



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**TESIS**

**(Idónea Comunicación de Resultados)**

**“Tratamiento anaerobio de lactosuero en dos etapas (acidogénesis/metanogénesis)  
para reducir su impacto ambiental”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS**

**P R E S E N T A**

**Esp. en B. Cárdenas Medina Karen Noemi**

Matrícula: 2142800577

**Directora**

Dra. Patricia Castilla Hernández

UAM-X

**Co-directora**

Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz

UAM-I

**Asesora**

Mtra. Beatriz Sofía Schettino Bermúdez

UAM-X

**Ciudad de México, julio de 2016.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca de maestría con número 454760, otorgada a la autora de esta tesis.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT), por otorgar la Beca-Tesis, para la liberación de la misma con el folio 16BTIM0071.

A la quesería Tierra Nueva por el apoyo brindado a este estudio al proporcionar el lactosuero.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

Primero que nada le doy gracias a dios por permitirme llegar hasta este punto de mi vida y hacer realidad uno más de mis sueños. Me permito agradecer a todas y cada una de aquellas personas que hicieron posible con su ayuda, apoyo incondicional y amistad a la culminación de esta enorme responsabilidad como es mi TESIS.

En primera instancia agradezco a mi directora de tesis la Dra. Patricia Castilla Hernández por su aporte de conocimientos, esfuerzo, constancia, paciencia, dedicación y motivación a esta nuestra tesis pero sobre todo por su amistad.

Mi más profundo agradecimiento a mi Co-Directora de tesis la Dra. María del Carmen Fajardo Ortiz por sus conocimientos, comentarios, criterio y esfuerzo ya que siempre dedicó un poco de su tiempo para la realización de este estudio.

A mi asesora de tesis la Mtra. Beatriz Sofía Schettino Bermúdez, por el apoyo en técnicas de laboratorio y aporte a la realización de este estudio.

A la Dra. Mónica Alicia Meraz Rodríguez, por sus consejos y apoyo ya que siempre estuvo al pendiente de este estudio. A las cuatro GRACIAS, ha sido un gran privilegio contar con su aliento y ayuda.

A la Dra. Guadalupe Prado Flores mi más sincero agradecimiento y admiración por su maravillosa inteligencia de la cual tuvimos el privilegio de compartir en el salón de clases. Por mantenerse al pendiente de los avances y culminación de la tesis GRACIAS.

A Hugo Yari Vargas Cortés por su apoyo incondicional y motivación de ser mejor cada día.

A mi compañera de laboratorio Ana Luisa Martínez Barrera agradezco infinitamente por su colaboración, en la operación y manejo de lo experimental pero principalmente por su amistad.

A mis compañeros de generación 2014-2016, agradezco por su amistad y apoyo por estar en los buenos y malos momentos durante este periodo. Principalmente a mi amiga y confidente Vianka C. Hernández Fydrych, por estar siempre que la necesité, por apoyarme en todo momento y por lo vivido durante estos dos años. Amiga una más de nuestras metas cumplidas.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis principalmente a una personita que vino a cambiar mi vida en un instante, mi bebé Ángel Santiago, hoy quisiera decirte que tu afecto y cariño son el motivo de mi felicidad y la razón de mi esfuerzo para salir adelante gracias por no dejarme caer nunca, te prometo que buscaré lo mejor para ti, pues eres mi mayor tesoro y motivación para concluir con éxito este periodo en mi vida.

A mis Padres Silvia Medina y Víctor Hugo Cárdenas, por el apoyo incondicional que me han brindado durante todo este tiempo, por sus consejos y paciencia; porque todo lo que hoy soy es gracias a ellos. Se los agradezco con todo el corazón, los amo.

A mis hermanos quienes han sido testigos del esfuerzo y dedicación para realizar uno más de mis sueños, quienes me han dado su comprensión, así como su apoyo cada que lo necesité. A mi abuelita por sus consejos para salir adelante, a todos ellos GRACIAS.

## CONTENIDO

<b>Nomenclatura</b> .....	9
<b>Resumen</b> .....	10
<b>1.Introducción</b> .....	11
1.1 problemática.....	11
1.2 Impacto socio-económico y cultural de la producción quesos en México.....	12
1.3 Tipos de lactosuero.....	12
1.4 Producción y manejo de lactosuero en estado de Tlaxcala.....	13
1.5 Lactosuero como fuente de contaminación.....	14
1.6 Normatividad Mexicana para la descarga de aguas residuales crudas y tratadas.....	17
1.7 Digestión anaerobia.....	18
1.7.1 Hidrólisis.....	19
1.7.2 Acidogénesis.....	19
1.7.3 Acetogénesis.....	20
1.7.4 Metanogénesis.....	21
1.8 Digestión anaerobia de los principales componentes de lactosuero.....	23
1.8.1 Lactosa.....	23
1.8.2 Proteínas.....	25
1.8.3 Grasas.....	25
1.9 Antecedentes.....	25
1.9.1 Digestión anaerobia de lactosuero en una etapa.....	26
1.9.2 Digestión anaerobia de lactosuero en dos etapas.....	28
<b>2. Justificación</b> .....	32
<b>3. Hipótesis</b> .....	33
<b>4. Objetivos</b> .....	33
4.1 Objetivo General.....	33
4.2 Objetivos específicos.....	33
<b>5. Metodología</b> .....	34
5.1 Caracterización de lactosuero.....	34
5.2 Acidogénesis de lactosuero.....	34
5.3 Metanogénesis.....	34
5.4 Acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.....	35
5.5 Monitoreo de la acidogénesis y metanogénesis.....	36

5.6 Técnicas analíticas.....	36
5.6.1 Demanda química de oxígeno .....	36
5.6.2 Carbono orgánico total.....	36
5.6.3 Carbohidratos.....	37
5.6.4 Nitrógeno total.....	37
5.6.5 Amonio .....	37
5.6.6 Proteína total .....	38
5.6.7 Proteína soluble.....	38
5.6.8 Ortofosfatos .....	39
5.6.9 Fósforo total .....	39
5.6.10 Sólidos.....	39
5.6.11 Grasas y aceites.....	39
5.6.12 Ácidos grasos volátiles y alcoholes.....	40
5.6.13 Demanda bioquímica de oxígeno.....	41
5.6.14 pH.....	41
5.6.15 Relación de alcalinidades .....	41
5.6.16 Producción y composición de biogás.....	41
<b>6. Cálculos y análisis estadísticos .....</b>	<b>42</b>
6.1 Carga orgánica volumétrica.....	42
6.2 Eficiencia de conversión .....	42
6.3 Eficiencia de remoción .....	43
6.4 Estadísticos .....	43
<b>7. Resultados.....</b>	<b>44</b>
7.1 Caracterización de lactosuero .....	44
7.1.2 Carbonados.....	44
7.1.3 Nitrogenados y fosfatados.....	44
7.2 Acidogénesis de lactosuero .....	45
7.2.1 Metanogénesis de lactosuero .....	47
7.3 Acidogénesis/metanogénesis de lactosuero .....	47
7.3.1 Materia orgánica .....	48
7.3.2 Productos de la conversión de la acidogénesis.....	51
7.3.3 Productos finales en la metanogénesis .....	55
7.3.4 pH y relación de alcalinidad.....	56
7.3.5 Amonio y ortofosfatos .....	58
<b>8. Discusión.....</b>	<b>61</b>

8.1 Caracterización de lactosuero.....	61
8.1.1 Carbonados.....	61
8.1.2 Nitrogenados.....	62
8.1.3 Fosfatados.....	62
8.2 Productos de la conversión de la acidogénesis.....	63
8.2.1 Materia orgánica en acidogénesis/metanogénesis.....	66
8.2.2 Amonio y ortofosfatos.....	70
8.3 Composición del efluente tratado y comparación con la normatividad.....	71
9. Conclusiones.....	74
10. Recomendaciones.....	75
11. Literatura citada.....	76
12. Artículo.....	85

## FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Digestión anaerobia de residuos contaminantes.....	18
<b>Figura 2.</b> Vía de Wood—Ljungdahl o ruta reductora de la acetil-CoA.....	21
<b>Figura 3.</b> Síntesis de CH <sub>4</sub> a partir de CO <sub>2</sub> .....	22
<b>Figura 4.</b> Síntesis de CH <sub>4</sub> a partir de acetato.....	23
<b>Figura 5.</b> Vías que puede seguir la degradación de lactosa, proteínas y grasas.....	24
<b>Figura 6.</b> Esquema de reactores UASB-Híbridos.....	35
<b>Figura 7.</b> Comportamiento de la materia orgánica y eficiencia de remoción durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.....	50
<b>Figura 8.</b> Materia orgánica alimentada y conversión a AGVs y R-OHs.....	52
<b>Figura 9.</b> Porcentaje de formación de los productos de la acidogénesis.....	53
<b>Figura 10.</b> Porcentaje de formación de los productos de la metanogénesis.....	56
<b>Figura 11.</b> pH y relación de alcalinidad durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.....	57
<b>Figura 12.</b> Comportamiento de amonio y ortofosfatos durante la degradación de lactosuero en acidogénesis/metanogénesis.....	58
<b>Figura 13.</b> Producción de CH <sub>4</sub> .....	60
<b>Figura 14.</b> Principales intermediarios formados con respecto a la concentración de materia orgánica y pH alimentados.....	64
<b>Figura 15.</b> Eficiencia de remoción a diferentes cargas orgánicas volumétricas.....	70

## TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Proyección de la producción y queso en México.....	12
<b>Tabla 2.</b> Tipos de lactosuero .....	13
<b>Tabla 3.</b> Composición de lactosuero .....	15
<b>Tabla 4.</b> Límites máximos permisibles de contaminantes.....	17
<b>Tabla 5.</b> Parámetros de las curvas estándar .....	38
<b>Tabla 6.</b> Parámetros de las curvas de ácidos grasos volátiles y alcoholes.....	40
<b>Tabla 7.</b> Caracterización físico-química de lactosuero.....	45
<b>Tabla 8.</b> Adaptación de inóculo a condiciones acidogénicas y metanogénicas con lactosuero como fuente de carbono.....	46
<b>Tabla 9.</b> Parámetros de la acidogénesis de la materia orgánica de lactosuero. TRH de operación 0.5 d.....	49
<b>Tabla 10.</b> Parámetros indicadores de la metanogénesis de los productos de la acidogénesis durante la degradación de lactosuero.....	49
<b>Tabla 11.</b> Intermediarios formados en cada concentración alimentada al reactor para la acidogénesis.....	54
<b>Tabla 12.</b> Concentración de amonio y ortofosfatos durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.....	59
<b>Tabla 13.</b> Comparación de este estudio con la literatura.....	65
<b>Tabla 14.</b> Acidogénesis/metanogénesis comparación de este estudio con la literatura....	67
<b>Tabla 15.</b> Comparación del efluente tratado con la normatividad mexicana.....	72



## **Nomenclatura**

<b>AGVs</b>	Ácidos grasos volátiles
<b>CH<sub>4</sub></b>	Metano
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>COT</b>	Carbono orgánico total
<b>COV</b>	Carga orgánica volumétrica
<b>DBO<sub>5</sub></b>	Demanda bioquímica de oxígeno
<b>DQO</b>	Demanda química de oxígeno
<b>H<sub>2</sub></b>	Hidrógeno
<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>	Amonio
<b>NT</b>	Nitrógeno total
<b>PO<sub>4</sub><sup>-</sup></b>	Ortofosfatos
<b>PT</b>	Fósforo total
<b>R-OHs</b>	Alcoholes
<b>SST</b>	Sólidos suspendidos totales
<b>SSV</b>	Sólidos suspendidos volátiles
<b>ST</b>	Sólidos totales
<b>SV</b>	Sólidos volátiles
<b>TRH</b>	Tiempo de retención hidráulico
<b>UASB</b>	Reactor de lecho de lodos de flujo ascendente

## Resumen

La industria quesera genera residuos como el lactosuero, que se caracteriza por la alta concentración de materia orgánica y otros nutrientes, y puede afectar negativamente al medio ambiente si se desecha sin un tratamiento previo. La digestión anaerobia en dos etapas (acidogénesis/metanogénesis) se propone como un proceso para obtener biotratamientos más eficientes. Por lo que, en este estudio se evaluó la degradación anaerobia de lactosuero ácido proveniente del estado de Tlaxcala, en dos etapas, para reducir su impacto ambiental. Para ello, se caracterizaron diez lotes de lactosuero y se operaron en serie durante 277 días dos reactores UASB-Híbridos (empacados en la parte superior con zeolita), uno para la acidogénesis y otro para la metanogénesis. El primero se alimentó con concentraciones de materia orgánica de  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L, TRH de 0.5 d y un pH de 4.5 a 7.5; el segundo de  $1.0 \pm 0.03$  a  $10.8 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L, TRH de 0.5, 1.5 y 2 d y pH de 6.0 y 7.0. La caracterización mostró el alto contenido contaminante del lactosuero. El reactor para la acidogénesis presentó buena eficiencia de conversión a intermediarios ( $37.9 \pm 11.9$  a  $49.6 \pm 4.0\%$ ) durante todas las DQO alimentadas y los principales AGVs formados fueron acético, butírico, propiónico y caproico, su proporción varió aparentemente por el pH y por la concentración de DQO del lactosuero alimentado; los ácidos *i*-butírico, *i*-valérico y valérico, así como los R-OHs etanol y butanol se formaron en muy baja proporción. El reactor para la metanogénesis, aunque en ciertos periodos presentó inestabilidad por ser operado a cortos TRH, alcanzó eficiencias de remoción de la DQO<sub>total</sub> de  $60.3 \pm 10.7$  a  $96.8 \pm 0.9\%$ , con una producción de CH<sub>4</sub> de  $0.25 \pm 0.01$  a  $0.94 \pm 0.1$  L/L<sub>R</sub>-d; el pH del efluente se mantuvo entre 7.2 y 8.9, aunque en algunos periodos fue necesaria la adición de alcalinidad ( $2$  a  $4$  g NaHCO<sub>3</sub>/L). La formación de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en acidogénesis fue menos significativa que en la metanogénesis, alcanzando  $16.5 \pm 7.3$  y  $85.0 \pm 6.7$  mg/L, respectivamente; por el contrario los PO<sub>4</sub><sup>-</sup> no presentaron cambio a través de la acidogénesis/metanogénesis manteniéndose en  $116.8 \pm 13.4$  y  $113.9 \pm 20.5$  mg/L respectivamente (última DQO alimentada). Se concluye que la acidogénesis/metanogénesis a cortos TRH fue adecuada para la reducción de materia orgánica de lactosuero ácido y los mejores resultados se obtuvieron a: 1)  $5.3 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L (COV:  $10.7 \pm 0.8$  g DQO<sub>total</sub>/L-d) con un TRH global de 1.5 d (0.5 d acidogénesis; 1.0 d metanogénesis) y 2)  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L (COV:  $24.9 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L-d) con un TRH global de 2.5 d (0.5 d acidogénesis; 2.0 d metanogénesis), con eficiencias de remoción de  $89.0 \pm 9.1$  y  $79.9 \pm 5.4\%$ , respectivamente, superiores a las reportadas por otros estudios y una generación de CH<sub>4</sub> de hasta  $1.15 \pm 0.4$  L/L<sub>R</sub>-d. Cabe resaltar que el uso de reactores UASB-híbridos contribuyó a contrarrestar problemas de pérdida de inóculo en los reactores.

**Palabras Clave:** Lactosuero ácido, digestión anaerobia; acidogénesis/metanogénesis, reactor UASB-híbrido.

## **1. Introducción**

### **1.1 Problemática**

La industria láctea es considerada una de las más contaminantes a nivel mundial, ya que produce efluentes líquidos con alta concentración de materia orgánica como son la leche diluida, leche separada, grasas y aceites, que son de difícil degradación. Esta industria produce además un derivado altamente nocivo para el ambiente, el lactosuero o suero de leche (Carrillo, 2006), que se define como un líquido de color amarillo verdoso que se produce durante la fabricación de queso, por medio de la separación o coagulación de la proteína de la leche (Gelegenis *et al.*, 2007; Valencia y Ramírez, 2009; Parra, 2009; Carvalho *et al.*, 2013). Cuando el lactosuero es vertido a un sistema ecológico como un río, un lago o al suelo directamente, produce cambios importantes en la composición físico-química de estos sistemas (Valencia y Ramírez, 2009).

En México, para 2013 la producción de leche fue estimada en 11620 millones de litros, con una generación de quesos de 260.5 miles de toneladas métricas (SAGARPA, 2011). En la Tabla 1, se muestra una proyección de la producción de leche y queso de 2013 a 2020, observándose que para ambos incrementará. Valencia y Ramírez (2009) mencionan que a nivel nacional se generan alrededor de un millón de toneladas de lactosuero, y aunque no hay cifras exactas Alpina *et al.* (2009), Parra (2010) y Almario *et al.* (2013) reportan que por cada kilogramo de leche se obtienen aproximadamente 100 gramos de queso y el resto se queda como lactosuero (80 a 90% del kilogramo de leche). Al respecto Valencia (2008) menciona que la cantidad de lactosuero puede variar dependiendo del tipo de queso fabricado, por ejemplo 4 Kg por kilo de queso fresco, contra 11.3 kg por kilo de los de pasta dura.

Como se vislumbra la producción de lactosuero aumentará por lo que existe la necesidad de estudiar tratamientos que sean eficientes para reducir la carga orgánica contaminante de este residuo y disminuir el impacto ambiental que esto genera.

**Tabla 1.** Proyección de la producción de leche y queso en México de 2013 a 2020 (Leche: en millones de litros; quesos: en miles de toneladas métricas) (SAGARPA, 2011).

	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020
<b>Producción de leche fluida</b>	11620	11801	11951	12085	12185	12293	12453	12591
<b>Uso industrial</b>	7116	7249	7352	7442	7501	7574	7702	7789
<b>Producción de quesos</b>	260	263	266	268	270	274	280	283

## 1.2 Impacto socio-económico y cultural de la producción de quesos en México

La mayor parte de los quesos mexicanos se comenzaron a elaborar en los ranchos como un medio para aprovechar y conservar las propiedades de la leche, esto contribuyó para la comercialización de quesos a las poblaciones vecinas y posteriormente a las grandes ciudades de México, favoreciendo el establecimiento de vínculos sociales, económicos y culturales entre los espacios rurales y urbanos de la nación. El tiempo permitió consolidar las técnicas de elaboración de quesos y las convirtió en una tradición incorporándolas a la rica gastronomía mexicana, logrando de esta manera su reconocimiento como patrimonio cultural.

La elaboración de quesos también ha jugado un papel importante en el desarrollo rural de México, entre estas resaltan las oportunidades que ofrecen a pequeños y medianos productores de leche para mejorar los ingresos familiares en los territorios donde se produce leche y quesos. En términos generales, favorecen un conjunto de dinámicas sociales y económicas en torno a la producción y comercialización de estos productos (Grass *et al.*, 2013).

## 1.3 Tipos de lactosuero

El tipo de lactosuero depende del proceso empleado para desestabilizar la caseína y formar la cuajada. Henning *et al.* (2006), mencionan que hay tres posibles métodos: acidificación directa (mediante un cultivo iniciador); proteólisis limitada empleando enzimas, y por una combinación de ambos. En la elaboración de quesos mediante la acidificación de la leche se obtiene una cuajada sin fosfato cálcico y un lactosuero ácido con mayor contenido de minerales. Si la acidificación se realiza por adición directa de algún ácido orgánico o mineral,

presenta un pH alrededor de 4.6, si la acidificación se lleva a cabo por la acción de bacterias ácido lácticas el pH será aproximadamente de 5.6. Ambos lactosueros se conocen como sueros “ácidos”.

Cuando participan enzimas en la desestabilización de la caseína, la cuajada que se obtiene está formada principalmente por paracaseína y el lactosuero se caracteriza por poseer un pH de 6.5, por lo que se le identifica como suero “dulce”. Las diferencias en composición de ambos tipos de suero no sólo son en el pH, sino por ejemplo el suero dulce tiene un mayor contenido proteínas, lactosa y grasa, pero menor concentración de calcio y fósforo que los sueros ácidos (Tabla 2).

