1.2 Caracterización completa de los sustratos: LS y EBF En la tabla 8, se presentan las características del sustrato principal (Lactosuero) y del co-sustrato (EBF) y de la mezcla LS: EBF realizada en las proporciones volumétricas 65:35.

Tabla 8.

Caracterización completa de los sustratos

VARIABLES	Sustrato	Co-sustrato	Mezcla
	Lactosuero	EBF	LS:EBF
Sólidos Totales (g ST/kg muestra)	55,37	163,61	91,30
Sólidos Volátiles (gSV/kg muestra)	55,03	101,72	72,59
pH	4,6	8,2	6,9
AGV (mg/L)	4020	8640	4300

VARIABLES	Sustrato	Co-sustrato
	Lactosuero	EBF
C/N	11,9	23,5
Formula Empírica	$C_{47}H_{44}O_2N_2$	$C_{32}H_{47}O_{20}N$
PBM teórico ($m^3 CH_4/kg SV$)	0,781	0,809

Estas caracterizaciones demostraron la capacidad que tienen el LS y el EBF como sustrato para la DA. Los residuos mostraron una relación SV/ST entre 0.52 y 0.98, indicando alto contenido de materia orgánica potencialmente biodegradable (0,84 para el LS, 0,73 para el EBF y 0,79 para la mezcla).

El LS presentó la relación C/N más baja. En consecuencia, la co-digestión de LS con EBF podría mejorar el equilibrio nutricional en la composición del sustrato prometiendo un proceso con efectos sinérgicos, alta cinética de desintegración y estabilidad.

Los valores de AGV, señalan que hay materia orgánica soluble fácilmente biodegradable disponible para ser metabolizada a acetato y posteriormente a biogás (Raposo, 2006). Esta conclusión se puede también observar estudiando los valores de PBM teóricos que demuestran el recurso para la DA de los sustratos.

La estabilidad del proceso depende principalmente de los valores de pH. Los valores de pH de la mezcla son más favorables para el arranque de procesos anaerobios que los del LS. Además, se puede analizar mirando el valor de pH de la mezcla (6,9 unidades de pH), que el EBF permite disminuir considerablemente la acidez del sustrato.

3.2 Digestión y co digestión anaerobia de lactosuero

En esta siguiente parte, se requiere comparar los dos procesos establecidos, además del uso de la recirculación.

3.2.1 Fase de puesta en marcha Inicialmente, se realizó una etapa de arranque del reactor que duro 27 días, tiempo en el cual alcanzó el estado estacionario, correspondiente a una degradación de los SV del 75%. Durante este tiempo, el pH se mantuvo en $7\pm 0,4$ (rango adecuado para el proceso anaerobio).

Esta fase permite empezar el proceso en continuo con un medio favorable. Al fin de ésta, se obtuvo para ambos procesos una degradación de $77\% \pm 0,01$. No hubo una diferencia significativa de la performance entre los dos procesos durante esta fase. Las producciones de biogás fueron de 59L y 60L (para la DA y la CODA) que representan una producción específica de 479,9 y 489,6 L biogás /kg VS. Estos resultados se encuentran en un rango similar a otros estudios con los mismos sustratos. Con la CODA del LS y EBF en las mismas proporciones, se obtuvo entre 627,7 y 834,7 L biogás /kg VS (Fernández, Biogas and hydrogen production from cheese whey, 2014). Sin embargo, cabe mencionar que este estudio se realizó en un reactor UASB con, como inóculo, aguas residuales proviniendo de una planta de tratamiento de aguas. Con la misma mezcla, otro autor refirió una producción entre 245,45 y 346,15 L biogás /kg VS (Carlini, Castelluci, & Moneti, 2015).

Posteriormente, se empezó el proceso en continuo, suministrando cargas variables periódicamente como se muestra en la tabla 9 para el proceso de DA y en la tabla 10 para la CODA.

Tabla 9.

Condiciones de operación para todas las fases (Proceso de DA)

Variables	Unidades	Fase I	Fase II
Carga orgánica	kg VS/m ³ día	2	2
Recirculación	-	NO	SI
Tiempo de operación	Días	20	5
Volumen total de alimentación (sustrato y efluente recirculado)	mL/día	160	224
Volumen de sustrato	mL/día	160	160
Volumen de efluente recirculado	mL/día	-	64

Tabla 10.

Condiciones de operación para todas las fases (Proceso de CODA)

Variables	Unidades	Fase I	Fase II	Fase III	Fase IV
Carga orgánica	kg VS/m ³ día	2	2	2,5	3
Recirculación	-	NO	SI	SI	SI
Tiempo de operación	Días	20	20	5	5
Volumen total de alimentación (sustrato y efluente recirculado)	mL/día	140	196	224	280
Volumen de sustrato	mL/día	140	140	160	200
Volumen de efluente recirculado	mL/día	-	56	64	80

Primero, se empezaron ambos procesos en continuo con una carga orgánica de 2gSV/L día sin usar la recirculación (Fase I). Esta fase se llevó durante 20 días. Después de esta primera fase, el volumen de alimentación cambió porque se agregó un volumen del efluente que fue recirculado (Fase II). Se agregó una recirculación del 40% del efluente (Namsree, et al., 2012). La DA no

soportó una carga más alta, así que únicamente la CODA se ha podido llevar a cabo con cargas orgánicas más altas. Dos cargas siguieron: 2,5gSV/L día con recirculación (Fase III) y 3gSV/L con recirculación (Fase IV).

Como parámetro para comprobar la estabilización, se analiza la capacidad buffer, que se expresa por la relación AGV/AT. Se probó en la literatura que tiene que ser entre 0,1 y 0,8 para garantizar una favorable estabilización del medio (Lambis, Castro Molano, & Escalante Hernández, 2013). Más baja y más estable es este valor, así que este valor es óptimo si menor a 0,4 (Callaghan, Wase, Thayanythy, & Forster, 2002). Es decir que con una capacidad buffer menor a 0,3-0,4, el riesgo de acidificación está mínimo (Kong, et al., 2016). En la figura 7, se ve la tendencia que tenían los dos procesos.

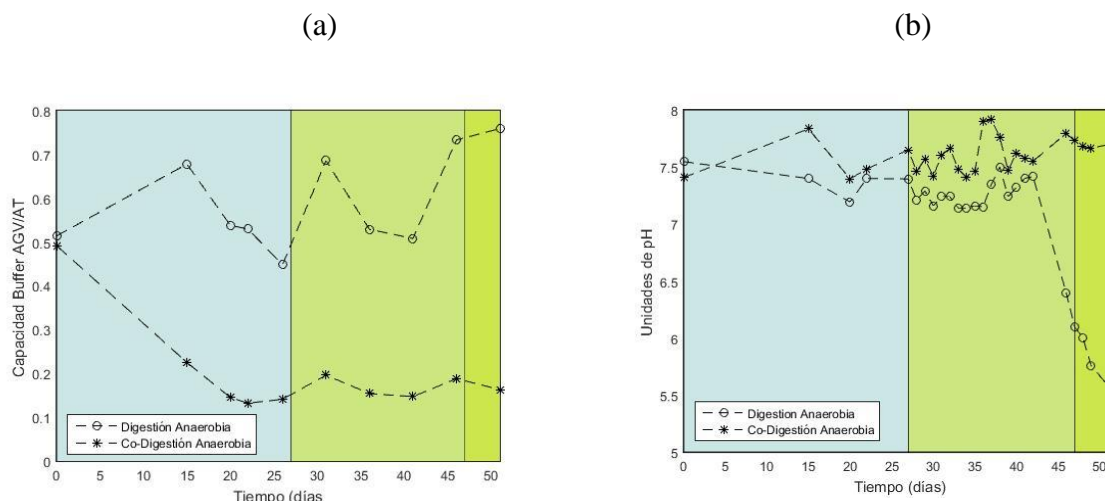


Figura 7. Evolución de la estabilidad de los procesos de la DA y CODA: a) Capacidad Buffer (Relación AGV/AT), b) pH para ambos procesos