**Tabla 2.** Tipos de lactosuero (Panesar *et al.*, 2007; Chatzipaschali y Stamatis, 2012).

Componentes (g/L)	Dulce	Ácido
<b>Sólidos totales</b>	63.0-70.0	63.0-70.0
<b>Proteína</b>	6.0-10.0	6.0-7.0
<b>Lactosa</b>	46.0-52.0	44.0-46.0
<b>Grasa</b>	0.2-1.0	0.1-0.5
<b>Calcio</b>	0.4-0.6	1.2-1.6
<b>Magnesio</b>	0.08	0.11
<b>Fósforo</b>	1.0-3.0	2.0-4.5
<b>Citrato</b>	1.2-1.7	0.2-1.0
<b>Sodio</b>	0.4-0.5	0.4-0.5
<b>Potasio</b>	1.4-1.6	1.4-1.6
<b>pH</b>	6.5	4.6-5.6

#### 1.4 Producción y manejo de lactosuero en el estado de Tlaxcala

Debido al crecimiento de la población urbana y a la creciente industrialización que se desarrollaba en el país en los años sesenta, se modificó el tradicional consumo de alimentos de la población mexicana (basado en granos básicos) e introdujeron la demanda de productos lácteos, cárnicos y de aves (Grass *et al.*, 2013). Este escenario contribuyó a ampliar la comercialización tanto de la producción de leche, como de la producción de quesos (Poméon *et al.*, 2006a).

En el estado de Tlaxcala existen varios municipios donde se elaboran quesos, por mencionar algunos, Tlaxco, ubicado al norte del estado, es considerado como una cuenca lechera tradicional, asimismo una de las mejores zonas queseras (producción y venta) donde los principales productores practican una ganadería familiar traspatio (Poméon *et al.*, 2006b). La actividad ganadera y la producción de quesos ha aumentado conforme el paso de los años, pero no ha alcanzado la industrialización debido a la baja economía que presenta el estado, sin embargo ha desarrollado fama en cuanto a la producción de diferentes tipos de quesos (oaxaca, aro, botanero, panela y requesón), los cuales poco a poco han permitido que se incrementen las ventas, apoyando parcialmente el desarrollo de las queserías. En 2006b, Poméon *et al.*, reportaron que en esta cuenca se producían 26700 L de leche por día, con una producción de queso de 3550 Kg.

Otro municipio que destaca por esta actividad es Santa Isabel Tetlatlahuca, en el que se procesan entre 40 y 700 L de leche al día, siendo en promedio 235 L, la elaboración de queso en esta zona se lleva a cabo en queserías pequeñas cien por ciento familiares, y a una todavía a menor escala realizada en las cocinas de los ganaderos (Cesín *et al.*, 2007). También, en el municipio de Huamantla de manera artesanal se elaboran 25 variedades de queso, entre ellos gouda, panela, oaxaca, etc. (Aquino, 2012).

Una muy baja proporción del lactosuero producido durante la elaboración de quesos es utilizado como fuente de alimento para el ganado, sin embargo el mayor volumen es desechado al alcantarillado, barrancas o ríos sin recibir tratamiento. Esto se debe especialmente a que por ser en su gran mayoría empresas artesanales o de traspatio, no cuentan con los recursos necesarios (políticos, económicos o de otra índole) para instalar sistemas de tratamiento correspondientes, o para utilizar el lactosuero como materia prima para la elaboración de otros productos de valor agregado.

### **1.5 Lactosuero como fuente de contaminación**

El lactosuero es un residuo que causa un impacto negativo al ambiente debido a los volúmenes que se producen y a las propiedades físico-químicas que presenta, como la alta concentración de materia orgánica, que como demanda química de oxígeno (DQO) fluctúa de 40 a 73 g/L, con una demanda bioquímica de oxígeno (DBO<sub>5</sub>) entre 37 y 40 g/L, de éstas

el mayor componente es la lactosa, pero también están presentes proteínas y grasas. Contiene además nutrientes como nitrógeno y fósforo. En la Tabla 3 se muestra la composición de lactosuero de varias fuentes.

**Tabla 3.** Composición del lactosuero.

Componentes (g/L)	Demirel y Yenigun (2004)	Saddoud <i>et al.</i> (2007)	Gannoun <i>et al.</i> (2008)	Venetsaneas <i>et al.</i> (2009)	Guerrero-Rodriguez <i>et al.</i> (2012)
pH	8.6	4.9	4.4	6.2	5.1
DQO	44	68.6	60	60.5	72.6
DBO <sub>5</sub>	-	37.7	40	-	-
ST	33	59	59	-	65
SST	0.87	1.3	1.5	8.6	-
SSV	0.485	-	-	8.0	-
NT	0.11	1.1	-	0.37	-
PT	0.03	0.5	0.5	-	-
Lactosa	-	45.9	-	-	44
Proteína	-	2.71	125*	-	11
Grasa	-	9.4	0.9	1.0	6.0

DQO y DBO<sub>5</sub>: Demanda química y bioquímica de oxígeno; ST: sólidos totales; SST: sólidos suspendidos totales; SSV: sólidos suspendidos volátiles; NT: nitrógeno total; PT: fósforo total. \*g/Kg.

Debido a la cantidad de lactosuero que se descarga a cuerpos receptores como lagos o ríos, los microorganismos que lo degradan necesitan una gran cantidad de oxígeno disuelto en el agua, dado que si éste baja provoca la muerte de la fauna de estos ecosistemas (Gil, 2007). En el suelo, provoca un cambio en su composición físico-química debido a las propiedades que posee y al volumen que se descarga continuamente como consecuencia hay una reducción en la producción de los cultivos. Además, se observa el fenómeno de filtración o infiltración, hasta los mantos freáticos, convirtiéndose en un peligro para la salud de animales y humanos (Carrillo, 2006 y Valencia y Ramírez 2009).

Para reducir el problema de contaminación por lactosuero existen dos vías, una de ellas es la recuperación principalmente de lactosa y proteína para su uso en elaboración de subproductos, la segunda es para tratar el lactosuero como desecho y evitar la contaminación que causa su descarga. La primer vía pretende la reutilización debido a la concentración de materia orgánica, lactosa y proteína que contiene y a los grandes volúmenes generados, por lo que países como Estados Unidos, Suiza, Japón y Alemania han desarrollado tecnologías

para el uso del suero en alimentos y sustitutos. Asimismo países en Latinoamérica como Argentina, México y Chile (Alpina *et al.*, 2009 y Almario *et al.*, 2013), lo usan como materia prima para la elaboración de subproductos, como suero en polvo, en la industria de bebidas (mezcla de cacao, cremas para café y bebidas para deportistas) (Alpina *et al.*, 2009), para diversos alimentos lácteos (yogurt y productos untables), en la industria cárnica (carnes procesadas y embutidos), la panificación (base para pasteles, galletas, barras nutritivas), confitería (chocolates, coberturas y caramelos) (Almario *et al.*, 2013), e inclusive la lactosa se emplea para la elaboración de alimentos dietéticos y suplementos alimenticios (González *et al.*, 2012), así como para la elaboración de dulces y productos en la industria farmacéutica (Almario *et al.*, 2013).

La segunda vía está enfocada en la remoción de los contaminantes presentes en el lactosuero por medio de procesos biológicos aerobios y anaerobios. Ambos tratamientos empleados con la finalidad de reducir el impacto ambiental que este desecho causa y obtener beneficios económicos. A pesar de los múltiples usos del lactosuero, aproximadamente el 47 por ciento, de las 115 millones de toneladas por año que se producen a nivel mundial (Saddoud *et al.*, 2007) y de alrededor de un millón de toneladas a nivel nacional (Valencia y Ramírez, 2009), son descargados al suelo, drenaje o cuerpos de agua sin recibir tratamiento, causando un serio problema para el ambiente.

Los tratamientos aerobios requieren cantidades grandes de oxígeno para la degradación de la materia orgánica. Dentro de las desventajas de este tipo de tratamiento están los altos costos de la mayoría de las tecnologías utilizadas en la actualidad, sobre todo de las que se emplean convencionalmente en las plantas de tratamiento como los lodos activados (Carrillo, 2006). Por el contrario, el tratamiento anaerobio no requiere oxígeno, tal es el caso de la digestión anaerobia donde la materia orgánica se transforma a productos como metano (CH<sub>4</sub>) y bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (Kalogo y Verstraete, 1999; Martí, 2006); este tipo de tratamiento se ha llevado a cabo principalmente en reactores de lecho de lodos de flujo ascendente por sus siglas en inglés UASB (Kalogo y Verstraete, 1999; Lettinga *et al.*, 1980; Yan *et al.*, 1988; Yan *et al.*, 1989).



### 1.6 Normatividad mexicana para la descarga de aguas residuales crudas y tratadas

Entre las diferentes normas utilizadas para la conservación del medio ambiente a nivel nacional están la NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. La NOM-002-SEMARNAT-1996 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en la descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano y municipal; la NOM-003-SEMARNAT-1997 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicio al público, así como la NOM-CCA-009-1993 que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de la industria procesadora de leche y productos lácteos.

**Tabla 4.** Límites máximos permisibles de contaminantes establecidos en la normatividad mexicana para la descarga de aguas residuales crudas y tratadas.

Normas mexicanas	SST	DQO	Parámetros (mg/L)			
			DBO <sub>5</sub>	Grasas y aceites	NT	PT
<sup>a</sup> NOM-001-SEMARNAT-1996	<sup>1</sup> 150/200		<sup>1</sup> 150/200	<sup>1</sup> 15/25	<sup>4</sup> 40/60	<sup>7</sup> 20/30
	<sup>2</sup> 75/125	-	<sup>2</sup> 75/150	<sup>2</sup> 15/25	<sup>2</sup> 40/60	<sup>2</sup> 20/30
	<sup>3</sup> 40/60		<sup>3</sup> 30/60	<sup>3</sup> 15/25	<sup>3</sup> 15/25	<sup>3</sup> 5/10
<sup>b</sup> NOM-002-SEMARNAT-1996	-	-	-	50/75	-	-
<sup>c</sup> NOM-003-SEMARNAT-1997	20/30	-	20/30	15	-	-
<sup>d</sup> NOM-CCA-009-1993	100/120	100/120		20/30		
<sup>e</sup> Lactosuero	12950	85400	52940	3622	1300	1250

<sup>a</sup>Promedio mensual/promedio diario: <sup>\*</sup>uso en riego agrícola; <sup>\*\*</sup> uso público urbano y <sup>\*\*\*</sup>protección de la vida acuática en las descargas a ríos. <sup>b</sup>Promedio mensual/promedio diario. <sup>c</sup>Servicios al público con contacto directo/servicios al público con contacto indirecto u ocasional. <sup>d</sup>Promedio diario/valor instantáneo. <sup>e</sup>A partir de la caracterización del lactosuero empleado en este estudio.

En la Tabla 4, se presentan los límites máximos permisibles de contaminantes como sólidos suspendidos totales (SST), DQO, DBO<sub>5</sub>, grasas y aceites, nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) que pueden ser descargados al ambiente. Adicionalmente se muestra la concentración que el lactosuero contiene de cada uno de estos, observándose que en todos los casos se rebasan los límites máximos permisibles.

### 1.7 Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso biológico degradativo en el cual, parte de la materia orgánica es convertida a una mezcla de gases (CO<sub>2</sub> y principalmente CH<sub>4</sub>) ver Figura 1, mediante la acción de un conjunto de microorganismos y en ausencia de aceptores de electrones de carácter inorgánico como el NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y SO<sub>4</sub><sup>-</sup> (Martí, 2006).

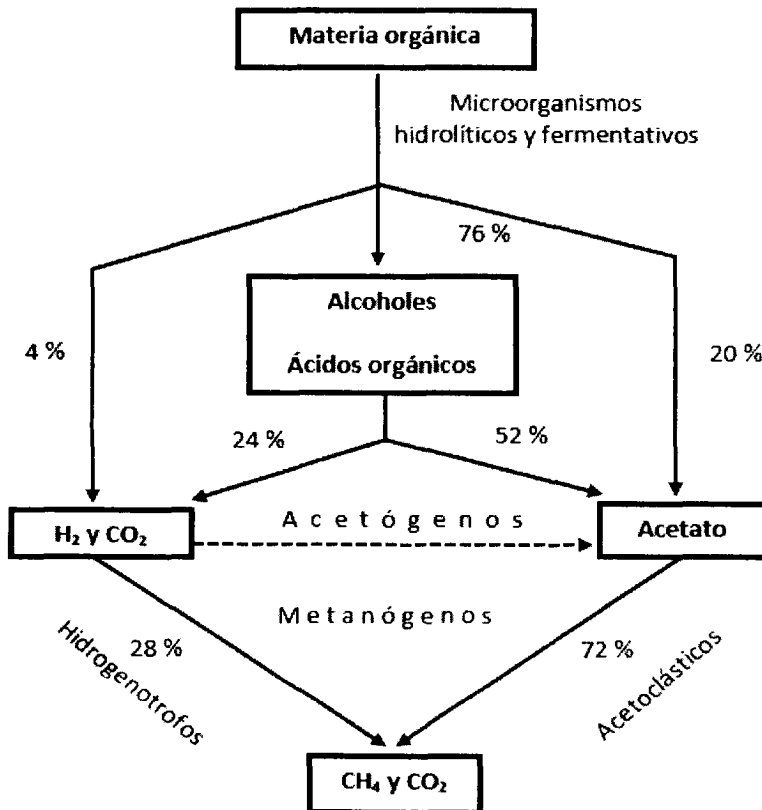


Figura 1. Digestión anaerobia de residuos contaminantes (García *et al.*, 2000).

La degradación de la materia orgánica contaminante se lleva a cabo en varias etapas que son diferentes entre sí, entre ellas la hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis.

### **1.7.1 Hidrólisis**

La etapa de hidrólisis involucra la transformación de compuestos orgánicos de alto peso molecular como proteínas, carbohidratos, grasas y ácidos nucleicos, en compuestos menos complejos. Por tanto se define como la descomposición biológica de polímeros orgánicos a monómeros y dímeros, los cuales son capaces de penetrar la membrana celular (Gavala *et al.*, 2003). La hidrólisis de biopolímeros es llevada a cabo regularmente por enzimas extracelulares (hidrolasas) las cuales se encargan de romper enlaces específicos con ayuda de moléculas de agua para obtener moléculas más pequeñas (azúcares, proteínas y grasas), que son utilizadas por los microorganismos como fuente de energía y nutrición. La descomposición de azúcares es llevada a cabo por enzimas sacarolíticas, mientras que las proteínas son degradadas por un conjunto de enzimas proteolíticas, conocidas también como proteasas; los lípidos son hidrolizados por lipasas. Por otra parte la transformación de la celulosa y la hemicelulosa es llevada a cabo más lentamente que la descomposición de las proteínas. La velocidad de descomposición durante la etapa de hidrólisis depende en gran medida de la naturaleza del sustrato (Adekunle y Okolie, 2015).

### **1.7.2 Acidogénesis**

Los productos metabólicos de la hidrólisis son utilizados como sustratos en la acidogénesis, en la que azúcares, aminoácidos y péptidos son fermentados hasta alcoholes (R-OHs) como etanol y butanol, ácidos grasos de cadena corta (AGVs) tales como acético, propiónico, butírico, valérico, ácido fórmico, etc., e H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Por ejemplo, cuando la fermentación ocurre a partir de un carbohidrato como la glucosa, ésta es transformada vía glucólisis o vía Entner-Doudoroff en piruvato, a partir del cual a través de diferentes mecanismos formarán productos finales como lactato, acetato, etanol, etc. La cantidad H<sub>2</sub> producido en esta etapa como un producto intermediario influye en el tipo de productos finales durante la fermentación (Adekunle y Okolie, 2015). Los géneros involucrados en la acidogénesis son principalmente *Clostridium*, *Proteus*, *Streptococcus*, *Eubacterium*, *Butyrivibrio*, *Propionibacterium* y *Ruminococcus* (Drake, 1994).

### 1.7. 3 Acetogénesis

En la acetogénesis, todos los compuestos formados en la acidogénesis son transformados por bacterias como *Clostridium thermoaceticum*, *Acetobacterium woodii*, *Clostridium formicoaceticum*, *Peptostreptococcus*, *Syntrophomonas wolfei*, *Clostridium formicoaceticum*, *Acetobacterium woodii*, entre otras, a ácido acético, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (Almeida *et al.*, 2011). El ácido acético se produce por dos diferentes mecanismos, por bacterias acetógenas productoras obligadas de hidrógeno (OHPA), las cuales transforman ácidos grasos de cadena larga mediante  $\beta$ -oxidación, proceso por el que la longitud de la cadena va disminuyendo. Cuando los ácidos tienen números de carbonos pares darán como producto acetato, si el número es impar se formará propionato y acetato (Castilla, 2006). Se requiere que el H<sub>2</sub> producido durante la acidogénesis y acetogénesis sea utilizado, ya que las bacterias OHPA son inhibidas por este producto.

El otro mecanismo por el que se produce ácido acético es mediante la vía de Wood—Ljungdahl, también conocida como ruta reductora de la acetil-CoA. Esta vía es llevada a cabo por algunas arqueas y por bacterias productoras de acetato como *Clostridium*, permitiéndoles el uso de H<sub>2</sub> como donante de electrones y al CO<sub>2</sub> como aceptor de electrones, derivando en la síntesis de acetil-CoA y carbono celular (Ragsdale y Pierce, 2008). En esta vía el CO<sub>2</sub> se reduce a monóxido de carbono (Figura 2) y ácido fórmico, o directamente dentro un grupo formilo. Este último se reduce a un grupo metilo y posteriormente se combina con el monóxido de carbono y la coenzima A para producir acetil-CoA. En el lado del monóxido de carbono de la vía participan dos enzimas específicas, la CO deshidrogenasa y la acetil-CoA sintasa, la primera cataliza la reducción del CO<sub>2</sub> y la segunda combina el CO resultante con el grupo metilo para dar la acetil-CoA, que posteriormente es convertida en ácido acético (Diekert y Wohlfarth, 1994).

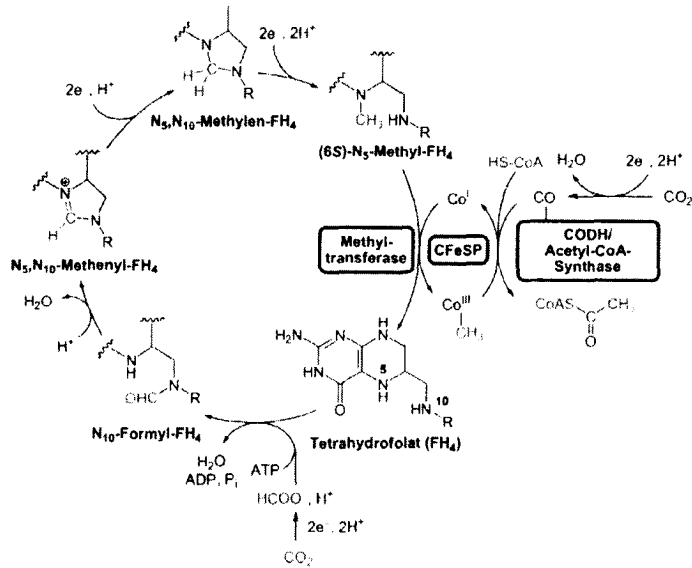


Figura 2. Vía de Wood—Ljungdahl o ruta reductora de la acetil-CoA.

### 1.7.4 Metanogénesis

La última etapa consiste en la formación de metano a partir de dos rutas principales: la hidrogenotrofa y la acetoclástica (Demirel y Scherer, 2008). Los metanógenos son un grupo especial de microorganismos, pertenecen al dominio Archaea; entre sus coenzimas únicas pueden citarse la F<sub>420</sub> y la F<sub>430</sub>. Los metanógenos son anaerobios estrictos que crecen principalmente en sustratos tales como H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> (hidrogenotrofos) y acetato (acetoclásticos) (Hassan y Nelson, 2012, Garcia *et al.*, 2000). En la Figura 3 se muestra la ruta metabólica de la metanogénesis hidrogenotrofa que es llevada a cabo por bacterias como *Methanobacterium formicicum*, *Methanospirillum hungatei*, *Methanobrevibacter sp.*, entre otras (Ferry, 1993); en ésta el CO<sub>2</sub> es reducido a CH<sub>4</sub>, utilizando como donador de electrones al H<sub>2</sub>. Como primer paso se tiene la activación del CO<sub>2</sub> a N-formilmetanofurano, el cual es transferido a una enzima que contiene metanopteroína, posteriormente es deshidratado formando metileno y reducido dando un metilo, este grupo metilo es transferido de la metanopteroína a la CoM, finalmente el metil-CoM es reducido a metano catalizado por una metil reductasa (Castilla, 2006).