3.2.2 Proceso de DA Tratando de la DA, se concluye que después de día 46, el proceso de DA falló, cuando la capacidad buffer se acercó de 0,8. Esta falla se explica por la análisis de la

producción de AGV (Figura 8a) y también, en la bajada rápida del pH (Figure 8b) a partir del día 42. Usando un sustrato ácido como el LS, el proceso es más difícil de controlar porque el sustrato contiene lactosa que produce muy rápidamente AGV durante la fase de acidogénesis (Comino, Riggio, & Russo, Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey, 2012) (Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015). Estudiando el valor del pH, el LS presenta una falta en alcalinidad lo que impide el proceso que aguanta una alta carga orgánica. Como se puede observar en la figura 9a, la producción de AGV empezó una vez iniciando el proceso en continuo, y nunca ha bajado. La concentración en AGV nunca ha sido menor a 1000g/L cuando otro estudio con el mismo sustrato reporta un valor de esta concentración siempre menor a 500g/L a la salida del proceso (Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015). Esta acumulación provocó una inhibición del crecimiento de las arqueas metanogénicas que deberían consumir estos ácidos. La inhibición se puede explicar por el hecho que la velocidad de crecimiento de las bacterias acidogénicas es mucho más alta que la de las arqueas metanogénicas (Wang K. , 2014). La recirculación no generó una mejora del proceso, porque el medio ya estaba acidificado. Como conclusión, la DA del LS, aunque sea en un reactor tubular que tendría que ayudar a evitar este problema, es un proceso más difícil que implementar. La producción de AGV debe ser controlada.

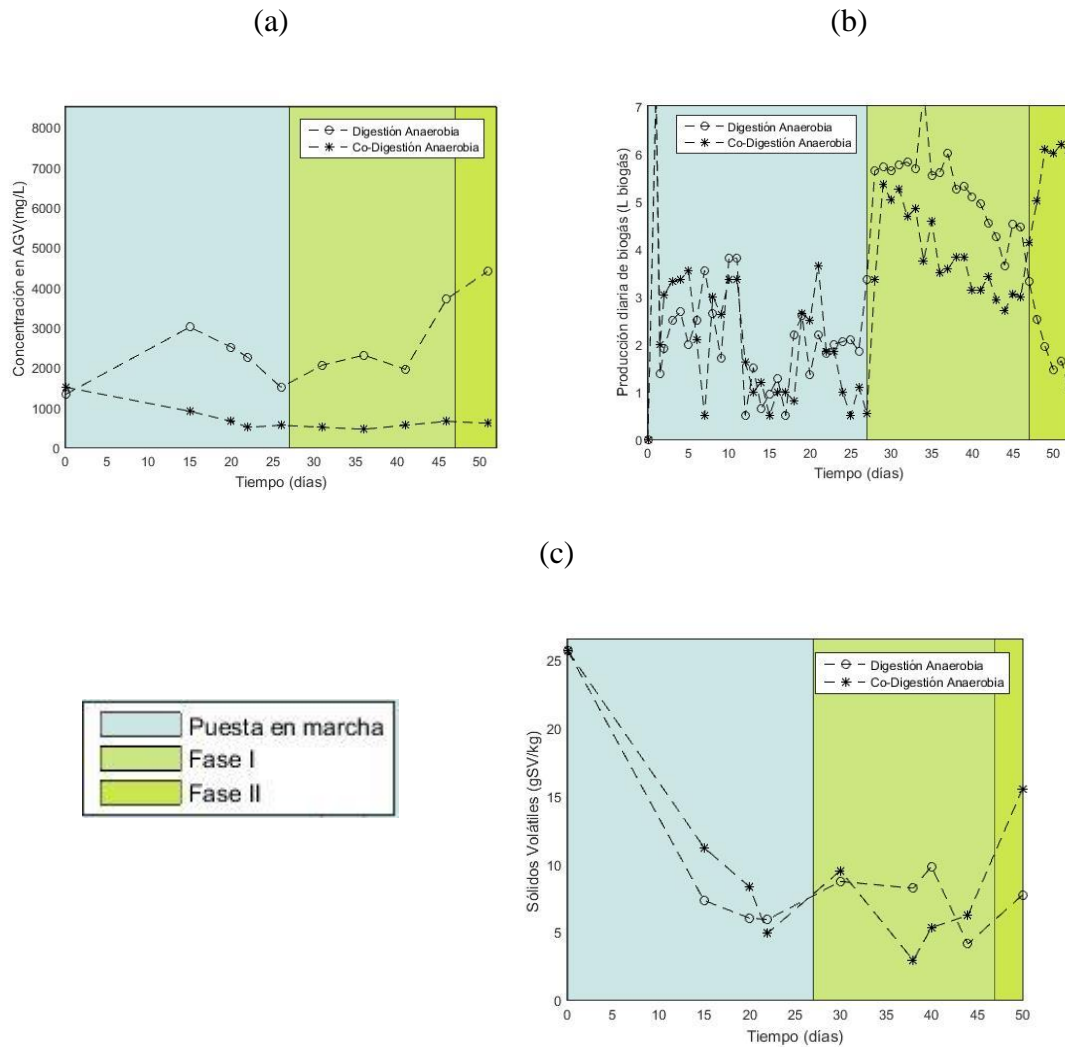


Figura 8. Evolución de a) Concentración en AGV, b) Producción de biogás y c) degradación de los sólidos volátiles para ambos procesos DA y CODA

La degradación de la MO representada por los SV, se ha quedado más bien constante durante el proceso (Figura 8c). Se alcanzó una degradación de 93% de los SV al fin de la Fase I. Cabe mencionar que manejando este proceso a temperatura ambiente, la degradación se presenta bastante efectiva, comparándola con la literatura, se encuentra resultados similares; 94.6% en

condiciones termófilas (Yang, Yu, & Hwang, 2003) mientras que no superó los 79% de bioconversión de la MO inicial en condiciones mesófilas (Saddoud, Hassaïri, & Sayadi, 2007).