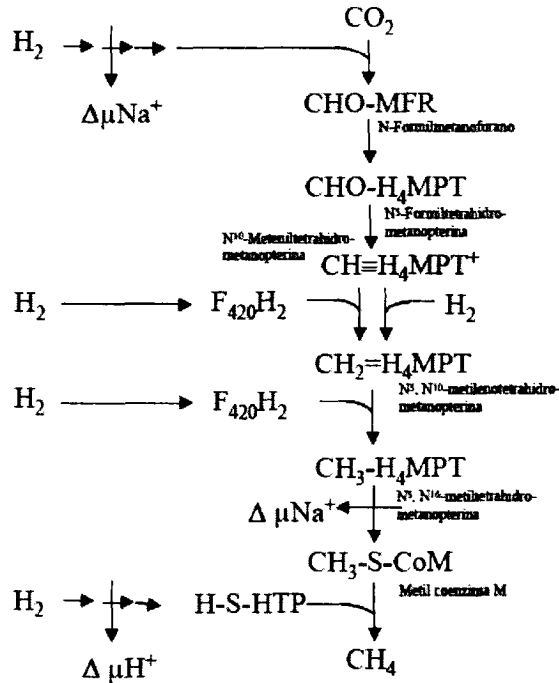


Figura 3. Síntesis de CH<sub>4</sub> a partir de CO<sub>2</sub> (Thauer, 1993).

Por otra parte la ruta metabólica de la metanogénesis acetoclástica es llevada a cabo por Arqueobacterias entre ellas *Methanosarcina barkeri* y *Methanosaeta thermophila* (Ferry, 1993). Como se muestra en la figura 4, el acetato es activado a acetil-CoA, seguido de un rompimiento de los enlaces carbono-carbono y carbono sulfuro, que es catalizado por el complejo enzimático monóxido de carbono deshidrogenasa (CODH). Posteriormente el componente níquel/ion-sulfuro del complejo oxida el grupo carbonilo hasta CO<sub>2</sub> reduciendo una ferredoxina. Mientras que el grupo metilo es transferido al otro componente del complejo enzimático (cobalto/ion-sulfuro) y posteriormente a la coenzima CH<sub>3</sub>-S-CoM, que es finalmente desmetilada produciendo CH<sub>4</sub>. Este paso es catalizado por una metil reductasa (CH<sub>3</sub>-S-CoM), los electrones utilizados en esta última reducción son derivados de átomos de

sulfuro de  $\text{CH}_3\text{-SCoM}$  y  $\text{HS-HTP}$  (7-mercaptoheptanoiltreonina fosfato) con la formación de  $\text{CoM-S-S-HTP}$  (Ferry, 1993; Castilla, 2006).

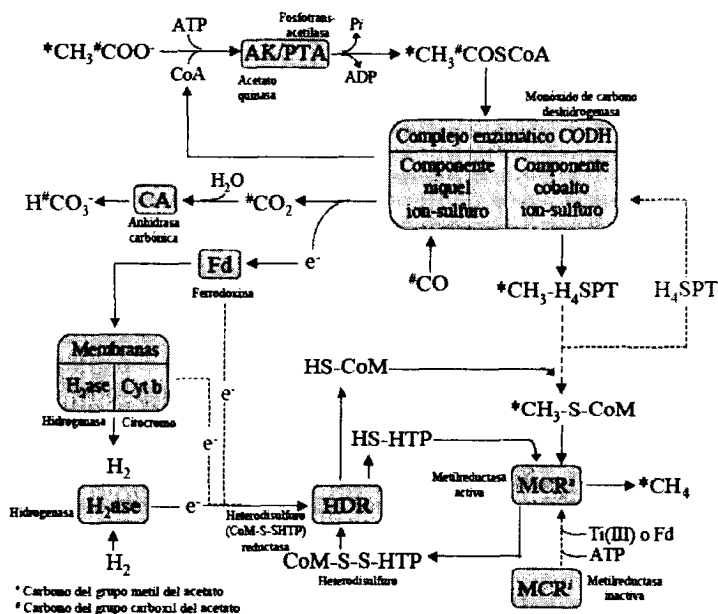


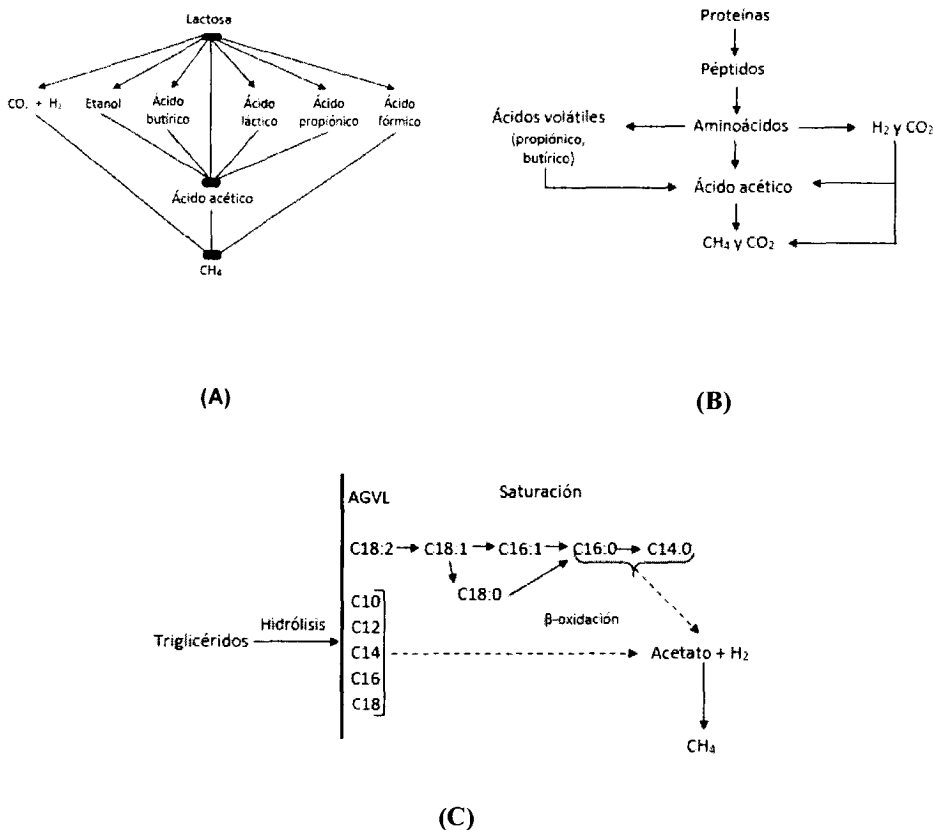
Figura 4. Síntesis de  $\text{CH}_4$  a partir de acetato (Ferry, 1993).

## 1.8 Digestión anaerobia de los principales componentes del lactosuero

### 1.8.1 Lactosa

La lactosa es un disacárido que se puede hidrolizar a sus dos hexosas, galactosa y glucosa (Kissalita *et al.*, 1989). De acuerdo a lo reportado por Hassan y Nelson (2012), la vía Entner-Doudoroff es la más utilizada por las bacterias para la degradación anaerobia de la lactosa a distintos intermediarios, que posteriormente le darán paso a la formación de acetato y finalmente a  $\text{CH}_4$ . Esta vía produce piruvato y NAD reducido (NADH), que son transformados en ácido láctico, acético, etanol y otros metabolitos (Figura 5A), aunque reportan que el ácido acético es el mayor de los intermediarios (> 70%). Los géneros de bacterias como *Leuconostoc mesenteroides*, *Klebsiella oxytoca* y *Clostridium butyricum* son

los encargados de llevar a cabo este proceso. Existen una gran cantidad de bacterias involucradas en la fermentación de la lactosa, pero específicamente *Leuconostoc* la fermenta a glucosa, acetato y etanol. Mientras que *Clostridium* a ácido butírico, ácido acético, etanol, hidrógeno y CO<sub>2</sub>. Por su parte, *Clostridium propionicum* es un acetógeno que produce acético, propiónico, H<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub>. Cabe mencionar que la acumulación de los diferentes productos intermedios procedentes de la fermentación de lactosa causa inhibición a los microorganismos metanogénicos.



**Figura 5.** Vías que pueden seguir la lactosa (A), las proteínas (B) y las grasas (C) durante su transformación a distintos intermediarios y finalmente a CH<sub>4</sub> (Hassan y Nelson, 2012).



### 1.8.2 Proteínas

La hidrólisis de las proteínas residuales presentes en el lactosuero es más lenta que la de los carbohidratos e inicia hasta que estos se han agotado (Yu y Fang, 2001), además depende de la adaptación de los microorganismos a la caseína (Hassan y Nelson, 2012). Las proteínas se hidrolizan por las proteasas extracelulares en péptidos que a su vez son degradados por peptidasas a aminoácidos, posteriormente los aminoácidos son degradados por diferentes vías a diversos productos como ácidos orgánicos, amoníaco, CO<sub>2</sub>, y a pequeñas cantidades de H<sub>2</sub> (Figura 5B), asimismo a compuestos que contienen azufre. En la oxidación de un aminoácido, el aceptor de electrones puede ser otro aminoácido (reacción Stickland), sin embargo reportan que el 60% de los aminoácidos provenientes de la caseína no sirven como aceptores de electrones para la degradación. Las bacterias involucradas en la hidrólisis de las proteínas son: *Clostridium* spp, *Peptostreptococcus*, *Campylobacter* spp, *Acidaminococcus fermentans*, *Aminobacter hydrogenoformans*, entre otras.

### 1.8.3 Grasas

La hidrólisis de grasas contenidas en productos lácteos, es llevada a cabo por lipasas a través de bacterias acidogénicas de la clase Clostridia y Micrococci. Estas degradan las grasas a productos como glicerol y ácidos grasos de cadena larga (AG), que a su vez son degradados hasta acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> (Figura 5C) por medio de la β-oxidación de los ácidos grasos saturados, donde los AG son hidrolizados a dos carbonos. Este proceso se repite hasta que todos los AG han sido reducidos a acetyl-CoA y 1 mol de propionil-CoA/mol de AG. Posteriormente el propionato es descarboxilado hasta acetato, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub> (Hassan y Nelson, 2012). El rendimiento de CH<sub>4</sub> que se alcanza por la degradación de grasas es mayor que con proteínas o carbohidratos, pero debido a su alta hidrofobicidad, las grasas son absorbidas al interior de las células, limitando el acceso de otros sustratos, llevando al lavado de la biomasa por flotación en los sistemas de depuración.

### 1.9 Antecedentes

Se ha estudiado la degradación anaerobia de una amplia variedad de efluentes con alta concentración de materia orgánica, como son los de lixiviados provenientes del composteo

de la fracción orgánica de desechos sólidos municipales (Gan, 2010), de plantas refinadoras de aceites (Fernández *et al.*, 2010) y mataderos (Muñoz, 2005), de la industria textil (Briones *et al.*, 2002), del café (Guardia, 2012) y vinazas (Bermúdez-Savón *et al.*, 2000), entre otros.

Asimismo se reportan estudios para efluentes de la industria láctea, los que en mayor proporción se han realizado empleando digestión anaerobia en una etapa, es decir llevando a cabo la hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis en un único sistema. Una menor cantidad de estudios se han realizado utilizando la configuración en dos etapas, que implica llevar a cabo la acidogénesis y la metanogénesis en sistemas físicamente separados, pero que pueden ser operados en serie.

### **1.9.1 Digestión anaerobia de lactosuero en una etapa**

Yan *et al.* (1988) evaluaron el tratamiento de lactosuero en un reactor UASB de 17.5 L, operado en un intervalo de 5 a 10 d de tiempo de retención hidráulico (TRH). Mencionan que la tasa de producción de CH<sub>4</sub> decreció a medida que disminuyó el TRH (5.6 LCH<sub>4</sub>/g DQO-d). En general, alcanzaron más del 98% de eliminación de la DQO alimentada. En 1989, los autores evaluaron el tratamiento anaeróbico de lactosuero en un reactor de las mismas características que el anterior, sin embargo a un TRH constante de 5 días; incrementaron la DQO en el influente de 4.5 a 38.1 g/L, correspondientes a una carga orgánica volumétrica (COV) de 0.91 a 7.7 g DQO/L-d. Encontraron que de los 38.1 g DQO/L alimentados, más del 97% se redujo, pero a esta última concentración se observó inestabilidad en el reactor.

Posteriormente Rico *et al.* (1991), operaron un reactor UASB de 4 L, alimentado con aguas residuales de la industria quesera a una COV de 31 g DQO/L-d, encontraron una reducción de la DQO cercana al 90%. Cuando esporádicamente incrementaron la COV a 45 g DQO/L-d una reducción entre el 70 y 80% fue observada; durante la operación normal en el efluente sólo encontraron ácido acético y propiónico en concentraciones bajas (0.01–0.02 g/L), en periodos de inestabilidad además de estos se presentaron ácido butírico y valérico. Mencionan que una vez que se desarrolló una población microbiana madura en el reactor este operó con estabilidad. Señalan que el reactor fue suplementado con bicarbonato a fin de mantener la capacidad amortiguadora en el sistema.

Por otro lado, Kalyuzhnyi *et al.* (1997) evaluaron el desempeño de un reactor UASB a escala piloto a diferentes temperaturas. Encontraron una eficiencia de remoción del 90% de la DQO a una COV de 28.5 y 9.5 g DQO/L-d bajo condiciones mesofílicas (35°C) y submesofílicas (20-30°C), respectivamente. Mientras que a temperatura ambiente (24°C) alcanzó el 95% de eficiencia de remoción a una COV de 6.5 g DQO/L-d. Cabe mencionar que mantuvieron una concentración de AGVs por debajo de 0.5 g/L en el efluente, para asegurar eficiencias de remoción por arriba del 90%.

Por otra parte, en la última década la implementación de nuevos sistemas de tratamiento o la modificación de los ya existentes, así como las estrategias que se han utilizado para la degradación de lactosuero han ido cambiando. Un reactor operado en ciclos de 8 horas con concentraciones de 500 a 4000 mg DQO/L (COV de 0.6 a 4.8 mg DQO/L-d) fue implementado por Mockaitis *et al.* (2006), obteniendo eficiencias de remoción alrededor del 90% en todas las concentraciones ensayadas. A concentraciones de 2000 y 4000 mg/L observaron la formación de un polímero viscoso que provocó la flotación de la biomasa. Mientras que en el estudio reportado por Gannoun *et al.* (2008), realizaron un pretratamiento que consistió en la acidificación de lactosuero con un cultivo axénico de *Lactobacillus paracasei* y neutralizado posteriormente con cal; lo anterior seguido de un tratamiento en un filtro anaerobio de flujo ascendente. En el pretratamiento obtuvieron eficiencias de remoción de la DQO y SST del 50 y 60% respectivamente, mientras tanto, en el filtro operado a un TRH de 2 días y una COV de 15 g DQO/L-d alcanzaron una eficiencia de remoción del 80 al 90 %; sin embargo, al aumentar la COV a 20 g DQO/L-d el prototipo se desestabilizó y redujo la eficiencia de remoción hasta un 72%. Reportan una productividad de metano de 0.47 a 1.15 L/d.

Por su parte Arango y Sanches (2009) evaluaron el rendimiento y la capacidad de un reactor anaerobio UASB para remover la materia orgánica contenida en suero de queso. El reactor UASB se operó a un TRH de 1.3 d, probaron concentraciones de 2.3 a 24.8 g DQO/L-d, la eficiencia de remoción fue del 98% de la DQO, cuando elevaron la carga a 18.6 g DQO/L-d la remoción disminuyó hasta 77%. En el estudio, la producción máxima de CH<sub>4</sub> fue de 0.27 L/d, con un contenido del 56% de éste en el biogás. El influente de este reactor presentó concentraciones de NT y PT mayores que el efluente del reactor, indicando el consumo de

ambos. Mientras que Parra (2010) estableció el comportamiento de un sistema de depuración anaerobio al que se le aplicaron en diferentes tiempos altas cargas puntuales de lactosuero; utilizó lactosuero ácido, el cual se alimentaba a un biofiltro anaerobio (TRH 1.9 d) seguido de un reactor UASB (TRH = 2.9 d). Probó 3 cargas constantes de materia orgánica 5200, 7800 y 10500 mg DQO/L-d; en cada carga se aplicaron 3 cargas puntuales de lactosuero ácido superiores a las cargas constantes (5700; 26300 y 34200 mg DQO/L-d, respectivamente), las eficiencias de remoción variaron de 65 hasta un 67% para la degradación de DQO. Las cargas puntuales no mostraron efectos negativos obteniendo eficiencias de remoción del 80%. Por otra parte, Guerrero-Rodríguez *et al.* (2012) evaluaron la degradación anaerobia de dos tipos de lactosuero (ácido y del producido después de la elaboración de requesón), empleando reactores UASB, los cuales se operaron a un TRH de 1 día y una concentración de 1.0 g DQO/L, la eficiencia de remoción promedio para el lactosuero ácido fue de 76% y para el de requesón del 77%, con una producción de CH<sub>4</sub> de 0.33 y 0.34 L/día, respectivamente. Posteriormente en el estudio se aumentó la concentración a 2.5 g DQO/L, pero las eficiencias de remoción disminuyeron significativamente, siendo de 33.7% para el lactosuero ácido y del 56 % para el de requesón.

Recientemente Parra y Campos (2014) probaron dos COVs (3 y 4 g DQO/L-d), en ambas evaluaron el comportamiento de proteínas, azúcares, AGVs, CH<sub>4</sub> y amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Alcanzaron una eficiencia de remoción de la DQO de 79 y 66%, la degradación de azúcares fue del 100% en ambas cargas, la degradación de proteína fue mayor de 78%, mientras que los AGVs mayoritarios fueron ácido acético (45 y 90%), ácido butírico (43 y 8%) y ácido propiónico (12 y 2%), la producción de CH<sub>4</sub> fue de 3.5 y 0.4 L/d. Por otra parte el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> presentó una degradación del 80%.

### **1.9.2 Digestión anaerobia de lactosuero en dos etapas**

A pesar de los múltiples estudios mencionados, la mayoría coincide en que al aumentar la carga orgánica de lactosuero, el proceso de metanogénesis se acidifica debido a la acumulación de los productos intermediarios provenientes de la acidogénesis y a la baja alcalinidad de bicarbonato, por lo que una alternativa que se está estudiando es el proceso de acidogénesis/metanogénesis.

En la acidogénesis se busca obtener la transformación de materia orgánica a diferentes AGVs y otros intermediarios entre estos alcoholes. Al respecto Kissalita *et al.* (1989) evaluaron la influencia de la tasa de dilución sobre la distribución de los productos intermediarios de la degradación de lactosa de suero de leche en condiciones acidogénicas. Para ello utilizaron un reactor anaerobio con agitación, con pH de 4.5 y 6.0 y a una temperatura de 35°C. Los principales productos intermediarios fueron el ácido acético, propiónico, butírico y láctico. Por otra parte se detectó ácido fórmico, *i*-butírico, *i*-valérico, valérico, caproico y etanol en cantidades menores y presentó una eficiencia de remoción del 85% para lactosa. Posteriormente, Ince (1998) estudió la degradación de aguas residuales de productos lácteos en un sistema anaerobio de dos fases. En la fase acidogénica el reactor operó a un TRH de 0.5 d y en la metanogénica de 1.5 d, a una COV de 5 g DQO/L-d; la eficiencia de remoción fue del 90% para DQO y de 95% para DBO. El reactor acidogénico toleró 23 g DQO/L con eficiencias de conversión del 61%, los AGVs formados fueron ácido acético, propiónico, butírico, valérico y caproico. Por su parte, el reactor metanogénico soportó 7 g DQO/L con eficiencias de remoción superiores al 90%, por lo que los AGVs producidos durante acidogénesis fueron consumidos en la metanogénesis exitosamente.

Por otro lado, Horiuchi *et al.* (2002) reportan la producción de ácidos orgánicos en un reactor acidogénico anaerobio con control de pH. El reactor fue operado a un TRH de 12 h, con temperatura de 37°C y distintos niveles de pH (5 a 8). Encontraron que a niveles de pH entre 5.0 y 7.0, los principales productos formados fueron ácido butírico y acético, mientras que a un pH de 8.0 la concentración de ácido acético fue 3.3 veces más alta, seguido de ácido propiónico. Encontraron que la producción de etanol fue baja en todos los pH ensayados. Debido a los resultados obtenidos mencionan que el pH es una medida eficaz para la producción selectiva de los diferentes ácidos orgánicos. Esto coincide con el estudio de Yu y Fang (2002), quienes señalan el efecto del pH sobre la acidogénesis de aguas residuales lácteas, los autores operaron un reactor UASB a un TRH de 12 h, con un intervalo de pH de 4.0 a 6.5 y una temperatura de 37°C, el cual mostró que la formación de ácido acético, propiónico y etanol fueron favorecidos a un pH de 6.0 a 6.5; mientras que a un pH de 4.0 a 4.5 los que se formaron mayoritariamente fueron el ácido acético y butírico.

En la metanogénesis se busca degradar los diferentes AGVs y otros intermediarios provenientes de la acidogénesis hasta  $\text{CH}_4$ , esto en un proceso conjunto o acoplado como se muestra en el estudio de Saddoud *et al.* (2007), quienes implementaron para el tratamiento de suero de queso dos reactores anaerobios operados en serie y con agitación, el primero consistió en un reactor acidogénico seguido de uno metanogénico, este último acoplado a un sistema de filtración por medio de una membrana para la retención de sólidos y la obtención de un efluente clarificado. El reactor acidogénico se mantuvo a un TRH de 1 día, pH de 6.5 y una COV de 10 a 70 g/L-d aproximadamente; el efluente alcanzó una concentración de 5 g/L de AGVs, de los cuales el 63.7% fue ácido acético y 24.7% ácido propiónico, el pH decreció a niveles entre 3 y 4. El reactor metanogénico, recibió una carga orgánica de 19.8 g DQO/L-d, a un TRH de 4 d con un promedio de eliminación de la DQO y  $\text{DBO}_5$  de 79 y 83%, respectivamente y la producción de  $\text{CH}_4$  fue de 0.31 L/g DQO<sub>degradada</sub>.

Igualmente, Göblös *et al.* (2008) evaluaron la degradación de dos diferentes residuos (suero ácido en bruto y suero de leche fermentado) en reactores en lote con el fin de encontrar las condiciones óptimas para la producción de etanol y biogás y no controlaron el pH. El TRH fue de 5 a 40 d, mientras que la DQO varió de 1.6 a 12.8 g/L-d, presentó eficiencias de remoción del 68%, para los reactores alimentados con leche cruda y de 80% para los alimentados con el suero pre-fermentado, alcanzando una producción de  $\text{CH}_4$  de 0.12 y 0.19 L  $\text{CH}_4$ /g DQO<sub>degradada</sub> respectivamente; mencionan que el efluente al término del tratamiento presentó concentraciones altas de  $\text{NH}_4^+$ , por lo que se sugiere un pos-tratamiento. Antonopoulou *et al.* (2008) estudiaron la factibilidad de producir  $\text{H}_2$  y  $\text{CH}_4$  a partir de la fermentación de suero de leche en un reactor tanque agitado a 35°C y un TRH de 1 d. En este reactor los carbohidratos contenidos en el suero fueron fermentados a ácidos orgánicos, los productos mayoritarios fueron ácido acético, ácido butírico y láctico; el etanol se encontró en menor proporción y una mezcla de gas rico en  $\text{H}_2$  fue encontrada (7.53 L/d). El efluente de este reactor fue tratado en un reactor metanogénico, la producción de biogás fue de 105.9 L/d, del que 75.6 L/d fueron de  $\text{CH}_4$ , con un rendimiento de 0.3  $\text{m}^3$ /Kg DQO. Concluyen que la producción de  $\text{H}_2$  y  $\text{CH}_4$  en un proceso continuo (dos etapas), es posible y estable a un TRH de 1 y 4.4 d, respectivamente en condiciones mesófilas.

Por otra parte, en dos etapas pero para evaluar la degradación de suero de queso sólo para la producción de  $H_2$  y  $CH_4$  controlando el pH, Venetsaneas *et al.* (2009) reportaron la operación de dos digestores anaerobios en condiciones mesófilas, el primero para la producción de  $H_2$  por fermentación operó a un TRH de 1 d, con un pH constante de 5.2, alcanzando una producción de  $H_2$  de 2.9 L/LR-d; a partir de una concentración de 15 g DQO/L, los AGVs fueron ácido acético, butírico y láctico, además de etanol en menor concentración. El segundo digestor lo implementaron para la producción de  $CH_4$  y se alimentó con el efluente del primero, obtuvieron a un TRH de 20 d una producción de  $CH_4$  de 1.0 L/d, alcanzando una remoción de la DQO del 95.3%. Estudios posteriores como el de Diamantis *et al.* (2014) evaluaron la configuración de tres tratamientos anaerobios de suero de queso, sin embargo, el periodo dos correspondió a la operación de un sistema en dos etapas, donde un reactor de tanque agitado continuo con tanque de sedimentación fue acoplado a un reactor UASB. Este sistema se operó a un TRH global de 0.88 d, a una temperatura de 30°C y una DQO de 8.9 g/L (22.2 g DQO/L-d). La acidogénesis presentó una eficiencia de conversión a los diferentes AGVs del 50% y una eficiencia de remoción del 78% en la metanogénesis; concluyen que la configuración de dos etapas fue favorable a comparación de los sistemas de una sola etapa.

## **2. Justificación**

Debido a que muchas industrias lácteas incluyendo las queseras no cuentan con recursos necesarios para la revaloración del lactosuero, lo desechan al alcantarillado, corrientes superficiales u otros cuerpos de agua sin ningún tratamiento previo causando contaminación. Esta problemática se da en el estado de Tlaxcala así como en muchas otras entidades del país. Estudios realizados a nivel nacional e internacional, reportan que el tratamiento por digestión anaerobia es eficaz para reducir la concentración de materia orgánica contenida en este residuo. Sin embargo, se conoce que el pH es un factor limitante en la degradación, que junto con otras condiciones como las altas cargas orgánicas, TRH cortos, o reactores convencionales, donde la retención de la biomasa es limitada, puede presentarse una rápida acidificación causada por la acumulación de los diferentes AGVs que se forman, llevando a efectos negativos sobre las arqueobacterias metanogénicas que son las responsables del proceso final de degradación. Por lo que en este trabajo se estudió la degradación de la materia orgánica del lactosuero por digestión anaerobia, separada en dos fases (acidogénesis/metanogénesis), buscando mejorar el proceso en términos de eficiencias de remoción del contaminante y de un aumento en la capacidad del volumen tratado, ya que son escasas las investigaciones que han dividido el proceso para el tratamiento de este residuo (Ince, 1998; Saddoud *et al.*, 2007; Venetsaneas *et al.*, 2009; Diamantis *et al.*, 2014). Así, el presente estudio pretende contribuir con información sobre una opción de tratamiento para las industrias queseras, sobre todo aquellas de tipo artesanal o de traspatio que frecuentemente son las que cuentan con menos recursos para la revalorización o el manejo de este desecho.



### **3. Hipótesis**

El empleo de un sistema anaerobio acidogénico/metanogénico en serie, empleando reactores híbridos operados a cortos TRH, será adecuado para degradar altas concentraciones de materia orgánica (>10 g/L) contenida en el lactosuero ácido, alcanzando eficiencias de remoción del 80 al 90%.

### **4. Objetivos**

#### **4.1 Objetivo general**

Evaluar la degradación anaerobia en dos etapas (acidogénesis/metanogénesis) de lactosuero ácido proveniente del estado de Tlaxcala, para reducir su impacto ambiental.

#### **4.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar diversos lotes de lactosuero ácido proveniente del estado de Tlaxcala.
- Evaluar la acidogénesis (transformación a ácidos grasos volátiles y alcoholes) de la materia orgánica presente en el lactosuero, en un reactor UASB-híbrido.
- Evaluar la metanogénesis de los productos de la acidogénesis, en un reactor UASB-híbrido.

## **5. Metodología**

### **5.1 Caracterización de lactosuero**

Diferentes lotes de lactosuero se obtuvieron de una quesería del estado de Tlaxcala, estos se almacenaron a 4°C hasta su análisis en laboratorio. A cada lote se le determinó la concentración de  $DQO_{total}$  y  $DQO_{soluble}$ ,  $DBO_5$ , contenido de ST y suspendidos, AGVs, alcoholes (R-OHs), carbono orgánico total (COT), grasas y aceites, NT,  $NH_4^+$ , proteínas, PT, ortofosfatos ( $PO_4^{-3}$ ) y pH.

### **5.2 Acidogénesis de lactosuero**

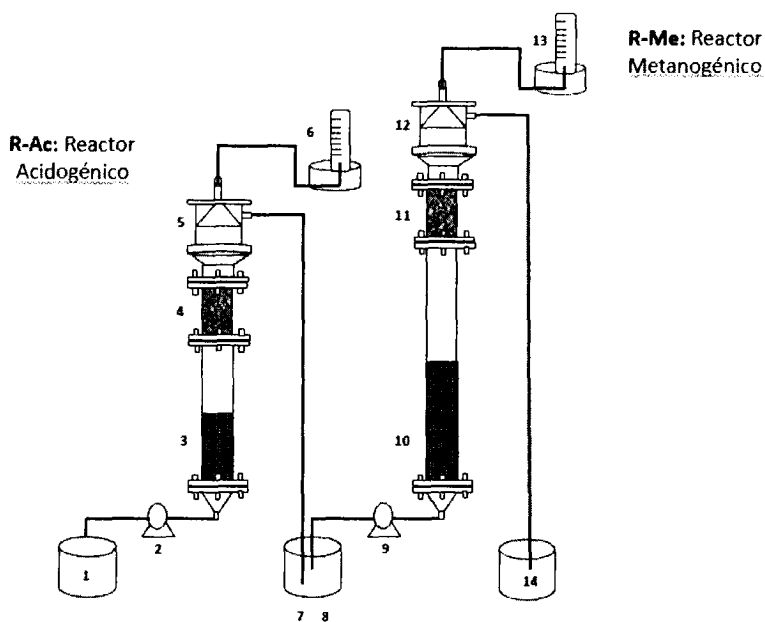
Con la finalidad de evaluar la acidogénesis de lactosuero, se instaló un reactor de acrílico tipo UASB-híbrido (Figura 4), de un volumen de 2.7 L y se empacó en la parte superior con 280 g de zeolita de diámetro entre 0.5mm y 13 mm ( $\phi$  promedio = 9 mm). Se inoculó con 640 mL de lodo anaerobio conteniendo 28.2 g SSV/L, proveniente de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. En el reactor los microorganismos acidogénicos se seleccionaron al someterlos a condiciones ácidas, esto alimentando lactosuero a un pH de  $4.4 \pm 0.08$  durante 54 días. La concentración de materia orgánica alimentada en esta etapa de selección fue de  $1.2 \pm 0.02$   $DQO_{total}/L$  y el TRH se fijó en 0.5 d.

### **5.3 Metanogénesis**

Para evaluar la metanogénesis, se instaló un reactor de acrílico UASB-híbrido, de un volumen de 4.3 L, también empacado con zeolita (Figura 6). Se inoculó con 960 mL de lodo anaerobio con un contenido de SSV de 28.2 g/L, de la misma fuente de origen que el empleado en la acidogénesis. En el reactor los microorganismos metanogénicos se alimentaron con lactosuero a una concentración de materia orgánica de  $1.25 \pm 0.01$   $gDQO_{total}/L$  y a un pH de 7.0, el cual se ajustó con NaOH 3 mM, adicionándole posteriormente por litro 2 g de bicarbonato de sodio ( $NaHCO_3$ ); el TRH de operación para este reactor se fijó a 0.75 d, sin embargo el día 34 se incrementó a 1 d, operándose así hasta los 54 días.

### 5.3 Acidogénesis/metanogénesis de lactosuero

Seleccionados los microorganismos acidogénicos y adaptado a los metanogénicos en cada uno de los reactores anteriormente mencionados, se inició la operación en serie de los reactores para evaluar la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero, es decir el efluente del reactor empleado para la acidogénesis se utilizó como influente del reactor destinado a evaluar la metanogénesis (Figura 6). La acidogénesis/metanogénesis fue evaluada por 277 días en los que se fueron aumentando las concentraciones de materia orgánica de  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.5 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L. El pH del influente en el reactor para la acidogénesis se varió de 4.0 a 7.5 para mantener el efluente a no menos de 4.0 y el TRH se mantuvo en 0.5 d. En el reactor para la metanogénesis el TRH se varió de 0.75 d hasta 2.5. Los reactores se mantuvieron a una temperatura de  $21.6 \pm 0.6$  °C.



**Figura 6.** Esquema de los reactores anaerobios UASB-híbridos (proceso acidogénico/metanogénico) operados en serie. 1) Influyente del R-Ac; 2) Bomba peristáltica; 3) Cama de lodos acidogénicos; 4) Empaque de zeolita; 5) Separador de biogás; 6) Medidor de biogás; 7) Efluente del R-Ac; 8) Influyente del R-Me; 9) Bomba peristáltica; 10) Cama de lodos metanogénicos; 11) Empaque de zeolita; 12) Separador de biogás; 13) Medidor de biogás; 14) Efluente del R-Me.

## 5.5 Monitoreo de la acidogénesis y metanogénesis en los reactores

Para evaluar el desempeño de la acidogénesis y metanogénesis en los reactores, estos se monitorearon tres veces por semana a través del análisis de la  $DQO_{total}$ ,  $DQO_{soluble}$ , AGVs (ácidos acético, propiónico, *i*-butírico, butírico, *i*-valérico, valérico y caproico), R-OHs (etanol, propanol y butanol), pH, relación de alcalinidad, producción de biogás (reactor para la acidogénesis) y producción de  $CH_4$  (reactor para la metanogénesis). Asimismo se monitoreó la evolución de nutrientes  $NH_4^+$  y  $PO_4^{3-}$ .

## 5.6 Técnicas analíticas

### 5.6.1 Demanda química de oxígeno

La DQO se define como la cantidad de oxígeno equivalente a la materia orgánica contenida en una muestra que es susceptible a oxidación por un oxidante fuerte, llevada a cabo en condiciones ácidas. Se reporta como la cantidad equivalente de oxígeno expresado en  $mgO_2/L$  (Tetra y Laval, 1996). El método empleado fue colorimétrico, por reflujos cerrados de acuerdo con lo establecido en el método 5220 D del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA-AWWA-WEF, 2005). La  $DQO_{total}$  se analizó directamente de la muestra, para el análisis de la  $DQO_{soluble}$  la muestra fue previamente filtrada. Para la cuantificación de éstas y los siguientes compuestos determinados por colorimetría se realizaron sus respectivas curvas estándar, de las que se obtuvo la pendiente ( $m$ ), ordenada al origen ( $b$ ) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) como se muestran en la Tabla 5.

### 5.6.2 Carbono orgánico total

El contenido de carbono orgánico total (TOC), se determina mediante la oxidación del carbono orgánico que está presente en la muestra. El carbono forma dióxido de carbono, el cual se difunde a través de una membrana para llegar a una solución indicadora. El cambio de color de dicho indicador fue evaluado fotométricamente como se indica en el método de HACH 10129. Este método utiliza como agente oxidante persulfato.

### **5.6.3 Carbohidratos**

La determinación de los carbohidratos se realizó por la técnica del fenol sulfúrico (colorimétrica), donde los carbohidratos son destruidos por calor y condiciones ácidas, ya que son particularmente sensibles a ácidos fuertes y altas temperaturas. Bajo estas condiciones una serie de reacciones complejas toman lugar empezando con una deshidratación simple, al continuar con el calentamiento y la catálisis ácida se producen varios derivados del furano que condensan consigo mismos y con otros subproductos para producir compuestos oscuros o compuestos coloridos producto de la condensación de compuestos fenólicos y con heterociclos con el nitrógeno como heteroátomo. La condensación más común es con fenol (Técnicas analíticas, 2008). Los parámetros de la curva estándar se muestran en la Tabla 5.

### **5.6.4 Nitrógeno total (NT)**

Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica combinada con la oxidación de carbono a dióxido de carbono. El nitrógeno orgánico es transformado a amoníaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio. La velocidad del proceso puede incrementarse adicionando sales que abaten la temperatura de descomposición (sulfato de potasio) o por la adición de oxidantes (peróxido de hidrógeno, tetracloruro, persulfato o ácido crómico) y por la adición de un catalizador (Técnicas analíticas, 2008). El NT fue analizado mediante el método HACH 10072.

### **5.6.5 Amonio**

La determinación de  $\text{NH}_4^+$  se llevó a cabo por el método del fenato como se establece en el método 4500-NH<sub>3</sub> F (APHA-AWWA-WEF, 2005). Está basado en la reacción con hipoclorito de sodio en presencia de fenol, formando inicialmente una monocloramina y después un compuesto azul de indofenol, el color se desarrolla en la oscuridad en un lapso de tiempo de dos horas, los parámetros de la curva estándar se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Parámetros de las curvas estándar de los métodos de análisis colorimétricos.

	<i>m</i>	<i>b</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>X</i>
<sup>a</sup> DQO	0.0003	0.001	0.9998	mg/L
<sup>b</sup> Carbohidratos	0.0108	0.0111	0.9961	mg/l.
<sup>c</sup> NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.001	-0.0087	0.9994	µg/L
<sup>d</sup> Proteína total	0.0432	0.0004	0.9998	mg/mL
<sup>e</sup> Proteína soluble	0.0014	0.0023	0.9984	µg/mL
<sup>f</sup> PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	0.0002	0.0011	0.9999	µg/L
<sup>g</sup> PT	0.0002	0.0054	0.9935	µg/L

Variable de respuesta *Y* = absorbancia: a) a 620 nm. b) a 480 nm. c) a 640 nm. d) a 540 nm. e) a 550 nm. f) a 880 nm. g) a 880 nm.

### 5.6.6 Proteína total

La proteína total se analizó por el método de Biuret (Gornall *et al.*, 1949). La reacción se caracteriza por una coloración purpura, derivada de la formación de un complejo entre el Cu<sup>2+</sup> y los grupos NH de los enlaces peptídicos, a un pH alcalino. La intensidad de coloración es directamente proporcional a la cantidad de proteína total presente en la muestra (enlaces peptídicos). Para la cuantificación se realizó una curva estándar con albúmina, los respectivos coeficientes se muestran en la Tabla 5.

### 5.6.7 Proteína soluble

La proteína soluble se determinó por el método de Lowry (Lowry *et al.*, 1951). El método de Lowry combina la reacción de Biuret con la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico) por la oxidación de tirosina, triptófano, cisteína, cistina de las cadenas polipeptídicas. El proceso de óxido-reducción se acompaña de la formación de un color azul característico, es decir que los quelatos de cobre en la estructura del péptido facilitan la transferencia de electrones de los grupos funcionales amino al cromóforo ácido. Se considera un método útil para determinar concentraciones pequeñas en una disolución ya que es más sensible que el método de Biuret (Verdini, 2015).

### **5.6.8 Ortofosfatos**

Este método se fundamenta en que el  $\text{PO}_4^{-3}$  reacciona con molibdato de amonio; al agregar ácido sulfúrico y ácido ascórbico forman molibdofosfato de amonio, en esta reacción el ácido ascórbico actúa como agente reductor y como catalizador para la reducción se agrega tartrato antimonil potásico, resultando un complejo de azul de molibdeno (Contreras, 1994). Para la cuantificación se utilizó el método del ácido ascórbico 4500-P E (APHA-AWWA-WEF, 2005).