La Figura 8b presenta la producción de biogás de los dos procesos. Se observa una tendencia similar entre los dos procesos la última fase en la cual se agregó la recirculación que permitió reactivar el proceso de CODA mientras que la DA ya había fallado. Sin embargo durante la fase I, se reporta por la DA una producción de biogás de $0,535 \text{ m}^3\text{biogas/kg VS}$ mayor que la del proceso de CODA que reporta una producción total durante esta fase de $0,422 \text{ m}^3\text{biogas/kg VS}$. En efecto, como se ha mencionado en el primer capítulo, el LS tiene un potencial de biometanización muy elevado, es decir que si se logra a evitar cualquier inhibición del proceso de DA con este proceso, se revela un proceso muy productivo. Suponiendo una composición en metano entre 40% y 60% del biogás producido, se hubiera producido entre 0.214 y $0.320 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg VS}$. Tratando de la DA del LS, se mencionan una producción conforme de $0,314 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg DQO}$ con cargas orgánicas de $0,8$ a $1,5 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ día}$ (Fernández, Cuetos, Martínez, & Gomez, 2015). Estudiando cargas más altas, no se reportan mejor rendimiento de biogás debido a la inhibición por los AGV en un reactor CSTR: $0,095$ - $0,151 \text{ m}^3\text{CH}_4/\text{kg DQO}$ por una carga de $9 \text{ kg DQO/m}^3 \text{ día}$ (Rugele, Mezule, Larsson, Vanags, & Rubulis, 2013). El LS necesita ser equilibrado por el aporte de otro sustrato, por lo tanto, nuevamente se están estudiando sistemas de CODA, proceso que se presenta como una solución para superar el potencial problema de estabilización (Heldal Hagen, 2014).

3.2.3 Proceso de CODA Segundo, se trata del proceso de CODA, que fue manejado en las mismas condiciones. El comportamiento de su capacidad buffer se presenta como una prueba de un mejor funcionamiento (Figura 9a). Su valor se quedó a partir del día 20 (fase de batch) hasta la

fase 2, entre 0,1 y 0,5. Además, en la Figura 9b, como criterio indispensable de control, el pH presentó una estabilidad alrededor de $7,6 \pm 0,6$ hasta el día 74 (fase IV).

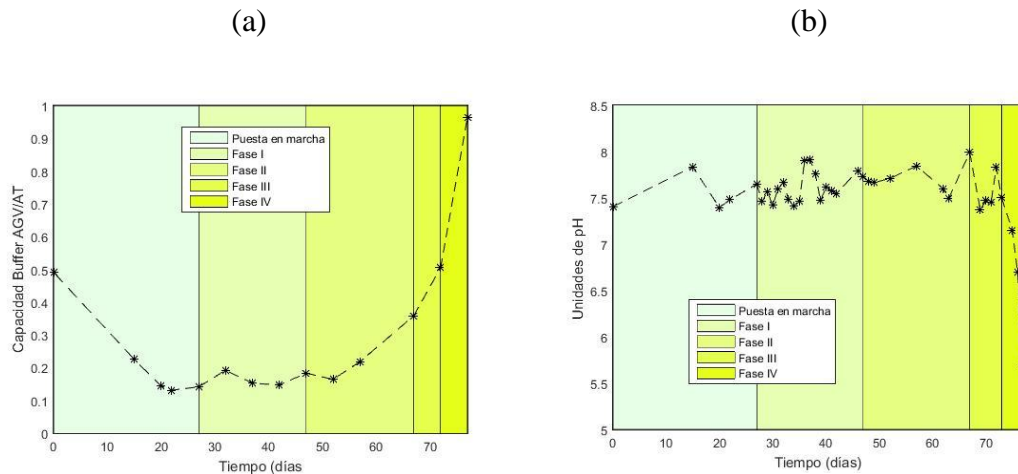


Figura 9. Evolución de la estabilidad del proceso: a) Capacidad Buffer (Relación AGV/AT), b) pH a lo largo del proceso de CODA

Su estabilidad se puede analizar también en la degradación de los SV muestreada en la Figura 10. Se puede ver que la degradación la más alta fue en la fase I: 92% de degradación. Eso se explica por el hecho que implementando la recirculación se agrega una carga orgánica de la entrada. Durante la fase II, se mantuvo casi constante un rendimiento de degradación de 81%. En las fases III y IV, 85% y 77% de la MO se degradaron.

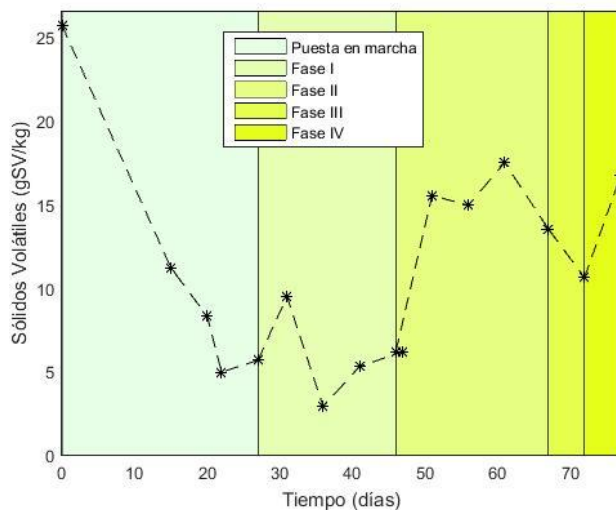


Figura 10. Degradación de los sólidos volátiles en el proceso de CODA

Estos resultados demuestran la eficiencia de la combinación del diseño del reactor y del uso de la recirculación que permitió superar los rendimientos de la literatura. Con la misma mezcla (LS: EBF 65:35), se degradó el 60% de la MO (Comino, Riggio, & Russo, *Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey*, 2012) en un CSTR. Así como, con una carga de 2,7 g SV/L, se alcanzó un rendimiento de 67,2% (Rico, Muñoz, Fernández, & Rico, 2015). En la misma condición de temperatura, no se logró superar degradar el 42% de los SV de la entrada (Kavacik, Topaloglu, & B, 2010).

A pesar de que la recirculación ha podido afectar la degradación, esta alternativa permitió el mantenimiento del equilibrio entre las fases en el reactor. Una vez usada la recirculación, la producción aumentó, lo que demuestra que la recirculación es una alternativa efectiva en el proceso que permite ayudar la microbiología de la CODA (Nordber, 2007). La falta de alcalinidad que presenta este sustrato se resuelve agregando un medio con una alcalinidad más alta. Esta operación permite reemplazar los micro-organismos, que han sido lavados por el sistema, en la entrada del

reactor (Namsree, et al., 2012). En la figura 11, se presenta la producción específica de biogás diaria. Se puede ver, para las fases 1, 2 y 3, que el sistema respondió a los cambios de cargas con un aumento notorio de la producción. Durante las fases I y II, se produjo una producción similar de biogás, respectivamente de 0,401 y 0,409 m³biogás/kg SV. Sin embargo, por la última fase, se puede concluir para la CODA, la carga orgánica de 3 gSV/L fue el punto límite de este sistema, así que no aguantó esta carga y se acidificó.

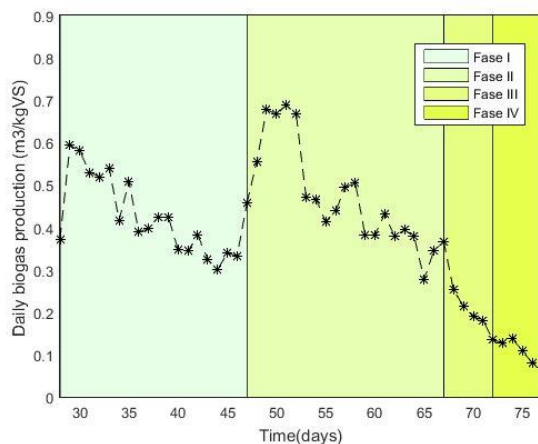


Figura 11. Producción diaria del proceso de CODA

Al igual que en el caso de la DA, esta inhibición se explica por la alta y rápida producción de los AGV (Figura 12). Esta rápida conversión dificulta el crecimiento de las arqueas metanogénicas cuya cantidad no fue suficiente.

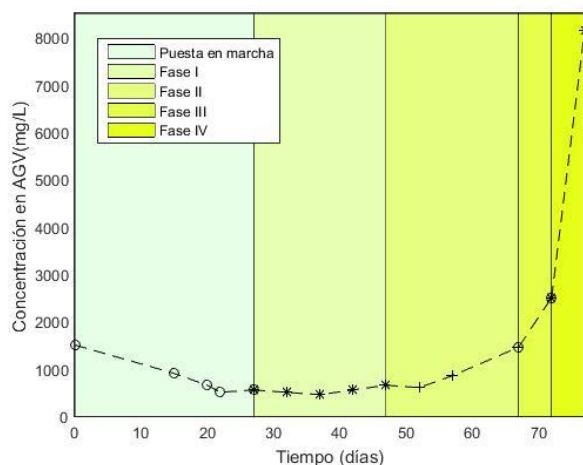


Figura 12. Producción de AGV durante el proceso de CODA

Por último, se puede afirmar que usando una carga adecuada al sustrato, es viable establecer este proceso asegurando una estabilidad del proceso. La combinación del uso de la recirculación del efluente y de un co-sustrato tal como el EBF permitió superar la inhibición por la acidificación, por adición de alcalinidad al medio.

3.2.4 Validación de la hipótesis de separación de fases en el reactor A lo largo de este estudio, se ha querido comprobar la hipótesis de una potencial separación de fase dentro del reactor, y analizar el comportamiento del proceso dentro del reactor. Para alcanzar este análisis, se han hecho mediciones del pH y de la concentración en AGV en tres puntos a lo largo del reactor tubular (a 0,33m, a 0,66m y a 1m (salida) de la entrada). En la figura 13, se puede ver la evolución del pH durante todo el proceso, en cada punto de análisis. Tratando de la primera fase (sin recirculación), no se observa una diferencia notoria, el pH se quedó más bien constante ($7,4 \pm 0,4$). Sin embargo, una vez implementado la recirculación al proceso, se nota una cierta disminución del pH en la primer parte del reactor ($6,53 \pm 0,01$). Este fenómeno se puede traducir como el inicio de una separación de fase. Siguiendo con esta carga orgánica, el proceso siguió aumentando la

diferencia del pH entre la primera parte y la segunda del reactor. Se alcanzó un pH de $5,75 \pm 0,02$ en el primero punto de muestreo manteniendo una salida bastante alcalina que permite asegurar el buen funcionamiento de la reacción. Es decir que a pesar de que la producción de AGV fuera muy alta, la actividad de las arqueas metanogénicas fue bastante eficiente para consumir la mayoría de estos ácidos. El valor del pH en el punto 2, ($7,65 \pm 0,01$) demuestra la existencia de la fase de la metanogénesis que necesita condiciones más alcalinas, para asegurar la actividad de las arqueas.

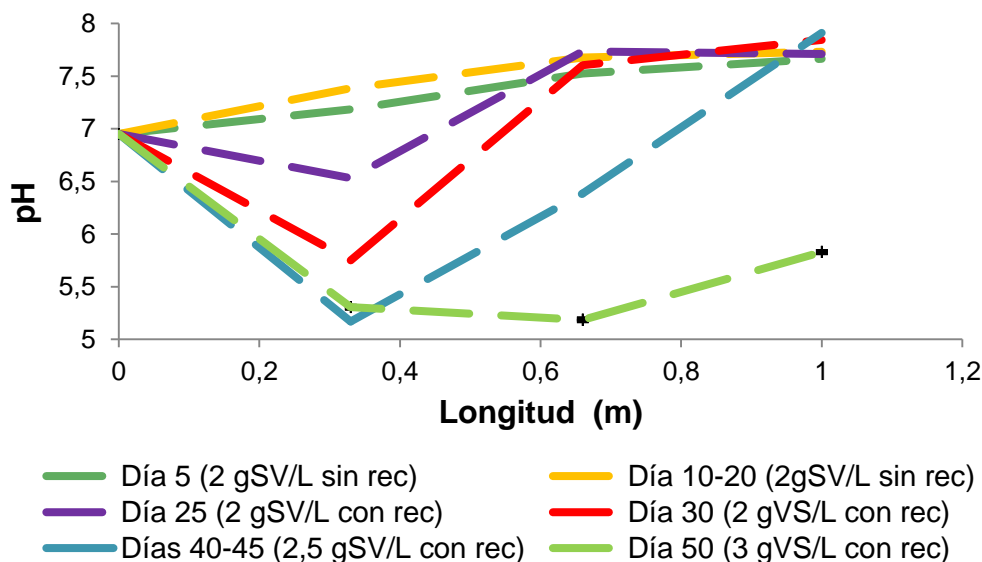


Figura 13. Evolución del pH del proceso de co-digestión anaerobia según la longitud

La análisis de los AGV confirma estas conclusiones (Figura 14). Todavía tratando de la carga de 2gSV/L con recirculación, se midió una concentración de 6100 mg/L en AGV en la primera parte del reactor. La concentración en AGV en la entrada era de 4300mg/L. Por lo tanto, se concluye una alta producción de ácidos en esta primera fase. Así como el pH, solamente 850mg/L se midieron en la salida, lo que destaca la consumación de AGV en la segunda parte del reactor.

Entonces, se puede diferenciar las dos fases principales a lo largo del reactor. Primero, se establece la fase de acidogénesis (producción de AGV, medio ácido) y después, la metanogénesis (consumo de los ácidos, aumento del pH) (Liu & Ghosh, 1997). Esta separación permite un mejoramiento considerable del proceso (Stamatelidou, Giantsiou, Diamantis, Alexandris, & Alexandris, 2012). En efecto, los dos grupos distintos de bacterias no necesitan las mismas condiciones. Separándolas, se garantiza un mejor crecimiento y por lo tanto, una actividad más favorable de estas bacterias (Saddoud, Hassaïri, & Sayadi, 2007).

La desestabilización del proceso se puede ilustrar estos análisis. En efecto, aumentando la carga orgánica (Fase III), se observa un notorio aumento de los AGV en la primera parte del reactor (7800mg/L) pero sobretodo, se tratan de 5675mg/L en el segundo punto de muestreo, lo que quiere decir que en ese momento, el medio faltaba de alcalinidad y una decadencia de la actividad de las arqueas que no tenían la capacidad de consumir estos ácidos. Lo cual nos lleva a decir que el proceso ya empezaba a fallar. Eso fue confirmado con la cuarta fase en la cual tanto el pH que la concentración en ácidos se quedó casi constante en todo el reactor (de 8550 hasta 8150mg/L por los AGV, y el pH de 5,3 hasta 5,83). Estos datos demuestran que la fase de la acidogénesis se extendió en el reactor superando la metanogénesis.