### **5.6.9 Fósforo total**

La determinación de PT está basada en una digestión con una solución de ácido sulfúrico y persulfato de potasio o persulfato de amonio, para liberar el fósforo presente en formas orgánicas y transformarlo a  $\text{PO}_4^{-3}$ . Posteriormente se cuantifica por medio del método del ácido ascórbico (APHA-AWWA-WEF, 2005), como se mencionó anteriormente para el  $\text{PO}_4^{-3}$ .

### **5.6.10 Sólidos**

La determinación de ST y SST es la expresión que se aplica a la cantidad de materia que permanece como residuo (total o filtrada, respectivamente) después de la evaporación de la humedad de la muestra a una temperatura de 103 a 105°C. Para determinar la concentración de SF y SSF, una vez sometidos a una temperatura de 103 °C y pesados, se calcinan a una temperatura de 550°C, la diferencia de peso entre los ST y SF da como resultado los SV, mientras que la diferencia entre los SST y los SSF estima el contenido de SSV de acuerdo con los métodos 2540 D y 2540 E (APHA-AWWA-WEF, 2005).

### **5.6.11 Grasas y aceites**

La cuantificación se realizó por el método establecido en la NMX-AA-005-SCFI-2013, este método se basa en la adsorción de grasas y aceites en tierra de diatomeas, las cuales son extraídas por recirculación empleando hexano como disolvente. Una vez terminada la extracción se evapora el hexano y se pesa el residuo que ha quedado en el recipiente, que es el contenido de grasas y aceites.

### 5.6.12 Ácidos grasos volátiles y alcoholes

El análisis de AGVs y R-OHs se realizó por cromatografía de gases (Cromatógrafo PerkinElmer, modelo *Clarus 580*), empleando una columna AT-1000 y un detector de ionización de flama (FID). Este método consiste en la separación de los componentes de una muestra, en la que estos se distribuyen en dos fases, una estacionaria y una móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido retenido sobre un sólido o un gel, mientras que, para la fase móvil se emplea un gas (Noa *et al.*, 2005), que puede ser preferentemente helio, aunque también se emplea nitrógeno molecular. Los AGVs analizados fueron los ácidos acético, propiónico, *i*-butírico, butírico, *i*-valérico, valérico y caproico; los R-OHs fueron etanol, propanol y butanol. Los parámetros de las respectivas curvas estándar se muestran en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Muestra la ordenada al origen (*b*), pendiente (*m*) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de los diferentes R-OHs y AGVs.  $X = \text{mM}$  de compuesto.

Compuesto (mg/L)	<i>m</i>	<i>b</i>	$R^2$
<b>Etanol</b>	176330	2087.4	0.9996
<b>Propanol</b>	319440	2767	0.9992
<b>Butanol</b>	414233	4701.4	0.9988
<b>Ácido acético</b>	128897	1013.2	0.9998
<b>Ácido propiónico</b>	188271	-1138.4	0.9999
<b>Ácido <i>i</i>-butírico</b>	483686	-1244.5	0.9999
<b>Ácido butírico</b>	461289	-4092.5	0.9999
<b>Ácido <i>i</i>-valérico</b>	507912	-4952.1	0.9999
<b>Ácido valérico</b>	490355	-2656.1	0.9999
<b>Ácido caproico</b>	642112	-7491.1	0.9999

Variable de respuesta  $Y = \text{área bajo la curva}$ . Condiciones del método de separación y cuantificación de los 10 compuestos: Columna de 75 a 180°C, inyector a 200°C y detector 200°C.



### **5.6.13 Demanda bioquímica de oxígeno**

La DBO<sub>5</sub> cuantifica la cantidad de materia orgánica (disuelta o en suspensión) contenida en una muestra líquida y que es susceptible de ser consumida u oxidada por una población microbiana heterogénea en cinco días, como se establece en el método 5210 B (APHA-AWWA-WEF, 2005). La cuantificación se realizó como se indica en la NMX-AA-028-SCFI-2001. La cuantificación del oxígeno disuelto se llevó a cabo por medio de un electrodo selectivo (HACH).

### **5.6.14 pH**

El pH es una medida de la acidez o basicidad de una solución. El pH se determinó, mediante un potenciómetro Conductronic PC 18.

### **5.6.15 Relación de alcalinidades**

Este análisis tiene la finalidad de determinar el nivel de acidificación o alcalinización del efluente de reactores empleados para metanogénesis. La relación de alcalinidades permite conocer la relación entre los carbonatos producidos, titulando a un pH de 5.75 con una solución de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 0.02 M, y de los AGVs llevando la titulación hasta un pH de 4.3. Niveles entre 0.6-0.8 indican una buena alcalinización del procesos metanogénico.

### **5.6.16 Producción y composición de biogás**

Al metano y dióxido de carbono (CH<sub>4</sub> y CO<sub>2</sub>) producidos mayoritariamente durante la digestión anaerobia se les define como biogás. El volumen producido en los reactores se determinó diariamente, por desplazamiento de una solución salina saturada con cloruro de sodio (NaCl). La composición se determinó por cromatografía de gases con detector de conductividad térmica (TCD). Este método está basado en que, el gas acarreador de alta conductividad térmica enfría el filamento del detector, que se mantiene a temperatura constante mediante la aplicación de determinado valor de corriente. Cuando un soluto pasa, arrastrado por el gas acarreador, cambia la conductividad térmica de la fase móvil y el filamento se calienta más. Este calentamiento momentáneo aumenta su resistencia,

cambiando la magnitud de la corriente que pasa a través del mismo, lo que provoca la aparición de un pico proporcional a la concentración del soluto (Noa *et al.*, 2005).

## 6. Cálculos y análisis estadísticos

### 6.1 Carga orgánica volumétrica

La carga orgánica volumétrica (COV), es la relación entre la concentración de materia orgánica en el influente y el tiempo de residencia hidráulico (TRH), para calcular la COV se utilizó la siguiente ecuación:

$$COV (g DQO/L - d) = \frac{DQO_{influyente}}{TRH}$$

Donde:

$$DQO_{influyente} = (g/L)$$

$$TRH = (d)$$

### 6.2 Eficiencia de conversión

Para calcular la eficiencia de conversión de la materia orgánica a AGVs y R-OHs en la acidogénesis se utilizó la siguiente ecuación, previo a la transformación de cada uno de los compuestos a su equivalente en DQO, donde 1 g compuesto fue equivalente a g DQO: 1.066 ácido acético, 1.5135 ácido propiónico, 1.8181 ácido *i*-butírico y butírico, 2.0372 ácido *i*-valérico y valérico y 2.2038 ácido caproico.

$$Ef. Conversión (\%) = \left[ \frac{(AGVs)_{formados} + (R-OHs)_{formados}}{(DQO_{total})_{influyente}} \right] \times 100$$

Donde:

$$AGVs = DQO \text{ equivalente a AGVs formados (g/L)}$$

$$R-OHs = DQO \text{ equivalente a R-OHs formados (g/L)}$$

DQO<sub>total</sub> = influente (g/L)

### **6.3 Eficiencia de remoción**

Esta se calcula para estimar el porcentaje de reducción de la materia orgánica, se determinó a partir de la siguiente ecuación:

$$Ef. Remoción (\%) = \left[ \frac{(DQO)_{influyente} - (DQO)_{efluente}}{(DQO)_{influyente}} \right] \times 100$$

Donde:

DQO<sub>influyente</sub> = (g/L)

DQO<sub>efluente</sub> = (g/L)

### **6.4 Estadísticos**

Los resultados de la caracterización se analizaron por estadística descriptiva a través de la obtención del mínimo, máximo, promedio y coeficiente de variación. Los referentes al tratamiento de lactosuero se presentan como medias y desviación estándar.

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Caracterización del lactosuero**

Como se muestra en la Tabla 7, el lactosuero empleado en este estudio fue ácido (pH  $4.3 \pm 0.60$ ). La interpretación de los resultados sobre la caracterización de este residuo se dividió en compuestos carbonados, nitrogenados y fosfatados.

#### **7.1.2 Carbonados**

El lactosuero presentó una alta concentración de materia orgánica,  $85.4 \pm 15.9$  g DQO<sub>total</sub>/L y  $66.5 \pm 21.7$  g DQO<sub>soluble</sub>/L (Tabla 7). La concentración de DBO<sub>5</sub> fue de  $52.9 \pm 10.0$  g/L. Los ST y SF se encontraron en  $60.5 \pm 15.2$  y  $6.3 \pm 1.7$  g/L, mientras que los SV fueron de  $49.5 \pm 23.6$  g/L. Por otra parte, el lactosuero presentó  $11.2 \pm 1.1$  g/L de SST, con un contenido de  $0.6 \pm 0.3$  g/L de SSF, así los SSV fueron  $10.6 \pm 1.1$  g/L. El contenido de COT fue de  $24.1 \pm 4.9$  g/L y representó el 28% de la DQO<sub>total</sub>. La concentración de grasas y aceites se encontró en  $3.6 \pm 1.0$  g/L. Por otro lado el lactosuero presentó un alto y variable contenido de carbohidratos ( $74.4 \pm 22.1$  g/L).

#### **7.1.3 Nitrogenados y fosfatados**

El NT tuvo una concentración de  $1.3 \pm 0.5$  g/L y el  $\text{NH}_4^+$  de  $0.06 \pm 0.3$  g/L el cual representó el 51.1% del NT. Por otra parte, la concentración de proteína total fue de  $18.6 \pm 8.7$  g/L y la proteína soluble de  $5.8 \pm 2.6$  g/L. La concentración de PT en el lactosuero fue de  $1.2 \pm 0.4$  g/L, de éste un 89.7% correspondió a  $\text{PO}_4^{3-}$  con  $1.1 \pm 0.3$  g/L.

Como se observa en la Tabla 7 todos los compuestos analizados mostraron alta heterogeneidad entre lotes (9.8 a 51.2%), resaltando los compuestos nitrogenados con coeficientes de variación entre 43.3 y 51.2%.

Tabla 7. Caracterización físico-química del lactosuero.  $\eta = 10$ .

Compuesto (g/L)	Mínimo	Máximo	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
pH	3.7	5.8	4.3	0.60	14.0
DQO <sub>total</sub>	51.7	100.9	85.4	15.9	18.6
DQO <sub>soluble</sub>	30.5	88.1	66.5	21.7	32.6
DBO <sub>5</sub>	39.6	63.6	52.9	10.0	18.9
ST	35.5	68.9	60.5	15.2	25.1
SF	3.6	9.0	6.3	1.7	27.6
SV	32.0	68.1	49.5	23.6	47.7
SST	9.3	12.1	11.2	1.1	9.8
SSF	0.3	1.1	0.6	0.3	42.1
SSV	8.9	11.8	10.6	1.1	10.1
COT	14.0	30.8	24.1	4.9	20.2
Grasas y aceites	3.0	4.8	3.6	1.0	28.2
Carbohidratos	35.5	96.5	74.4	22.1	29.8
NT	0.2	1.9	1.3	0.5	43.3
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.02	0.12	0.06	0.03	51.2
Proteína <sub>total</sub>	2.8	30.3	18.6	8.7	46.8
Proteína <sub>soluble</sub>	0.7	8.4	5.8	2.6	44.6
PT	0.5	1.7	1.2	0.4	29.0
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>	0.5	1.6	1.1	0.3	27.4

## 7.2 Acidogénesis de lactosuero

Durante la puesta en marcha del reactor UASB-híbrido para la acidogénesis (Tabla 8), este se alimentó a un pH de  $4.45 \pm 0.08$ , y en el efluente este permaneció sin cambio significativo de  $4.47 \pm 0.08$ . La concentración de materia orgánica alimentada fue de  $1.25 \pm 0.02$  g DQO<sub>total</sub>/L y de  $1.07 \pm 0.05$  g DQO<sub>soluble</sub>/L, siendo la eficiencia de remoción del 24 y 22%, respectivamente. La eficiencia de conversión de la DQO alimentada a productos intermediarios fue del  $38.5 \pm 7.2\%$ , de los cuales  $1.9 \pm 1.8\%$  correspondieron a R-OHs y  $36.6 \pm 7.9\%$  a AGVs.

**Tabla 8.** Adaptación de inóculo a condiciones acidogénicas y metanogénicas con lactosuero como fuente de carbono.

	Acidogénesis		Metanogénesis	
	R-Ac		R-Me	
Tiempo de operación (d)	54		54	
	Total	Soluble	Total	Soluble
Materia orgánica (gDQO/L)	1.25±0.02	1.07±0.05	1.25±0.008	1.05±0.05
Eficiencia de conversión (%)	38.5±7.2	-	-	-
Eficiencia de remoción (%)	24±4.5	22±4.9	81±7.2	85±7.3
AGVs y R-OHs formados (g/L)	-	0.48±0.09	0.37±0.01	-
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> Influyente (mg/L)	0.7±0.05	-	0.7±0.1	-
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> Efluente (mg/L)	4.6±1.1	-	7.1±1.3	-
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> Influyente (mg/L)	16±1.5	-	15.9±0.9	-
PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup> Efluente (mg/L)	19.3±9.9	-	16.8±0.9	-
pH <sub>Influyente</sub>	4.45±0.08	-	7.0±0.01	-
pH <sub>Efluente</sub>	4.47±0.08	-	8.0±0.2	-

De los intermediarios formados (0.48±0.09 g DQO<sub>soluble</sub>/L), la mayor proporción fue de ácido butírico (48%), seguida de ácido caproico (21%) y ácido acético (19%); el 12% restante correspondió a etanol, butanol, propiónico, *i*-butírico e *i*-valérico; el ácido valérico y propanol no se formaron en esta etapa. Con respecto a los nutrientes, el NH<sub>4</sub><sup>+</sup> formado fue de 3.9±1.0 mg/L. Por el contrario, para PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> sólo se registró un incremento de 3.3±1.0 mg/L.

### **7.2.1 Metanogénesis del lactosuero**

Como se observa en la Tabla 8, durante la puesta en marcha el reactor para la metanogénesis se alimentó a  $1.25 \pm 0.02$  g DQO<sub>total</sub>/L y  $1.07 \pm 0.05$  g DQO<sub>soluble</sub>/L. Del día 1 al 33 se presentó una eficiencia de remoción constante, siendo del 40% en ambos casos. Con la finalidad de promover una mayor capacidad de utilización del lactosuero por los microorganismos el TRH se incrementó de 0.75 a 1 d; en los 5 días posteriores a este cambio la eficiencia de remoción se elevó notablemente, por arriba del 90% para la DQO<sub>total</sub> y DQO<sub>soluble</sub>, siendo en promedio de  $81 \pm 7.2$  y  $85 \pm 7.3\%$ , respectivamente.

La alimentación de este reactor se ajustó a pH 7.0 y se suplementó con 3 g de NaHCO<sub>3</sub> por litro para evitar acidificación. A un TRH de 0.75 d, el efluente presentó un pH promedio de  $7.4 \pm 0.2$ , con una relación de alcalinidad de  $0.6 \pm 0.01$ ; cuando el TRH incrementó, el efluente se tornó más alcalino ( $8.0 \pm 0.2$ ) y la relación de alcalinidad mejoró alcanzando un valor de  $0.7 \pm 0.03$  coincidiendo con el incremento de la eficiencia de remoción.

La formación de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en la metanogénesis fue más significativa que en la acidogénesis, dado que incrementó  $6.4 \pm 1.2$  mg/L. Con respecto al PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, este permaneció sin cambio, fluctuando alrededor de 16.8 mg/L, tanto en el influente como en el efluente. Por otra parte la producción de CH<sub>4</sub> fue incrementando conforme el inóculo se adaptó al lactosuero, fluctuando de 0.03 a 0.32 L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d; con una recuperación del 53% respecto al teórico estimado.

### **7.3 Acidogénesis/metanogénesis de lactosuero**

Para evaluar la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero, una vez seleccionados los microorganismos acidogénicos y adaptados los metanogénicos al lactosuero en los reactores UASB-híbridos, como se mostró en los dos apartados anteriores, la operación de los reactores se acopló, por lo que el efluente del reactor para la acidogénesis fue utilizado como influente del reactor para la metanogénesis, los resultados se presentan a continuación.

### 7.3.1 Materia orgánica

Como se presenta en la Tabla 9 y Figura 7A, el reactor para la acidogénesis fue alimentado a diferentes concentraciones de materia orgánica,  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L, representando la DQO<sub>soluble</sub> el  $80.7 \pm 2.9\%$ . La COV para el arranque de esta etapa fue de  $2.5 \pm 0.02$  g DQO<sub>total</sub>/L-d y se duplicó en cada incremento de concentración alcanzando un valor de  $24.9 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L-d para los últimos 34 días de operación (245 a 277 días). La eficiencia de conversión de DQO fue alta a pesar del incremento de concentración y COV, siendo de hasta  $49.6 \pm 7.0\%$ . Mientras que las eficiencias de remoción fueron entre  $15.9 \pm 8.3$  y  $21.8 \pm 3.3\%$  para la DQO<sub>total</sub> y de  $13.1 \pm 5.9$  a  $17.0 \pm 9.3\%$  para la DQO<sub>soluble</sub>, reflejándose en la producción de biogás, siendo la más alta registrada entre los días 245 a 277, con  $0.10 \pm 0.004$  L/L<sub>R</sub>-d.

En general el comportamiento del reactor para la acidogénesis mostró estabilidad, sin embargo el reactor para la metanogénesis presentó un comportamiento variable (Figura 7A, Tabla 10). Al respecto, para las primeras dos concentraciones provenientes de la acidogénesis (1 a 45 días; Figura 7A) la eficiencia de remoción fue similar (Figura 7B), siendo en promedio de  $95.6 \pm 1.7\%$  (DQO<sub>total</sub>) y del  $96.7 \pm 1.2\%$  (DQO<sub>soluble</sub>). El incremento en el día 46 a  $4.2 \pm 0.3$  g DQO<sub>total</sub>/L, pareció no afectar a los microorganismos metanogénicos quienes mantuvieron una eficiencia de remoción similar a los periodos anteriores, sin embargo a partir del día 79 la eficiencia decayó hasta el 66%, por lo que el promedio para este periodo fue de  $89.0 \pm 9\%$ , tanto para la DQO<sub>total</sub> como para la DQO<sub>soluble</sub>.

El incremento en la concentración a  $6.5 \pm 0.7$  g DQO<sub>total</sub>/L (día 102) afectó marcadamente la capacidad de remoción del consorcio metanogénico, cayendo hasta un 47% (día 155), a pesar de que en el día 122 se incrementó la cantidad de NaHCO<sub>3</sub> de 2 a 3 g/L. El promedio de la DQO residual en esta parte del periodo fue de  $2.4 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L, rindiendo una eficiencia de remoción entre 63 y 65% para ambas DQO, y una relación de alcalinidad de  $0.66 \pm 0.1$ . Debido a esto el día 162 se aumentó el TRH de 1 a 1.5 d, favorablemente en los siguientes 15 días la eficiencia de remoción mejoró alcanzando estabilidad (día 171 a 187), con una remoción promedio de  $79.9 \pm 5.0\%$  DQO<sub>total</sub> y  $79.1 \pm 5.4\%$  DQO<sub>soluble</sub>, atribuibles a que al



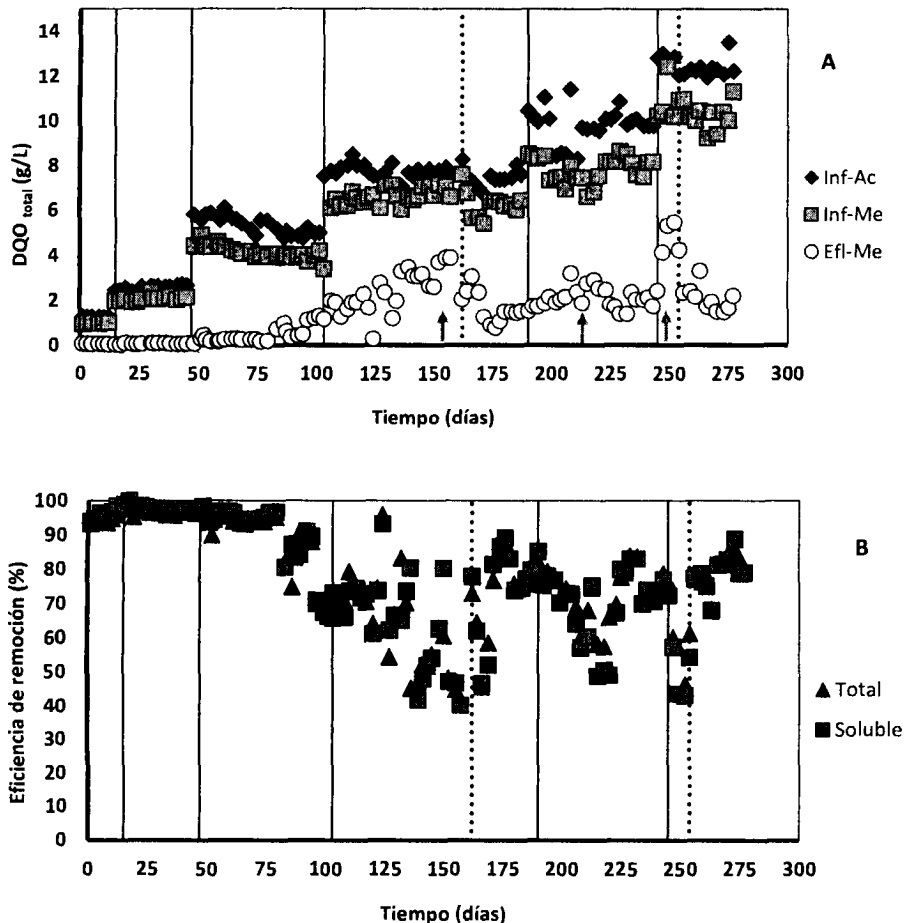
aumentar el TRH los microorganismos tuvieron más tiempo para degradar los productos de la acidogénesis.