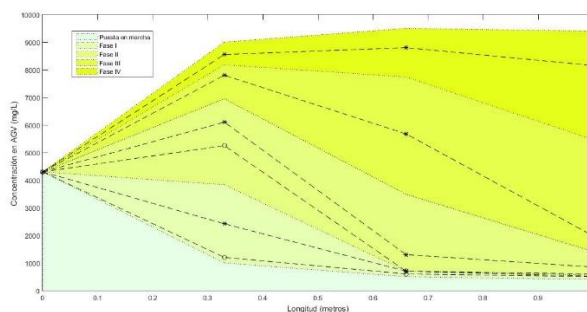


Figura 14. Evolución de la concentración en ácidos grasos volátiles a lo largo del reactor durante el proceso de co-digestión anaerobia

Gracias a este análisis, se comprobó la verdadera separación de fase en determinadas condiciones. El diseño del reactor y el hecho de que su agitación está únicamente manejada por el movimiento del flujo, permiten implementar una coexistencia muy favorable entre estas poblaciones bacterianas, gracias a la cual se estabiliza el proceso.

4. Conclusiones

El lactosuero empleado a lo largo de este estudio, presentó una cierta constancia en algunos de sus parámetros de caracterización. Así que se ha podido usar como sustrato durante un proceso que se demoró durante tres meses. La cantidad de materia orgánica que contiene el lactosuero es más bien estable con el tiempo y se presenta como una fuente importante para aprovecharla mediante el proceso de digestión anaerobia.

La digestión anaerobia del lactosuero, a pesar de su potencial de biometanización teórico alto, es un proceso que se puede realizar mediante algunas condiciones necesarias para asegurar la estabilidad del sistema. La acidificación suele ser un problema considerable en este proceso. Así, que se puede implementar este proceso con cargas orgánicas bajas, mediante en un proceso en continuo.

La adición de un co-sustrato disminuye el riesgo de inhibición del medio. La sinergia de la mezcla lactosuero y estiércol bovino fresco ayuda, así que se puede considerar el proceso de co-digestión como viable para la valorización energética de estos residuos. Este proceso reporta una estabilidad favorable mediante el uso de la recirculación, con el fin de ayudar y mejorar las

actividades de las bacterias necesarias a la eficiencia del proceso. Éste presenta rendimientos favorables en términos de degradación de la materia orgánica (81% de los sólidos volátiles) y de producción de biogás (de 0,344 hasta 0,688 m³biogas/kg VS día) con una carga de 2gSV/L, manteniendo la estabilidad del proceso.

El diseño del reactor, manejando un flujo pistón en éste, resultó beneficioso por el proceso de co-digestión anaerobia. Permitió separar las dos fase principales de esta bioconversión: ácidogénesis y metanogénesis. Cada una, realizándose en condiciones diferentes, separarlas facilita el crecimiento y la eficiencia de las poblaciones de bacterias.

Cabe mencionar que todo el estudio se realizó en condiciones de operación de temperatura ambiente, condiciones que no son óptimas para las bacterias, sin embargo, así no se necesita una fuente de energía suplementaria para el calentamiento de los reactores, y por lo tanto, se puede aprovechar de toda la producción de biogás.

La combinación de estos parámetros: uso de la recirculación, de un co-sustrato e implementado en un reactor tubular ofrece la posibilidad de un aprovechamiento completo del lactosuero mediante la digestión anaerobia, con una cierta carga orgánica.

Bibliografía

- A.W.W.A. (2005). Standard methods for the examination of water and waste water APHA. In *WPCF*.
- Abbasi, T., Tauseed, S., & Abbasi, S. (2012). Anaerobic digestion for global warming control and energy generation : an overview. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 16*, pp. 3228-3242.
- Ajeej, A., Thanikal, J., Narayanan, C., & Senthil Kumar, R. (2015). An overview of bio augmentation of methane by anaerobic co-digestion of municipal sludge along with microalgae and waste paper. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 50*, pp. 270-276.
- Albuquerque, J., de la Fuente, C., & M, B. (2012). Chemicals properties of anaerobic digestates affecting C and N dynamics in amended soils. *Agriculture, Ecosystems & Environment, Volume 160*, pp. 15-22.
- Alzate-Moncada, M., & Quintero-Silva, M. (n.d.). Caracterización de grupos tróficos durante un proceso de digestión anaerobia con lodo estiércol bovino usando un método de bajo costo. *Revista Ion*.
- Anderson, G., & Yang, G. (1992). Determination of bicarbonate and total volatile acid concentration in anaerobic digesters using a simple titration. In *Water Environment Research, Volume 64* (pp. 53-59).
- Angelidaki, I., & Ahring, B. (1993). Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Microbiology Biotechnology, Volume 38*, pp. 560-564.
- Aspasia, A., Chatzipaschai, G, A., & Stamatis. (2012). Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects. *Energies, Volume 5*, pp. 3492-3525.

- Aspasia, A., Chatzipaschali, & Anastassios, S. (2012). Biotechnological Utilization with a focus on Anarobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects. *Energies, Volume 5*, pp. 3492-3525.
- Association Anaerobic Digestion and Bioresources. (2016). *What is AD?* Retrieved from <http://adbioresources.org/about-ad/what-is-ad>
- Bertin, L., Grilli, S., Spagni, A., & Fava, F. (2013). Innovative two stage anaerobic process for effective codigestion of cheese whey and cattle manure. *Bioresource Technology, Volume 128*, pp. 779-783.
- Bollon, J. (2012). *Etude des mécanismes physiques et de leur influence sur la cinétique de méthanisation en voie sèche: essais expérimentaux et modélisation*. Lyon.
- Boulenger, P., & Galloui, Y. (2009). Traitements biologiques anaérobies des effluents industriels. In *Techniques de l'Ingénieur, Ref: G1305*.
- Brandelli, A., Daroit, D., & Correa, A. (2015). Whey as a source of peptides with remarkable biological activities. *Food Research International*, pp. 149-161.
- Busweel, E., & Neave, S. (1930). Laboratory studies of sludge digestion. Illinois: Division of State Water Survey.
- Cáceres, M. d. (2012). Aspectos medio ambientales asociados a los proces de la industria láctea. In *Mundo Pecuario N°1* (pp. 16-32).
- Callaghan, F., Wase, D., Thayanythy, K., & Forster, C. (2002). Continuous co-digestion of cattle slurry with fruit and vegetables wastes and chicken manure. *Biomass and Bioenergy, Volume 27*, pp. 71-77.
- Carlini, M., Castelluci, S., & Moneti, M. (2015). Biogas Production from Poultry Manure and Cheese Whey Wastewater under Mesophilic Conditions in Batch Reactor. *Energy Procedia, Volume 82*, pp. 811-818.
- Chambers, J., Cleveland, W., Kleiner, b., & Tukey, P. (1983). *Graphical Methods for Data Analysis*. Wadsworth.

- Chen, Y., Cheng, J., & Creamer, K. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: A review. *Bioresource Technology, Volume 99*, pp. 4044-4064.
- Cohen, A., Thiele, J., & Zeikus, J. (1994). Pilot-scale anaerobic treatment of cheese whey by the substrate shuttle process. *Water Science Technology, Volume 30*, pp. 433-442.
- Comino, E., Riggio, V., & Rosso, M. (2015). Above ground part of common reed to enhance anaerobic co-digestion of farm biomasses: Potential, monitoring and efficiency. *Ecological Engineering*, pp. 35-41.
- Comino, E., Riggio, V., & Russo, M. (2012). Biogas production by anaerobic co-digestion of cattle slurry and cheese whey. *Bioresource Technology, Volume 114*, pp. 46-53.
- Córdoba, V. F. (2016). The effect of different inoculums on anaerobic digestion of swine wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, pp. 115-122.
- Couturier, S. (2010). La méthanisation en Europe: un bref état des lieux. *11e assises nationales de la Prévention et Gestion Territoriale des déchets*. Paris.
- Dareioti, M. K. (2015). Anaerobic mesophilic co-digestion of ensiled sorghum, cheese whey and liquid cow manure in a two-stage CSTR system: Effect of hydraulic retention time. *Bioresource Technology, Volume 175*, pp. 553-562.
- DCP, D. d. (2009-2011). *Cadena productiva de la leche en Colombia: diagnóstico de libre competencia*.
- Demirel, B., Yenigun, O., & Onay, T. (2005). Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review. *Process Biochemistry, Volume 40, Issue 8*, pp. 2583-2595.
- Díaz Báez, M., Espitia, S., & Moina, F. (2002). Digestión anaerobia: una aproximación a la tecnología. In D. J., *Informe: Lácteos, derivados y huevos*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- El Achkar, J., Lendormi, T., Hobaika, Z., Salameh, D., Louka, N., Maroun, R., & Lanoisellé, J. (2016). Anaerobic digestion of grape pomace: Biochemical characterization of the

- fractions and methane production in batch and continuous digesters. *Waste Management, Volume 50*, pp. 275-282.
- Ergüder, T., Tezel, U., Güven, E., & Demirer, G. (2001). Anaerobic biotransformation and methane generation potential of cheese whey in batch and UASB reactors. *Waste Management, Volume 21*, pp. 643-650.
- FEDEGAN. (2015, Mayo 28). *FEDEGAN*. Retrieved 2016, from <http://www.fedegan.org.co/estadisticas/produccion-0>
- Fernández, C. (2014). Biogas and hydrogen production from cheese whey. España: Universidad de León, Instituto de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Biodiversidad.
- Fernández, C., Cuetos, M., Martínez, E., & Gomez, X. (2015). Thermophilic anaerobic digestion of cheese whey: Coupling H₂ and CH₄ production. *Biomass and Bioenergy, Volume 81*, pp. 52-62.
- Francisco José Mojica. (2011). *El futuro de la industria láctea colombiana*. Centro de Pensamiento Estratégico y prospectiva de la Universidad Externa de Colombia.
- Gelenis, J. G. (2007). Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renewable Energy, Volume 32*, pp. 2147-2160.
- Gomez-Romero J., G.-G. C.-P. (2014). Selective adaptation of an anaerobic microbial community: Biohydrogen production by co-digestion of cheese whey and vegetables fruit waste. *International Journal of Hydrogen Energy, Volume 39, Issue 24*, pp. 12541-12550.
- Grubbs, F. (1969). Procedures for detecting outlying observations in samples. *Technometrics, Volume 11, Issue 1*, pp. 1-21.
- Guinee, T. P. (2011). Cheese: Pasteurized Processed Cheese Products. In T. P. Guinee, *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (pp. 805-813).
- Heldal Hagen, L. V. (2014). Microbial community structure and dynamics during co-digestion of whey permeate and cow manure in continuous tank reactor systems. *Bioresource Technology, Volume 171*, pp. 350-359.

- Hernández, J. C. (2012). Caracterización físicoquímica de un lactosuero: potencialidad de recuperación de fósforo. *Acta Universitaria, Volume 22*, pp. 11-18.
- Herrera, H. H. (2005). *Tratamiento de lactosuero hidrolozado por medio de un reactor UASB*. Pachuca, Mexico: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias.
- Huertas, R. A. (2009). Whey: importance in the food industry. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, pp. 4967-4982.
- I, A., Karakashev, D., Batsone, D., Plugge, C., & Stams, A. (2011). Biomechanisation and its potential. In *Methods in Enzymology, Volume 494* (pp. 328-347). A. M. Rosenzweig, & S.W. Ragsale (Edits.).
- I, A., M, A., D, B., Borzacconi, L., Camos, J., Guwy, J., . . . Van Lier, J. (2009). Defining the biomethane potential (BMP) of solid organic wastes and energy crops: a proposed protocol for batch assays. *Water Science & Technology*, pp. 927-934.
- J, F., Breton, J., Bruneau, T., Moetta, R., & Guiot, S. (2009). The treatment of cheese whey waste water by sequential anaerobic and aerobic steps in a single digester at pilot scale. *Bioresource Technology, Volume 100, Issue 18*, pp. 4156-4163.
- Jabeen, M., Zeshan, Y., Rizwan, H., & Malik, R. (2015). High-solids anaerobic co-digestion of food waste and rice husk at different organic loading rate. *International Biodeterioration & Biodegradation, Volume 102*, pp. 149-153.
- Jasko, J., Skipsts, E., Dubrovski, V., Zabarovskis, E., & Kotelenecs, V. (2011). Biogas production from cheese wey in two phase anaerobic digestion. *Engineering for rural development*, pp. 373-376.
- Kaan-Dereli, R. (2015). A systematic on the effect of substrate acidification degree and acidogenic biomass sludge filterability. In *Water Research, Volume 82* (pp. 94-103).
- Kalloum, S., Salem, F., Kouki, A., & Mokaddem, H. (2014). Influence of inculums/substrate ratios (ISRs) on the mesophilic anaerobic digestion of slaughterhouse waste in batch mode: Process stability and biogas production. *Energy Procedia, Volume 50*, pp. 57-63.

- Kastoni, A., Mantzavinos, S., & Diamadopoulos, E. (2014). Coupling digestion in a pilot-scale UASB reactor and electrochemical oxidation over BDD anode to treat diluted cheese whey. *Environment Science Pollution Resources*, pp. 12170-12181.
- Kavacik, B., Topaloglu, & B. (2010). Biogas production from co-digestion of a mixture of cheese whey and dairymanure. In *Biomass and Bioenergy* (pp. 1321-1329).
- Kayhanian, M., & Rich, D. (1995). Pilot-scale high solids thermophilic anaerobic digestion of municipal solid waste with an emphasis on nutrient requirements. *Biomass and Bioenergy*, Volume 3, Issue 6, pp. 433-444.
- Kong, X., Wei, Y., Xu, S., Liu, J., Li, h., Liu, Y., & Yu, S. (2016). Inhibiting excessive acidification using zero-valent iron in anaerobic digestion of food waste at high organic load rates. *Bioresource Technology*, Volume 211, pp. 65-71.
- Lambis, L., Castro Molano, L., & Escalante Hernández, H. (2013). *Estudio preliminar de la producción de biogás mediante co-digestión anaerobia de gallinaza de jaula con melaza, lodo residual y aceite de oliva como co-sustratos*. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander, Escuela de Ingeniería Química.
- Lebrato, J., Pérez Rodríguez, J., Maqueda, C., & Morillo, E. (1990). Cheese factory wastewater treatment by anaerobic semicontinuous digestion. In *Resource Conservation Recycling*, Volume 6 (pp. 193-199).
- Letinga, G., Van Velsen, A., Hobma, S., de Zeeuw, W., & Klapwijk, A. (1980). Use of Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB) reactor concept for biological wastewater treatment especially for anaerobic treatment. *Biotechnology and Bioengineer*, Volume 22, pp. 699-734.
- Liu, T., & Ghosh, s. (1997). Phase separation during anaerobic fermentation of solid substrates in an innovative plug flow reactor. *Water Sciences Technology*, Volume 36, Issue 6-7, pp. 303-310.
- Lozano Verjel, S. (2014). *Estabilización de la materia orgánica presente en el lactosuero mediante el proceso de codigestión anaerobia*. Bucaramanga, Colombia: Universidad Industrial de Santander, Escuela de Ingeniería Química.