**Tabla 9.** Parámetros indicadores de la acidogénesis de la materia orgánica de lactosuero. TRH de operación 0.5 d.

Tiempo (días)	DQO <sub>total</sub> (g/L)		DQO <sub>soluble</sub> (g/L)		COV (g DQO/L-d)		Ef. Conversión (%)	Ef. Remoción (%)		Biogás (L/LR-d)
	Inf.	Efl.	Inf.	Efl.	Total	Soluble		DQO <sub>total</sub>	DQO <sub>soluble</sub>	
<b>1-12</b>	1.2±0.01	1.0±0.03	1.0±0.05	0.8±0.05	2.5±0.02	2.1±0.1	48.3±3.9	21.8±3.3	17.0±9.3	0.007±0.003
<b>13-45</b>	2.5±0.1	2.1±0.1	2.1±0.1	1.8±0.1	5.1±0.2	4.2±0.2	49.3±10.1	19.2±3.6	13.1±5.9	0.002±0.005
<b>46-101</b>	5.3±0.4	4.2±0.3	4.4±0.3	3.7±0.3	10.7±0.8	8.9±0.6	37.9±11.9	21.6±4.3	16.4±7.2	0.09±0.05
<b>102-187</b>	7.6±0.3	6.4±0.7	6.7±0.5	5.8±0.6	14.2±2.4	12.5±2.4	43.8±11.5	15.9±8.3	13.9±8.1	0.03±0.02
<b>188-243</b>	9.8±0.7	7.8±0.6	7.9±0.7	6.6±0.8	19.7±1.5	15.9±1.4	49.6±7.0	20.1±5.7	16.5±9	0.05±0.02
<b>245-277</b>	12.4±0.4	10.4±0.8	10.0±0.8	8.5±1.7	24.9±0.9	19.9±1.6	45.1±6.9	16.1±6.6	14.3±9.7	0.10±0.004

**Tabla 10.** Parámetros indicadores de la metanogénesis de los productos de la acidogénesis, durante la degradación de lactosuero.

Tiempo (días)	TRH (d)	DQO <sub>total</sub> (g/L)		DQO <sub>soluble</sub> (g/L)		COV (g DQO/L-d)		Ef. Remoción (%)		CH <sub>4</sub> (L/LR-d)
		Inf.	Efl.	Inf.	Efl.	Total	Soluble	DQO <sub>total</sub>	DQO <sub>soluble</sub>	
<b>1-12</b>	1	1.0±0.03	0.05±0.01	0.8±0.05	0.03±0.01	1.0±0.01	0.9±0.1	94.4±1.1	95.8±1.7	0.25±0.01
<b>13-45</b>	1	2.1±0.1	0.1±0.02	1.8±0.1	0.04±0.01	2.1±0.01	1.8±0.1	96.8±0.9	97.6±0.1	0.58±0.3
<b>46-101</b>	1	4.2±0.3	0.4±0.3	3.7±0.3	0.4±0.3	4.2±0.3	3.7±0.3	89.0±9.1	89.8±9.6	1.15±0.4
<b>102-187</b>	1	6.5±0.7	2.4±0.9	5.9±0.7	2.1±0.9	6.1±0.7	5.9±0.7	63.3±13.6	65.0±13.5	1.0±0.2
	1.5	6.3±0.6	1.6±0.7	5.6±0.6	1.4±0.7	4.1±0.9	4.3±0.3	79.9±5.0	79.1±5.4	0.94±0.1
<b>188-243</b>	1.5	7.8±0.6	2.1±0.5	6.6±0.8	1.9±0.5	5.2±0.4	4.4±0.5	73.1±7.4	70.7±10.6	0.99±0.2
	1.5	10.8±0.9	4.3±1.2	8.6±0.7	4.0±1.2	6.9±0.3	4.2±1.0	60.3±10.7	54.2±12.0	0.9±0.2
<b>245-277</b>	1.5	10.8±0.9	4.3±1.2	8.6±0.7	4.0±1.2	6.9±0.3	4.2±1.0	60.3±10.7	54.2±12.0	0.9±0.2
	2	10.2±0.6	2.1±0.5	8.4±0.9	1.8±0.6	5.1±0.3	4.2±0.4	79.9±5.0	79.1±5.4	0.9±0.1



**Figura 7.** (A) Comportamiento de la de la materia orgánica ( $DQO_{total}$ ); (B) eficiencia de remoción ( $DQO_{total}$  y  $DQO_{soluble}$ ) durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero. Líneas continuas indican incremento de concentración, líneas punteadas aumento de TRH. Las flechas indican los periodos de desestabilización del reactor para la metanogénesis y los AGVs y R-OH causantes de este comportamiento serán descritos más adelante.

Lo anterior permitió aumentar la concentración de materia orgánica en el reactor para la acidogénesis a  $9.8 \pm 0.7$  g  $DQO_{total}$ /L (día 188), alimentando al reactor para la metanogénesis  $7.8 \pm 0.6$  g  $DQO_{total}$ /L ( $6.6 \pm 0.8$  g  $DQO_{soluble}$ /L), a partir de este día y hasta el día 220 la metanogénesis presentó un decremento en la eficiencia, hasta 58 y 49% respectivamente, que

se revirtió con el aumento de  $\text{NaHCO}_3$  de 3 a 4 g/L y un pH en el influente de 7.0, alcanzando en promedio para el periodo  $73.1 \pm 7.4\%$  y  $70.7 \pm 10.6\%$ , respectivamente.

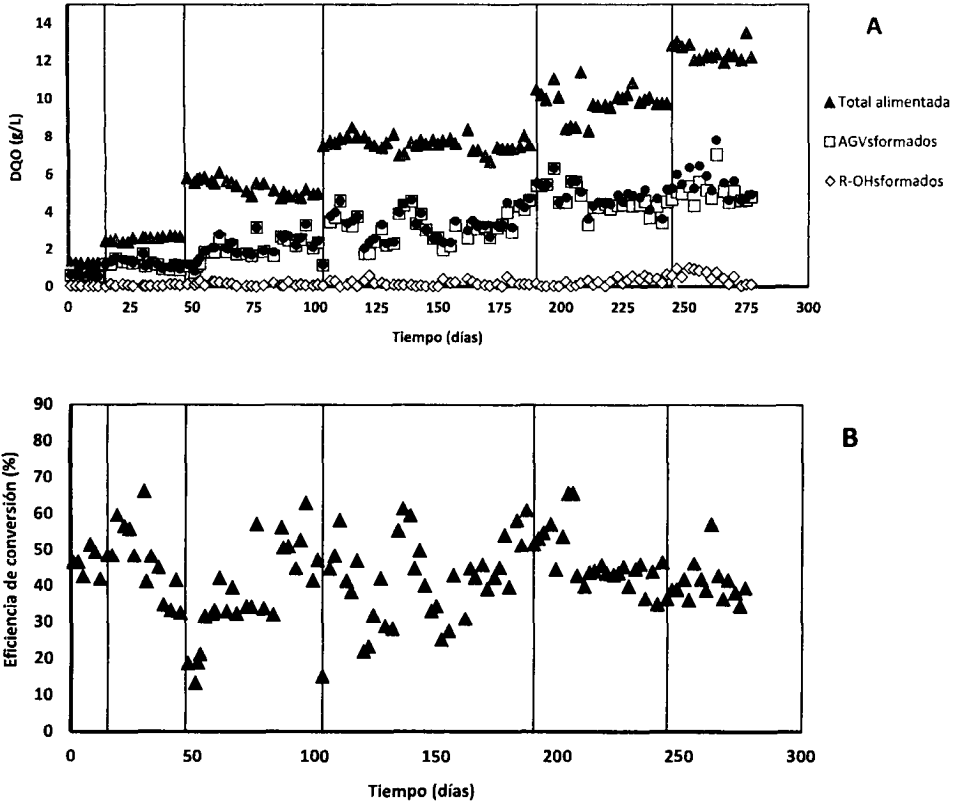
El día 245, se alimentaron en la acidogénesis  $12.4 \pm 0.4$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$ , registrándose en el efluente  $10.8 \pm 0.9$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$  ( $8.6 \pm 0.7$  g  $\text{DQO}_{\text{soluble}}/\text{L}$ ) que pasaron a metanogénesis. Debido a esto se observó un decaimiento en la eficiencia de remoción en los siguientes 10 días y se restableció aumentando el TRH a 2 días (día 254), por lo que a partir del día 266 se alcanzaron eficiencias mejores y estables (alrededor del 82.8% para ambas DQO), aunque en promedio fueron del  $79.9 \pm 0.5$  y  $79.1 \pm 5.4\%$ ; la DQO residual al final de esta última etapa de tratamiento fue de  $2.8 \pm 1.3$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$ . Como se muestra en la Tabla 10, las COV en metanogénesis fluctuaron de  $1.0 \pm 0.01$  a  $6.9 \pm 0.3$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L-d}$  y de  $0.9 \pm 0.1$  a  $5.9 \pm 0.7$  g  $\text{DQO}_{\text{soluble}}/\text{L-d}$ ; con una producción de  $\text{CH}_4$  que incrementó de  $0.25 \pm 0.01$  a  $0.94 \pm 0.1$  L/L<sub>R</sub>-d.

Aunque el reactor para la metanogénesis presentó inestabilidad en ciertos periodos de la operación, la eficiencia global del proceso conjunto (acidogénesis/metanogénesis) a cortos TRH (0.5 d y de 1 a 2 días respectivamente), mostró que los resultados acerca de la remoción de materia orgánica son relevantes, ya que se trataron concentraciones de lactosuero de hasta 12.4 g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$  equivalentes a una COV de 24.9 g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L-d}$ , con eficiencias de remoción de hasta el 82% a un TRH total de 2.5 d y con un rendimiento de  $\text{CH}_4$  de hasta  $0.9 \pm 0.1$  L/L<sub>R</sub>-d equivalentes a 3.9 L  $\text{CH}_4/\text{d}$  y un rendimiento de 0.22 L  $\text{CH}_4/\text{g DQO}_{\text{degradada}}$ .

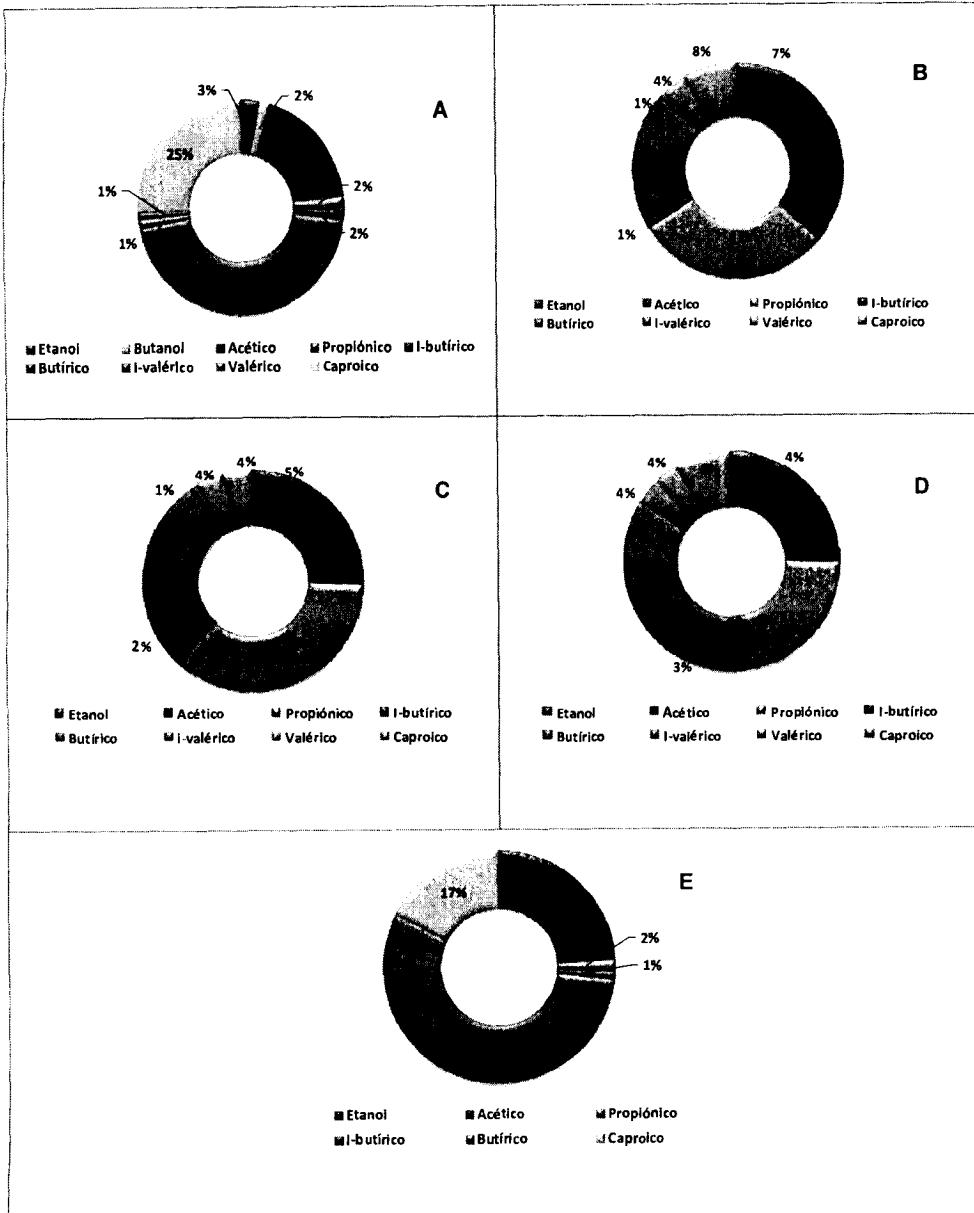
### **7.3.2 Productos de la conversión de la materia orgánica en la acidogénesis**

La conversión de la materia orgánica a los diferentes AGVs y R-OHs en las dos primeras concentraciones de materia orgánica alimentadas en el reactor para la acidogénesis (Figura 8A y 8B) incrementó ( $48.3 \pm 3.9$  y  $49.3 \pm 10.1\%$ ) con respecto a la alcanzada durante la selección de los microorganismos acidogénicos ( $38.5 \pm 7.2\%$ ). Como se muestra en la Figura 9A, los intermediarios mayoritarios promedio para estas dos condiciones fueron ácido butírico (45%), ácido caproico (25%) y acético (19%) en ambos casos. Respecto a los R-OHs, los que se formaron fueron etanol y butanol, pero en concentraciones bajas (Figura 8A), representando apenas un 5% de la formación total de intermediarios (ver Figura 9A). Los

ácidos propiónico, *i*-butírico, *i*-valérico y valérico presentaron una formación mínima. En la Tabla 11 se presenta la concentración de cada intermediario formado durante las diferentes concentraciones de materia orgánica alimentadas.



**Figura 8. (A)** Muestra la materia orgánica alimentada como  $DQO_{total}$  y la formación de AGVs y R-OHs, así como la suma de ambos grupos de productos. **(B)** Presenta la evolución de la eficiencia de conversión a intermediarios durante la acidogénesis en el proceso acoplado.



**Figura 9.** Porcentaje de formación de los productos de la acidogénesis. (A) Concentraciones de 1.2 y 2.5 g DQO<sub>total</sub>/L; (B) concentración de 5.3 g DQO<sub>total</sub>/L; (C) concentración de 7.6 g DQO<sub>total</sub>/L; (D) concentración de 9.8 g DQO<sub>total</sub>/L y (E) concentración de 12.4 g DQO<sub>total</sub>/L.

Al incrementar la materia orgánica a 5.3±0.4 g DQO<sub>total</sub>/L (46 a 101 d) la eficiencia de conversión fue más variable (37.9±11.9%) y la composición y porcentaje de los principales

intermediarios se modificó, incrementando la concentración de ácido propiónico hasta un 30% y la de acético a 29%, mientras que disminuyeron las del ácido butírico 20% y ácido caproico 8.0% (Figura 9B). Cabe mencionar que el pH del efluente de este reactor en esta condición se acidificó, disminuyendo hasta un valor de 3.8, nivel que se sabe no es ideal para la conversión a los diferentes productos intermediarios en acidogénesis, por lo que a partir de aquí el pH del influente se varió de 4.0 a 7.5 para mantener el efluente a un pH no menor de 4.0.

**Tabla 11.** Intermediarios formados en cada concentración alimentada al reactor para la acidogénesis. Los productos son expresados en g DQO/L.

Tiempo (días)	AGVs	AGVs						R-OHs		
	+ R-OHs	Ac	Pr	<i>i</i> -Bu	Bu	<i>i</i> -Va	Va	Ca	Et	But
1-12	0.6±0.05	0.1±0.04	0	0.01±0.001	0.3±0.02	0.009±0.007	0	0.2±0.05	0.01±0.01	0.01±0.005
13-45	1.3.0±0.2	0.2±0.1	0.02±0.02	0.01±0.01	0.6±0.1	0.02±0.02	0.02±0.004	0.3±0.1	0.05±0.04	0.02±0.01
46-101	2.0±0.6	0.6±0.2	0.6±0.4	0.03±0.02	0.4±0.2	0.01±0.02	0.09±0.05	0.2±0.09	0.1±0.09	0
102-187	3.3±0.8	0.6±0.4	1.1±0.4	0.05±0.04	0.9±0.4	0.03±0.06	0.1±0.06	0.1±0.1	0.2±0.1	0
188-243	4.9±0.6	0.9±0.3	0.8±0.7	0.1±0.06	1.9±0.5	0.1±0.4	0.2±0.09	0.6±0.3	0.2±0.2	0.03±0.01
245-277	5.6±0.8	0.8±0.2	0.08±0.05	0.07±0.02	3.1±0.4	0.01±0.05	0.008±0.02	1.0±0.3	0.5±0.3	0.03±0.02

Ácidos: Acético (Ac); propiónico (Pr); *i*-butírico (*i*-Bu); butírico (Bu); *i*-valérico (*i*-Va); valérico (Va) y caproico (Ca). Alcoholes: Etanol (Et); butanol (But). Intermediarios formados en mayor concentración se resaltan en números más negros.