- Malaspina, F., Cellmare, C., Stante, L., Tilche, & A. (1996). Anaerobic treatment of cheese whey in a down flow-upflow hybrid reactor. In *Bioresource Technology, Volume 55, Issue 2* (pp. 131-139).
- Mao, C., Feng, Y., Wang, X., & Ren, G. (2015). Review on research achievements of biogas from anaerobic digestion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 45*, pp. 540-555.
- Martí-Herreó, J., & Cipriano, J. (2012). Design methodology for low cost tubular digesters. *Bioresource Technology, Volume 108*, pp. 21-27.
- Mata-Alvarez, J., Dosta, J., Romero-Güiza, M., Fonoll, X., Peces, M., & Astals, S. (2014). A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, Volume 36*, pp. 412-427.
- Métha'Concept. (2014). *La méthanisation: Contexte*. Retrieved Novembre 2015, from <http://www.metha-concept.fr/methanisation/contexte-methanisation-france-europe>
- Namsree, P., Suvajittanont, W., Puttanlek, C., Uttapap, D., & Rungsardthong, V. (2012). Anaerobic digestion of pineapple pulp and peel in a plug flow reactor. In *Journal of environmental Management, Volume 110* (pp. 40-47).
- Nielsen, H. U. (2007). Regulation and optimization of biogas process: propionate as a key parameter. *Biotechnology and Bioengineering, Volume 31*, pp. 820-830.
- Nordber, A. (2007). Anaerobic digestion of alfalfa silage with recirculation of process liquid. In *Bioresource Technology, Volume 98, Issue* (pp. 104-111).
- Palatsi, J. (2011). Syntrophic communities in methane formation from high strength wastewaters. In *Bioresource Technology, Volume 102* (pp. 2219-2227).
- Poh, P., & Chong, M. (2009). Development of anaerobic digestion methods for palm oil. *Bioresource Technology, Volume 100*, pp. 1-9.
- Prazeres, A., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management : A review. *Journal of Environment Management, Volume 110*, pp. 48-68.

- PROEXPORT. (2013). *Sector Agroindustrial Colombiano, Sociedad de Agricultores de Colombia*. Bogotá.
- Raposo, .. F. (2006). Influence of inoculum to substrate ratio n the biochemical methane potential of maize in batch test. *Process Biochemistry, Volume 41*, pp. 1444-1450.
- Rico, C., Muñoz, N., & Rico, J. (2015). Anaerobic co-digestion of cheese and the screened liquid fraction of dairy manure in a single continuously stirred tank reactor process: Limits in co-substrate ratios and organic loading rate. *Bioresource Technology, Volume 189*, pp. 327-333.
- Rico, C., Muñoz, N., Fernández, J., & Rico, J. (2015). High-load anaerobic co-digestion of cheese whey and liquid fraction of dairy manure in a one-stage UASB process: Limits in co-substrates ratio and organic loading rate. *Chemical Engineering Journal, Volume 262*, pp. 784-802.
- Rizwan Haider, M., Zeshan, Y., Naseem, M., & Visvanathan, C. (2015). Effect of mixing ratio of food wasteand rice husk co-digestion and substrate to inoculum ratio on biogas production. *Bioresource Technology, Volume 190*, pp. 451-457.
- Rugele, K., Mezule, D., Larsson, S., Vanags, J., & Rubulis, J. (2013). Application of fluorescent in situ hybridisation for monitoring methanogenic archaea in acid whey anaerobic digestion. *Agronomy Resource*, pp. 373-380.
- Saddou, A., Hassaïri, S., & Sayadi. (2007). Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresource Technology, Volume 98*, pp. 2102-2108.
- Saddoud, A., Hassaïri, I., & Sayadi, S. (2007). Anaerobic membrane reactor with phase separation fr the treatment of cheese whey. *Bioresource Technology, Volume 98*, pp. 2102-2108.
- Sluková, M., Hinková, A., Henke, S., Smrz, F., Lukacíková, M., Pour, V., & Bubník, Z. (2016). Cheese whey treated by memenbrane separation as a valuable ingredient for barley sourdough preparation. *Journal of Food Engineering, Volume 172*, pp. 38-47.
- Spachos, T., & Stamatis, A. (2011). Thermal analysis and optimization of an anaerobic treatment system of whey. *Energy, Volume 36*, pp. 2097-2105.

- Stamatelatou, K., Giantsiou, V., Diamantis, C., Alexandris, A., & Alexandris, A. (2012). Anaerobic digestion of cheese whey wastewater through a two stage system. *3rd International Conference on Industrial and Hazardous Waste Management*. Chania, Greece.
- Strydom, J., Mostert, J., & Britz, T. (1995). Anaerobic Treatment of a synthetic dairy effluent using a hybrid digester. *Water SA, Volume 21*, pp. 125-130.
- Tezcan, U., Kandemir, A., Erginel, N., & Ocal, S. (2014). Continuous electrocoagulación of cheese whey wastewater: An application of response surface methodology. *Journal of Environmental Management, Volume 146*, pp. 245-250.
- Tian, L., Zou, D., Yuan, H., Wang, L., & Zhang, X. (2015). Identifying proper agitation interval to prevent floating layers formation of corn sower and improve biogas production in anaerobic digestion. *Bioresource Tehnology, Volume 186*, pp. 1-7.
- Venetsaneas, N., Antonopoulou, K., Kornaros, M., Lyberatos, & G. (2009). Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. In *Bioresource Technology, Volume 100, Issue 15* (pp. 3713-3717).
- Wang, K. (2014). Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids production with different types of inoculum: effect of pH. In *Bioresource Technology, Volume 161* (pp. 396-401).
- Wang, Y., Zang, B., Li, G., & Liu, Y. (2016). Evaluation the anaerobic hydrolysis acidification stage of kitchen wastes by pH regulation. *Waste Management*.
- Ward, A., Hobbs, P., Holliman, P., & Jones, D. (2008). Optimisation of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresources Technology, 99*, pp. 7928-7940.
- Wu, S., Ni, P., Li, J., Sun, H., Wang, Y., Luo, H., . . . Dong, R. (2016). Integrated approach to sustain biogas production in anaerobic digestion of chicken manure under recycled utilization of liquid digestate: Dynamics of ammonium accumulation and mitigation control. *Bioresource Technology, Volume 205*, pp. 75-81.