Para la siguiente concentración que se alimentó (7.6±0.3 gDQO<sub>total</sub>/L) días 102 a 187 (Figura 9C), el ácido caproico continuó disminuyendo (4%), mientras tanto el ácido propiónico y acético se mantuvieron cercanos a los porcentajes anteriores (36 y 21%, respectivamente) y el butírico nuevamente incrementó (27%). La eficiencia de conversión para este periodo incrementó ligeramente, aunque permaneció presentando alta dispersión (43.8±11.5%) (Figura 8B, Tabla 9). En los días 188 a 243, cuando el reactor para la acidogénesis se alimentó a una concentración de 9.8±0.7 g DQO<sub>total</sub>/L, la proporción de los intermediarios mayoritarios

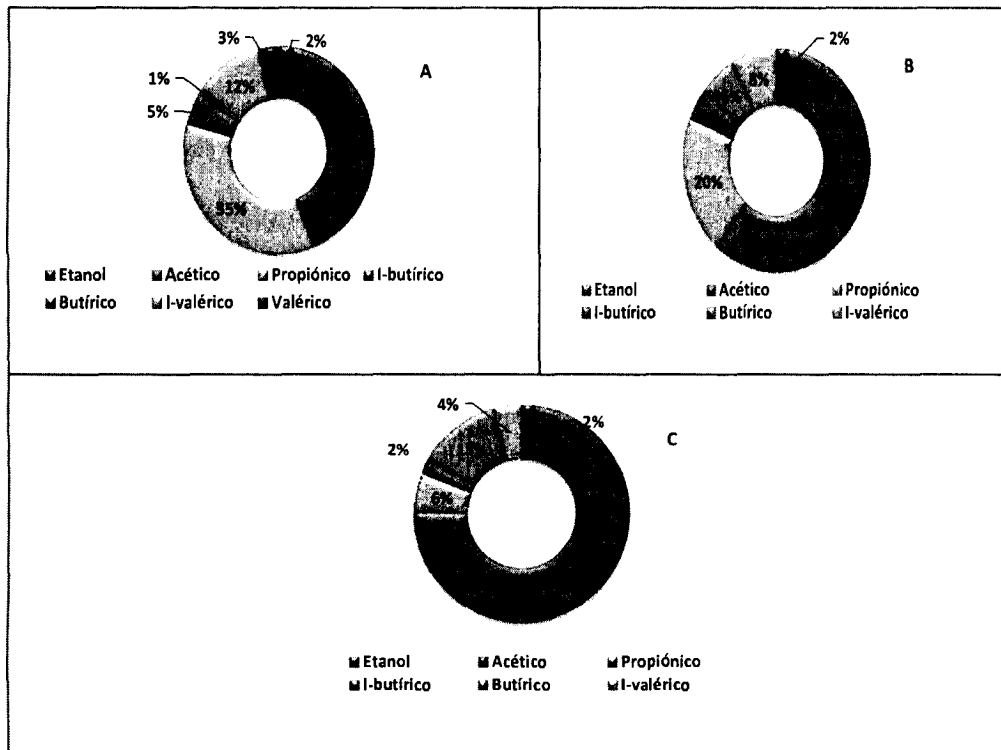
fue la siguiente, el ácido butírico aumentó considerablemente (34%), el ácido acético mantuvo su porcentaje (21%), pero hubo un marcado descenso para el ácido propiónico el cual disminuyó hasta un 22%, el ácido caproico se encontró en un 8% (Figura 9D). Un incremento de concentración en la alimentación favoreció la eficiencia de conversión la cual aumentó en este lapso de tiempo y se observó mayor estabilidad ( $49.6 \pm 7.0\%$ ) (Figura 8B, Tabla 9).

Finalmente, para los días 245 a 277, a una concentración de  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L, el porcentaje de formación se modificó considerablemente, en este caso el ácido butírico se formó por arriba del 55%, seguido de ácido caproico (17%) y ácido acético (15%), mientras que el ácido propiónico casi desapareció (2%) (Figura 9E). Durante éste periodo se alcanzó una conversión del  $45 \pm 6.9\%$ .

### **7.3.3 Productos finales en la metanogénesis**

El reactor para la metanogénesis presentó tres periodos de inestabilidad (Figura 7A y 7B), el primero del día 120 al 157, a un TRH de 1 d y una concentración de  $6.5 \pm 0.7$  g DQO/L, donde la eficiencia de remoción bajó notablemente y de igual manera la relación de alcalinidad disminuyó ( $0.62 \pm 0.06$ ); durante estos días los productos residuales presentes en el efluente del reactor para la metanogénesis fueron ácido acético (42%), ácido propiónico (35%) y en menor proporción ácido *i*-valérico (12%) (Figura 10A), a los cuales puede atribuirse este periodo de inestabilidad.

El segundo periodo de inestabilidad se presentó a un TRH de 1.5 d y a una DQO de  $7.8 \pm 0.6$  g/L, para este periodo el ácido acético (Figura 10B) incrementó hasta un 59%, por el contrario el ácido propiónico decreció hasta un 20% y la formación de *i*-valérico fue del 8%. El tercer periodo de inestabilidad fue en los días 245 a 254 con una DQO de  $10.8 \pm 0.9$  g/L, el porcentaje de ácido acético incrementó hasta 73%, mientras que el ácido propiónico e *i*-valérico casi desaparecieron siendo 6 y 4 %, respectivamente (Figura 10C). Respecto a los alcoholes, el único que se formó en estos periodos de desestabilización fue etanol, pero representó sólo el 2%.



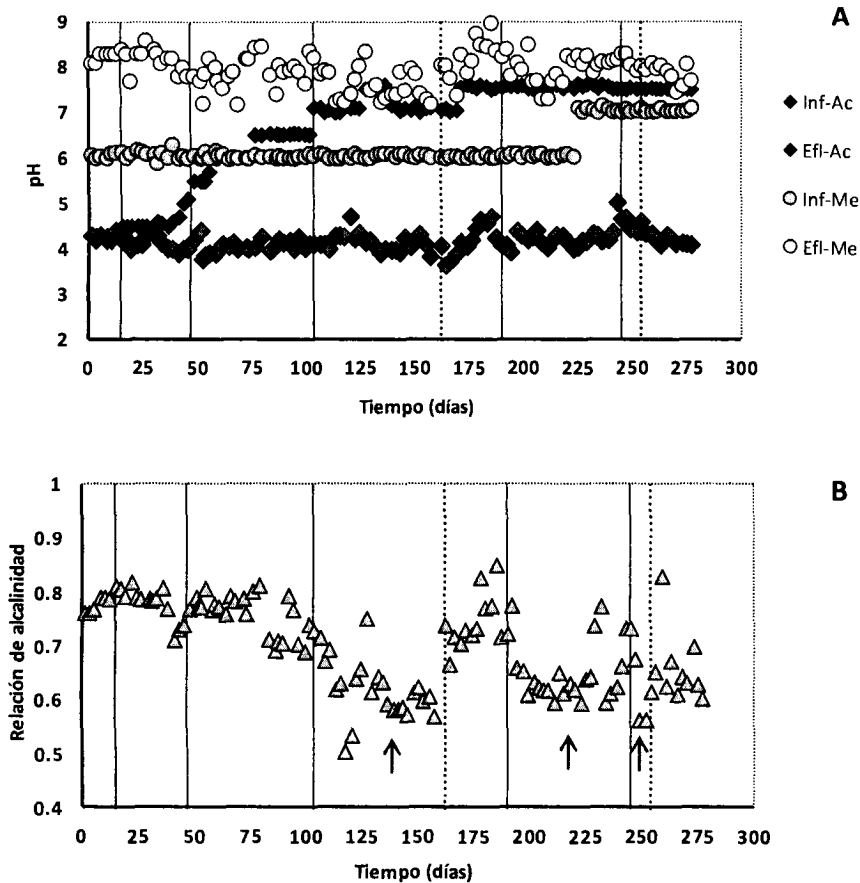
**Figura 10.** Porcentaje de formación de los productos de la metanogénesis. **(A)** TRH 1 d y  $6.5 \pm 0.7$  g DQO/L; **(B)** TRH 1.5 d y  $7.8 \pm 0.6$  g DQO/L y **(C)** TRH 1.5 d y  $10.8 \pm 0.9$  g DQO/L.

### 7.3.4 pH y relación de alcalinidad

En la Figura 11A se muestra la evolución del pH. En la acidogénesis, el pH del influente del reactor varió de  $4.3 \pm 0.01$  a  $7.5 \pm 0.04$ . Para la metanogénesis, el influente del reactor se ajustó a un pH de  $6.1 \pm 0.3$  y se suplementó con 2, 3 y hasta 4 g  $\text{NaHCO}_3/\text{L}$  como ya se mencionó, esto para prevenir o revertir una acidificación por las diferentes concentraciones de materia orgánica que se aplicaron en el estudio y por los intermediarios formados durante la acidogénesis. El pH en el efluente metanogénico se mantuvo en nivel de básico a alcalino, siendo no menor a 7.2 y con un máximo de 8.9, mientras que el promedio para los 277 días en los que se evaluó la metanogénesis fue de  $8.0 \pm 0.3$ . La relación de alcalinidad fue un indicador eficiente de la desestabilización por acidificación del reactor para la



metanogénesis, como se muestra en la Figura 11B los intervalos de tiempo donde la eficiencia de remoción de la materia orgánica disminuyó marcadamente (Figura 7B), coincidieron con la reducción de la relación de alcalinidad la cual se mantenía entre 0.7 y 0.8, y disminuyó hasta valores de 0.57, las flechas en la Figura 11B señalan los intervalos de tiempo en los que el reactor para la metanogénesis mostró desestabilización.



**Figura 11.** (A) Muestra la evolución del pH y (B) presenta la relación de alcalinidad, a través del tiempo durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.

### 7.3.5 Amonio y ortofosfatos

En el reactor para la acidogénesis, la concentración de  $\text{NH}_4^+$  alimentada fue incrementando conforme la materia orgánica aumentó (Figura 12; Tabla 12), iniciando en  $1.0 \pm 0.2$  mg/L (1 a 12 días) y alcanzando hasta  $9.8 \pm 1.7$  mg/L para el periodo de 190 a 143 días. La amonificación en la acidogénesis fue muy baja dado que sólo se formaron de  $2.8 \pm 4.0$  a  $16.5 \pm 7.3$  mg de  $\text{NH}_4^+$ /L y donde la menor formación se encontró en los días 1 a 22 y 245 a 277.

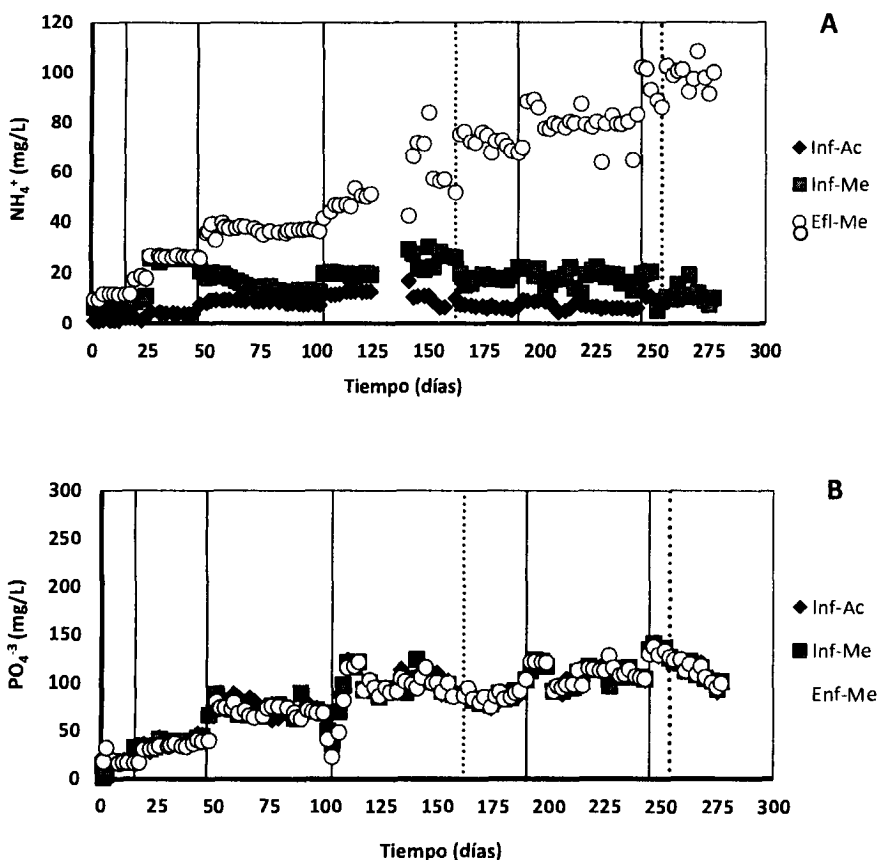


Figura 12. (A) Muestra el comportamiento del  $\text{NH}_4^+$  y (B) la de los  $\text{PO}_4^{3-}$ , durante la degradación de lactosuero en metanogénesis/acidogénesis.

Por el contrario, la amonificación en el reactor para la metanogénesis fue más significativa, incrementando marcadamente durante todos los periodos; como se observa en la Tabla 12 del día 1 al 187 las concentraciones en el efluente se fueron duplicando, alcanzando hasta  $61.2 \pm 12.7$  mg  $\text{NH}_4^+$ /L. Mientras que del día 245 a 277 se alcanzó una concentración de  $97.6 \pm 5.9$  mg  $\text{NH}_4^+$ /L. La formación fluctuó en el efluente de este reactor desde  $2.7 \pm 3.2$  hasta  $85.0 \pm 6.7$  mg/L.

Por su parte, el  $\text{PO}_4^{3-}$  también aumentó conforme se incrementó la concentración de materia orgánica en el reactor para la acidogénesis (Figura 12B), siendo en el influente de  $18.2 \pm 0.6$  mg/L (1-12 días) y alcanzando hasta  $116.8 \pm 13.7$  mg/L (Tabla 12). Sin embargo ni en la acidogénesis ni en la metanogénesis se observó cambio significativo sobre la concentración de este nutriente, permaneciendo en los respectivos efluentes en concentraciones similares a las alimentadas, por lo que la formación o eficiencia de remoción fue nula.

**Tabla 12.** Concentración de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.

Tiempo (días)	Acidogénesis				Metanogénesis			
	$\text{NH}_4^+$		Formación (mg/L)	$\text{PO}_4^{3-}$		Formación (mg/L)	$\text{PO}_4^{3-}$	
	(mg/L)	(mg/L)		(mg/L)	(mg/L)		(mg/L)	(mg/L)
Inf.	Efl.	Inf.	Efl.	Efl.	Efl.	Efl.		
1-12	1.0±0.2	6.9±0.8	5.9±0.7	18.2±0.6	16.8±1.4	10.8±1.1	3.9±0.5	17.7±1.2
13-45	3.2±1.0	19.7±8.2	16.5±7.3	39.8±5.4	37.3±4.2	22.4±5.8	2.7±3.2	31.9±7.1
46-101	8.4±0.6	15.5±2.8	7.1±2.5	74.1±9.1	71.0±8.0	36.4±2.7	20.9±4.3	68.4±9.8
102-187	9.4±2.9	20.9±4.0	9.5±5.7	95.0±14.0	92.6±15.7	61.2±12.7	33.6±19.8	91.1±17.7
188-243	6.9±1.3	18.3±3.1	11.4±3.3	108.7±9.0	107.1±9.7	78.9±6.0	60.6±7.4	109.1±10.0
245-277	9.8±1.7	12.6±5.0	2.8±4.0	116.8±13.7	117.8±14.2	97.6±5.9	85.0±6.7	113.9±20.5

Por otra parte la producción de  $\text{CH}_4$  aumentó conforme se incrementó la concentración de materia orgánica ( $1.0 \pm 0.03$  a  $10.8 \pm 0.4$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}$ /L). Del día 1 al 45 se alcanzó una

producción de  $0.25 \pm 0.01$  a  $0.58 \pm 0.3$  LCH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d (Tabla 10, Figura 13). Del día 46 al 61 la producción de CH<sub>4</sub> aumentó marcadamente, de 0.55 a 1.9 L/L<sub>R</sub>-d debido al incremento de la materia orgánica, asimismo coincidiendo con la eficiencia de remoción que fue del 94%. Sin embargo del día 68 al 101 la producción de CH<sub>4</sub> disminuyó hasta 0.77 L/L<sub>R</sub>-d, con un promedio para todo el periodo de tiempo de  $1.15 \pm 0.4$  L/L<sub>R</sub>-d. En el siguiente periodo (102 a 187 días) la producción se mantuvo estable ( $1.0 \pm 0.2$  L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d). El día 188 y hasta el día 243, con el incremento de la DQO a  $7.8 \pm 0.6$  g DQO<sub>total</sub>/L, la producción alcanzada fue de  $0.9 \pm 0.2$  L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d. Para el último periodo (245 a 277 días) este incrementó hasta  $0.9 \pm 0.2$  L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d en ambos TRH (1.5 y 2 d), equivalentes a 3.9 L CH<sub>4</sub>/d.

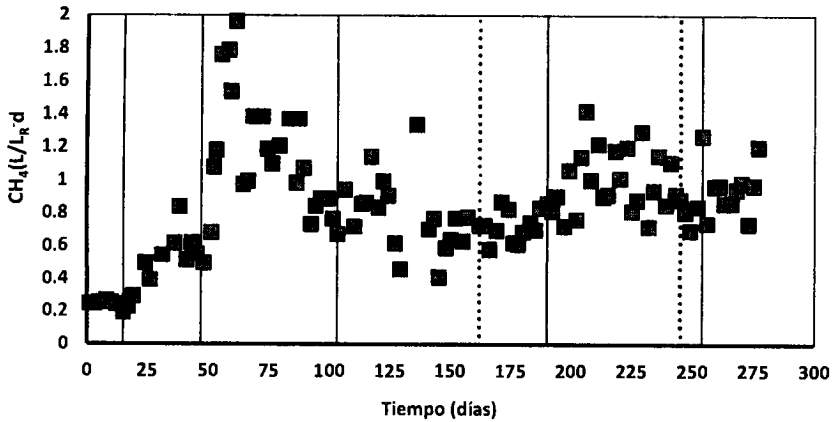


Figura 13. Producción de CH<sub>4</sub> durante la degradación de lactosuero.

## 8. Discusión

### 8.1 Caracterización de lactosuero

Se caracterizaron 10 lotes de lactosuero, de acuerdo a su contenido de pH,  $DQO_{total}$ ,  $DQO_{soluble}$ ,  $DBO_5$ , ST, SF, SV, SST, SSF, SSV, COT, grasas y aceites, carbohidratos, NT,  $NH_4^+$ , proteína total, proteína soluble, PT,  $PO_4^{-3}$ . Los resultados obtenidos de esta caracterización son discutidos a continuación.

#### 8.1.1 Carbonados

Las altas concentraciones de DQO detectadas para los distintos lotes coinciden con los niveles reportados (60 a 72.6 g/L) por Saddoud *et al.* (2007), Gannoun *et al.* (2008), Venetsaneas *et al.* (2009) y Guerrero-Rodríguez *et al.* (2012). De igual manera la concentración de  $DBO_5$ , se encuentra dentro de lo reportado por Saddoud *et al.* (2007) y Gannoun *et al.* (2008). La relación de  $DBO_5/DQO$  obtenida en este estudio es de 0.63 a 0.76 g/L, lo cual muestra que el lactosuero es altamente biodegradable (Carvalho *et al.*, 2013).

Demirel y Yenigun (2004), Saddoud *et al.* (2007), Gannoun *et al.* (2008) y Guerrero-Rodríguez *et al.* (2012), reportan concentraciones de ST de 33 a 65 g/L, para SST de 0.87 a 8.6 g/L y de SSV de 0.48 a 8.0 g/L. En este estudio se encontraron concentraciones ligeramente superiores a las reportadas para los ST que fueron de 35 a 68 g/L, SV de 32 a 68 g/L, SST de 9.3 a 12.1 g/L y SSV de 8.9 a 11.8 g/L. Los SV y SSV representaron del 75 al 90% de los ST y SST, esto es otro indicador de que el material del que está compuesto el lactosuero es biodegradable y/o de fácil degradación.