- Xu, Z., Zhao, M., Miao, H., Huang, Z., Gao, S., & Ruan, W. (2014). In situ volatile fatty acids influence biogas generation from kitchen wastes by anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, Volume 163, pp. 186-192.
- Yan, J., Lo, K., & Liao, P. (1990). Anaerobic digestion of cheese whey using an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Biomass*, Volume 21, Issue 4, pp. 57-271.
- Yang, K., Yu, Y., & Hwang, S. (2003). Selective optimisation in thermophilic acidogenesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation. *Water Resources*, Volume 37, pp. 2467-2477.
- Zamanzadeh, M., Hagen, L., Svensson, K., & Linjordet, R. (2016). Anaerobic digestion of food waste - Effect of recirculation and temperature on performance and microbiology. *Water Research*, Volume 96, pp. 242-254.
- Zang, J., Chen, T., Liu, J., Liu, J., Yu, D., Wang, Y., . . . Wei, Y. (2016). Optimization and microbial communit analysis of anaerobic co-digestion of food wase and sewage sludge based on micowave pretreatment. *Bioresource Technology*, Volume 200, pp. 253-261.

Apéndices

Apéndice A Determinación de sólidos totales (ST) en muestras sólidas y semisólidas

Materiales:

- Placas de evaporación
- Horno de mufla para operar a $550\pm 50^{\circ}\text{C}$
- Desecado provisto de un desecante que contiene un indicador colorimétrico de concentración de humedad
- Horno de secado operaciones $103-105^{\circ}\text{C}$
- Balanza de análisis
- Crisoles

Procedimiento:

1. Llevar al horno dos crisoles por cada muestra a procesar y dejarlos a $103-105^{\circ}\text{C}$ durante dos horas. Dejarlos enfriar en el desecador y pesarlos **(A)**.
2. Depositar en cada crisol una alícuota bien homogenizada de la muestra a analizar y pesarlos **(B)**.
3. Llevarlos al horno a $103-105^{\circ}\text{C}$ hasta que la muestra esté seca. Dejar enfriar en el desecador y pesarlos. Llevar nuevamente los crisoles al horno y dejarlos una hora más, enfriar y pesar

nuevamente. Repetir el ciclo hasta peso constante (C) o hasta que la diferencia con el peso anterior sea menor al 4%.

Cálculos

$$\text{ST (mg/kg)} = 1000 \cdot (\text{C}-\text{A}) / (\text{B}-\text{A})$$

En donde:

A= Peso del crisol vacío (mg)

B= Peso del crisol + muestra húmeda (mg)

C= Peso del crisol + muestra seca (mg)

B – A = Peso inicial de la muestra (mg)

Apéndice B. Determinación de sólidos volátiles (SV) en muestras sólidas y semisólidas**Materiales:**

- Placas de evaporación
- Horno de mufla para operar a $550 \pm 50^\circ\text{C}$
- Desecado provisto de un desecante que contiene un indicador colorimétrico de concentración de humedad
- Horno de secado operaciones $103-105^\circ\text{C}$
- Balanza de análisis
- Crisoles

Procedimiento:

1. Los crisoles que contienen las muestras a las que se determinó sólidos totales después de someterlos a temperatura de $103-105^\circ\text{C}$ en el horno (C), se llevan a una mufla a 550°C durante una hora.
2. Apagar y dejar que baje la temperatura. Sacar los crisoles y pasarlos al desecador.
3. Pesarlos y repetir el ciclo de calcinar, enfriar y pesar hasta peso constante (D) o hasta que la diferencia con el peso anterior sea menor al 4%.

Cálculos

$$\text{SV (mg/kg)} = 1000 \cdot (\text{C-D}) / (\text{B-A})$$

En donde:

A= Peso del crisol vacío (mg)

B= Peso del crisol + muestra húmeda (mg)

C= Peso del crisol + muestra seca (mg)

D= Peso del crisol + muestra calcinada (mg)

Apéndice C: Determinación de la concentración de ácidos volátiles (AGV) y alcalinidad total (AT)

Materiales:

- Vaso de precipitado de 100mL
- Probeta de 25 mL
- Centrífuga
- pH-metro
- Agitador magnético
- Plancha de agitación magnética
- 2 balones esmerilados de fondo redondo o plano
- Condensador
- Plancha de calentamiento
- 2 buretas
- Soporte de plancha
- Soporte universal
- Pinzas con nuez
- Solución de NaOH al 0,1 N
- Solución de HCl al 0,1 N

Procedimiento

1. Centrifugar entre 7 y 20 mL de muestra (el volumen de muestra depende de los sólidos que ésta tenga) a 5000 rpm por 30 minutos en un tubo Falcon de 50 mL.
2. Pasar el sobrenadante a un tubo o vaso de precipitado y medir el pH inicial.
3. A 5 mL de la muestra, adicionar 25 mL de agua destilada -AD- y llevar a la plancha de agitación usando agitador magnético (perla) en vaso de 50 mL.
4. Medir nuevamente el pH. Si es mayor de 6.5, se agrega HCl 0.1N hasta pH 6.5 para iniciar la titulación con HCl 0.1N hasta pH 3.0. Anotar el volumen utilizado (**A**).
5. Pasar la muestra a un balón de destilación, conectar al equipo y calentarlo con mechero o estufa hasta ligera ebullición por 2 min.
6. Desmontar el balón del destilador e introducirlo en hielo para hacer choque térmico.
7. Pasar la muestra al vaso y llevarla nuevamente a agitación con la perla mientras se mide el pH y se adiciona NaOH 0.1N hasta pH 6.5. Anotar el volumen gastado (**B**).

Cálculos:

AT: Se expresa como carbonato de calcio (mg CaCO₃/L). Entonces:

$$AT = \frac{A \cdot N \text{ HCl}}{\text{Vol. muestra}} \cdot 50000$$

En donde:

A = Volumen de HCl utilizado

N HCl = 0.1

Vol. muestra = 5 mL

50000 = 50 mg CaCO₃/meq x 1000 mL/L

AGV: Se expresa como ácido acético (mg ácido acético/L). Entonces

$$AGV = \frac{B \cdot N \text{ NaOH}}{\text{Vol. muestra}} \cdot 60000$$

En donde:

B = Volumen de NaOH utilizado

N NaOH = 0.1

Vol. muestra = 5 mL

60000 = 60 mg ác. acético/meq x 1000 mL/L

Apéndice D. Análisis estadístico: Pruebas de Henry y Grubbs

Prueba de Henry:

Básicamente, se trata de representar en un mismo gráfico los datos observados y analizados, frente a los datos que se obtendrían en una distribución normal teórica. El objetivo es comprobar la normalidad del lote. Si es normal, los puntos quedan sobre una línea recta. Generalmente, se observa una mayor separación en los extremos (puntos más alejados del promedio). Si esta línea se obtenga, se puede obtener gráficamente el valor del promedio (inversa de la pendiente) y de la desviación estándar (ratio ordenada al origen/pendiente).

Prueba de Grubbs:

Una vez asegurado de que la serie siga la ley normal, se ha querido saber si el lote de muestras tuviera valores atípicos. Para realizarla, se trata de calcular para cada valor i , un número G que compara los valores absolutos de las discrepancias, en otros términos se calcula:

$$G_i = \frac{|x_i - \bar{x}|}{S}$$

donde

x_i : punto de medición

\bar{x} : promedio de la serie

S : discrepancia de la serie

Dependiendo del número de muestras que tiene el lote, se compara el G de cada valor extremo con un valor máximo que permite concluir si se puede aceptar o no, el valor. Por un lote de 20 muestras, para concluir que el valor es atípico, se debe comparar el G con el valor máximo dependiendo del error considerado. En la Tabla 5, se presentan los valores máximos para el error correspondiente.

Valores críticos de Grubbs

P (%)	1	5
Valor máximo tolerado	3,001	2,709