Por otra parte, el contenido de grasas en el lactosuero fue determinado por Saddoud *et al.* (2007), Gannoun *et al.* (2008), Venetsaneas *et al.* (2009) y Guerrero-Rodríguez *et al.* (2012), estos estudios muestran un contenido de grasa de 0.9 a 9.4 g/L, por lo que las concentraciones obtenidas en el presente estudio (3.0 a 4.8 g/L), caen dentro de lo reportado en la literatura. Por otro lado los carbohidratos se mantuvieron en un intervalo de 35.5 a 96.5 g/L, mientras que Antonopoulou *et al.* (2008) y Venetsaneas *et al.* (2009) reportan concentraciones de 38.0 y 43.8 g/L, respectivamente. Las concentraciones de carbohidratos suelen ser elevadas ya

que uno de los componentes principales del lactosuero es el disacárido lactosa, la cual representa hasta un 70% de su composición (Göblös *et al.*, 2008).

### **8.1.2 Nitrogenados**

Demirel y Yenigun (2004), Saddoud *et al.* (2007) y Venetsaneas *et al.* (2009) han reportado concentraciones que van de 0.11 a 1.1 g NT/L. El NT en este estudio se mantuvo en un intervalo de 0.2 a 1.9 g/L. La concentración de NT en el lactosuero suele depender de la eficacia o tipo de método utilizado para la precipitación de la caseína, pero también del tipo de queso elaborado, en este caso provino de la elaboración de queso tipo oaxaca; lactosueros con concentraciones más bajas de NT o de otros componentes pueden provenir de la elaboración de requesón como lo muestra Guerrero-Rodríguez *et al.* (2012). Con respecto a las proteínas, Saddoud *et al.* (2007), Gannoun *et al.* (2008), Antonopoulou *et al.* (2008), Parra (2009) y Guerrero-Rodríguez *et al.* (2012) encontraron concentraciones entre 4.7 y 125 g/L, en este estudio se registraron concentraciones de 2.8 a 30.3 g/L de proteína total, lo cual está dentro de lo reportado en la literatura. La concentración de proteínas depende del método de cuajado que se emplea para la elaboración del queso.

### **8.1.3 Fosfatados**

El PT, del cual forman parte los  $\text{PO}_4^{3-}$ , es otro nutriente presente en el lactosuero y que, junto con el NT y la materia orgánica impactan negativamente al ambiente si son descargados en altas concentraciones. Demirel y Yenigun (2004), Saddoud *et al.* (2007) y Venetsaneas *et al.* (2009), reportan concentraciones de 0.03, 0.5 y 0.28 g PT/L respectivamente, en el presente estudio se encontraron concentraciones por encima de lo reportado con 0.5 a 1.2 g/L.

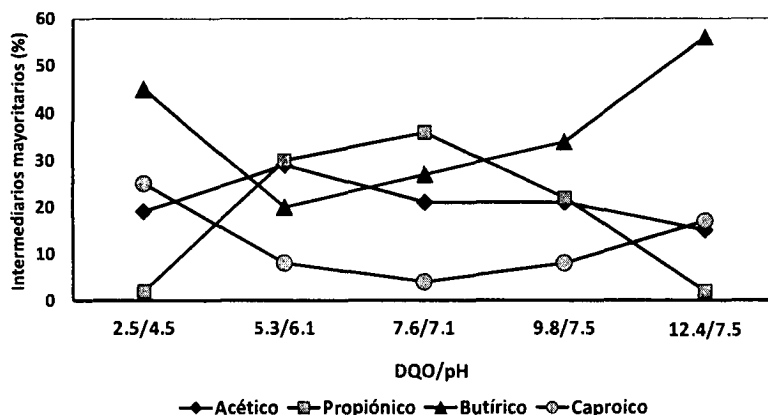
La alta heterogeneidad de los diferentes compuestos entre lotes (coeficiente de variación = 9.8 a 51.2%) puede ser debida a que el proceso de elaboración del queso aún no está completamente estandarizado, ya que los lotes de lactosuero provinieron de la misma fuente y siempre de la elaboración de queso tipo oaxaca.

En general la caracterización del lactosuero confirma el alto impacto ambiental que puede tener este desecho si se descarga sin tratamiento previo.

## 8.2 Productos de la conversión de la materia orgánica en la acidogénesis

Durante la puesta en marcha del reactor UASB-híbrido para la acidogénesis, así como en la primeras dos concentraciones de materia orgánica aplicada, éste se alimentó a un pH de 4.5 para promover la mayor capacidad de conversión de la materia orgánica a productos intermediarios como ha sido reportado por Yu y Fang (2002), Horiuchi *et al.* (2002) y Kissalita *et al.* (1989). Al incrementar la materia orgánica a una concentración de  $5.3 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L el pH se ajustó a 6.1, posteriormente se fue modificando en las siguientes concentraciones alimentadas hasta llegar a un pH de 7.5 (concentraciones de  $9.8 \pm 0.7$  y  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L), esto con la finalidad de que el efluente del reactor para la acidogénesis no fuera inferior a un pH menor de 4.0. Se ha reportado que la acidificación de los diferentes componentes del lactosuero como glucosa, sacarosa, lactosa, proteínas y lípidos es llevada a cabo y favorecida a un pH de 5.7, 6.0, 6.5, 5.8 y 6.2, respectivamente (Yu y Fang, 2002), por lo que en este estudio se puede inferir que se promovió la acidogénesis de la mayoría de los compuestos que forman parte del lactosuero.

La proporción porcentual o en concentración de los diferentes intermediarios en la acidogénesis en este estudio puede deberse principalmente al pH del influente del reactor para la acidogénesis, según Horiuchi *et al.* (2002) mencionan que la formación de cada uno de los ácidos depende fuertemente de este parámetro, de las condiciones de operación, así como de las poblaciones microbianas dominantes, encontrando que en condiciones básicas (7.0 y 8.0) se producen en mayor proporción ácido acético seguido de propiónico; contrariamente en condiciones ácidas (pH 5.0 y 6.0) predomina el ácido butírico. Al respecto Yu y Fang (2002) mencionan que los AGVs producidos a pH de 6.0 a 6.5 son acético y butírico, comentando que este es el pH óptimo para la fermentación de la lactosa. Por su parte, Kissalita *et al.* (1989) encontraron ácido acético, propiónico y también butírico a pH de 4.5 a 6.0. A niveles menores, 4.0 a 4.5, Yu y Fang (2002) reportan que los principales intermediarios son ácido propiónico y etanol. En nuestro estudio, a un pH de 4.5 se encontraron ácido butírico, caproico y acético en mayor proporción. Mientras que a pH 6 los principales intermediarios fueron ácido propiónico, acético y butírico (Figura 14).



**Figura 14.** Principales intermediarios formados con respecto a la concentración de materia orgánica y pH alimentados.

Al alimentar el reactor a una  $DQO_{total}$  de  $9.8 \pm 0.7$  g/L y un pH de 7.5 los intermediarios mayoritarios fueron ácido butírico, propiónico y acético, sin embargo a la misma condición de pH, pero a mayor concentración de materia orgánica ( $12.4 \pm 0.4$  g  $DQO_{total}$ /L), la proporción de los intermediarios cambió drásticamente encontrando en mayor cantidad ácido butírico, seguido de caproico y acético (Figura 14), por lo que la proporción de intermediarios también puede estar influenciada por la concentración de materia orgánica alimentada.

Es importante señalar, que tanto en condiciones ácidas (pH 4.5) y medianamente neutras (7.5) el intermediario que predominó fue el ácido butírico contrastando con los reportes anteriores. Bajo todas las condiciones de pH la formación de etanol fue baja coincidiendo con Kissalita *et al.* (1989) y Horiuchi *et al.* (2002) los cuales reportan la formación de concentraciones trazas de etanol en acidogénesis y difiriendo con Yu y Fang (2002). Por su parte, Venetsaneas *et al.* (2009) reportaron que en condiciones mesófilas, un reactor acidogénico operado a un TRH de 1 d y a concentraciones de hasta 15 g  $DQO$ /L, los principales AGVs formados fueron ácido acético, butírico y láctico, además de etanol en menor concentración. En el presente estudio el reactor para la acidogénesis se operó a temperatura ambiente ( $22^{\circ}C$ ), soportó una concentración de materia orgánica de hasta  $12.4 \pm 0.4$  g  $DQO_{total}$ /L y los principales intermediarios que se formaron fueron ácido butírico,



acético, propiónico y caproico. Saddoud *et al.* (2007) reportan en su estudio que los principales AGVs formados fueron ácido acético y propiónico, mientras que los ácidos *i*-butírico, butírico y valérico se formaron en menor concentración, mientras que en nuestro estudio la principal formación fue para ácido acético, butírico, propiónico y caproico.

Respecto a las eficiencias de conversión a intermediarios, como se muestra en la Tabla 13, Yu y Fang (2002) reportan una eficiencia del 71.6% a un TRH de 0.5 d, mencionando que el grado de acidificación óptimo para la formación de AGVs y R-OHs es a pH de 6.5 y una temperatura de 35°C, cabe señalar que esta alta eficiencia puede ser debida a la baja concentración de DQO y COV probadas (4 g DQO/L y 8 g DQO/L-d). En nuestro estudio el pH en el que se alcanzó la mayor conversión (49.6±7.0%) fue 7.5±0.04 con una COV de 19.6 g DQO/L-d y a una temperatura de 22°C.

**Tabla 13.** Comparación de este estudio con la literatura.

Residuo	TRH (d)	DQO (g/L)	COV (g DQO/L-d)	pH	AGVs (mg/L)	EC (%)	Referencias
ARL	0.5	4.0	8.0	4-6.5	101	71.6	Yu y Fang (2002)
ARL	0.5	5.0	10.0	4-6	-	-	Kisaalita <i>et al.</i> (1989)
Lactosuero	0.5	8.0	16.0	5-8	413	-	Horiuchi <i>et al.</i> (2002)
SQ	1.0	15.0	15.0	5.2	2515	-	Venetsaneas <i>et al.</i> (2009)
SQ	1.0	19.0	19.0	6.5	5000	52.2	Saddoud <i>et al.</i> (2007)
ARL	0.5	5.0	10.0	6.6-7.5	0.73	56.0	Demirel y Yenigun (2004)
Lactosuero	0.5	1.2 a 12.4	2.5-25	4.5-7.5	5611	37.9-49.6	En este estudio

ARL: Aguas residuales lácteas; SQ: suero de queso; EC: eficiencia de conversión.

Por otro lado Demirel y Yenigun (2004), evaluaron diferentes TRH sobre el proceso de acidificación de un desecho lácteo, como resultados encontraron que la mayor formación a AGVs fue en un TRH de 0.5 d con el 56% de conversión a una DQO de 5.0 g/L. En el

presente estudio el reactor para la acidogénesis se operó a un TRH de 0.5 d con una eficiencia de conversión máxima del 49.6%, cabe resaltar que la concentración de DQO alimentada en el estudio de Demirel y Yenigun (2004) fue por debajo del 50% de la de nuestro estudio, aunque alcanzaron una conversión ligeramente superior.

Por su parte, Saddoud *et al.* (2007) mostraron los resultados sobre la operación de un reactor acidogénico a un TRH de 1 d y alimentado hasta 19 g DQO/L, en el que alcanzaron una eficiencia de conversión del 52.2%, la cual es similar a la encontrada en el presente estudio. Finalmente, los resultados mostraron que el reactor para la acidogénesis podría tolerar COV más altas debido a la estabilidad que presentó en la eficiencia de conversión.

### **8.2.1 Materia orgánica en acidogénesis/metanogénesis**

La evaluación de la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero se ha estudiado en sistemas anaerobios de dos etapas (Tabla 14), donde los diferentes AGVs y otros intermediarios provenientes de la acidogénesis son degradados hasta CH<sub>4</sub>, en este sentido el reporte de Ince (1998) en acidogénesis/metanogénesis a un TRH de 2.0 d (fase acidogénica 0.5; fase metanogénica de 1.5 d), a una COV de 5 g DQO/L-d alcanzó eficiencias de remoción de 90% para DQO y de 95% para DBO<sub>5</sub>, como se muestra las eficiencias fueron altas, sin embargo en nuestro estudio se trataron COV cinco veces superiores (25.0±0.9 g DQO/L-d). Por su parte, Saddoud *et al.* (2007) reportó resultados cercanos a los nuestros en términos de COV en un sistema en dos etapas, en el que alcanzó eficiencias de remoción del 79 y 83% para la DQO y DBO<sub>5</sub>, respectivamente, a una carga orgánica de 19.8 g DQO/L-d y un TRH de 4 d, obteniendo una productividad de CH<sub>4</sub> de 0.31 L/g DQO<sub>degradada</sub>.

Mientras que, Göblös *et al.* (2008) probaron COV de 1.6 a 12.8 g DQO/L-d de suero ácido crudo y suero de leche pre-fermentado, a un TRH de 40 a 5 d, alcanzando eficiencias de remoción del 68 y 80% respectivamente y un rendimiento de 0.12 y 0.19 L CH<sub>4</sub>/g DQO<sub>degradada</sub> respectivamente. Comparando con este estudio, encuentran una menor capacidad de tratamiento aún con suero pre-fermentado.

Antonopoulou *et al.* (2008) mencionan que un proceso continuo (dos etapas) puede ser llevado exitosamente en condiciones acidogénicas/metanogénicas a un TRH de 1 y 4.4 d,

respectivamente, en condiciones mesófilas con un rendimiento de 0.3 L CH<sub>4</sub>/g DQO<sub>degradada</sub>, alcanzando eficiencias de remoción elevadas, pero la COV a la que obtienen sus mejores resultados es 40% inferior a la del presente estudio. Por su parte, Venetsaneas *et al.* (2009) reportaron una buena operación de dos digestores anaerobios en condiciones mesófilas, el reactor metanogénico alcanzó una producción de 1.0 L CH<sub>4</sub>/d a un TRH de 20 d y una eficiencia de remoción del 95.3% para la DQO. En contraste, en este estudio los TRH fueron cortos (2.5 d), por lo que se puede tratar un volumen más grande de lactosuero y COV muy superiores, con eficiencias de remoción entre el 65 y 97% con resultados satisfactorios y a temperatura ambiente (22°C).

**Tabla 14.** Acidogénesis/metanogénesis, comparación de este estudio con la literatura.

Residuo	TRH (d)	DQO (g/L)	COV (g DQO/L-d)	ER (%)	CH <sub>4</sub> (L/LR-d)	Referencias
ARL	2	10.0	5.0	90	-	Ince (1998)
SQ	4	79.2	19.8	79	<sup>a</sup> 0.31	Saddoud <i>et al.</i> (2007)
SQ	40-5	-	1.6-12.8	68-80	<sup>a</sup> 0.19	Göblös <i>et al.</i> (2008)
SQ	5.4	45.0	10.2	94	<sup>a</sup> 0.31	Antonopoulou <i>et al.</i> (2008)
SQ	20	30.0	1.5	95.3	<sup>b</sup> 1.0	Venetsaneas <i>et al.</i> (2009)
SQ	5	15	3.0	80-90	<sup>b</sup> 1.15	Gannoun <i>et al.</i> (2008)
SQ	0.8	8.9	22.26	78	<sup>a</sup> 0.37	Diamantis <i>et al.</i> (2014)
Lactosuero	2.5	1.2-12.4	2.4-24.8	65-97	1.15 ( <sup>a</sup> 0.22; <sup>b</sup> 3.9)	En este estudio

ARL: Agua residual láctea; SQ: Suero de queso. <sup>a</sup>L CH<sub>4</sub>/g DQO<sub>degradada</sub>; <sup>b</sup>L CH<sub>4</sub>/d;

Estudiando la degradación de un suero pre-acidificado en un filtro anaerobio, Gannoun *et al.* (2008) indican que los mejores resultados los obtienen a 15 g DQO/L equivalentes a una COV de 3.0 g DQO/L-d, con eficiencias de remoción del 80 al 90%; sin embargo, al aumentar la DQO a 20 g/L (4 g DQO/L-d), el filtro anaerobio se desestabilizó y se redujo la eficiencia de remoción hasta un 72%. Por lo que la capacidad de tratamiento fue inferior a la alcanzada

en nuestro estudio. Los autores comentan que la desestabilización de su proceso fue principalmente causada por acumulación de intermediarios.

Comparando con el estudio realizado recientemente por Diamantis *et al.* (2014), quienes alcanzaron una eficiencia de remoción del 78% en acidogénesis/metanogénesis, a una DQO de 8.9 g/L (22.2 g DQO/L-d) y una temperatura de 30°C, en nuestro estudio se obtuvo una mayor capacidad de tratamiento; los autores mencionan que la configuración de dos etapas es más favorable para el tratamiento que los de una etapa, en lo que se coincide con ellos.

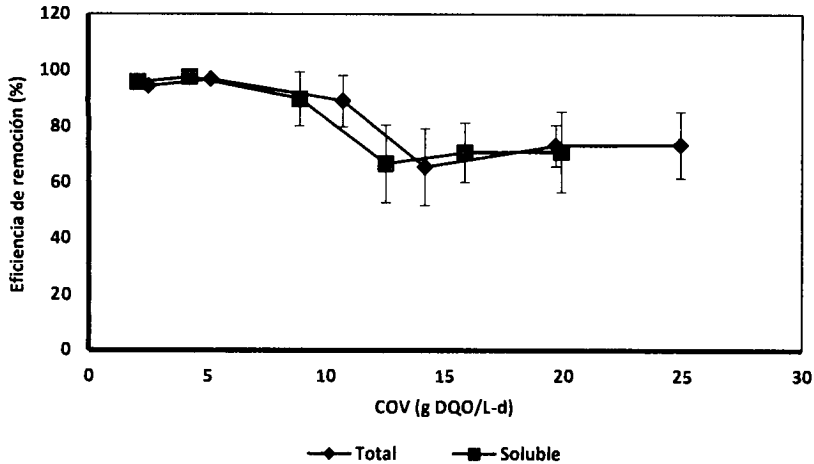
Durante la operación del reactor para la metanogénesis en este estudio, se presentaron tres periodos de inestabilidad, atribuidos a la acumulación de los diferentes productos intermediarios provenientes de la acidogénesis, por lo que la relación de alcalinidad, indicador de la estabilidad del proceso bajó hasta 0.6. Al respecto, algunos estudios mencionan que la metanogénesis es inhibida por procesos de acidificación, principalmente por acumulación de los diferentes ácidos formados entre ellos ácido láctico, fórmico, propiónico, butírico, entre otros (Demirel y Yenigun, 2004; Saddoud *et al.* 2007). También la literatura reporta que la degradación depende de la vía que sigan los componentes de lactosuero como son glucosa, lactosa, grasa y proteínas (Gannoun *et al.* 2008; Saddoud *et al.* 2007; Hassan y Nelson, 2012). Otra causa que puede afectar el proceso de degradación puede ser la concentración de grasas, ya que por su alta hidrofobicidad limitan el acceso de las sustancias de fácil degradación al interior de los gránulos que contienen a los microorganismos, además provocan el lavado de la biomasa por flotación en los sistemas de depuración (Hassan y Nelson, 2012), llevando a problemas de operación de los reactores usados para el tratamiento. Por último se sabe que el  $\text{NH}_4^+$  puede causar inhibición si supera concentraciones a partir de 2.5 g N- $\text{NH}_4^+$ /L (Tejerina *et al.* 2007; Saddoud *et al.* 2007; Göblös *et al.* 2008). Sin embargo estos periodos de inestabilidad del reactor para la metanogénesis se superaron.

Como se mostró, nuestro estudio presentó ventajas sobre la capacidad de tratamiento en comparación de otros estudios (Tabla 14), al permitir el tratamiento de materia orgánica desde  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L equivalentes a una COV de  $2.5 \pm 0.02$  a  $24.9 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L-d con eficiencias de remoción del  $63.3 \pm 13.6$  a  $96.8 \pm 0.9\%$ , a TRH cortos: global

de 2.5 d (0.5 acidogénesis; 2.0 metanogénesis) y una producción de CH<sub>4</sub> de 0.25±0.01 a 1.15±0.4 L/L<sub>R</sub>-d. Estos resultados pueden deberse a que los AGVs formados predominantemente en el reactor para la acidogénesis en los diferentes periodos de operación fueron ácido acético que es precursor directo de la metanogénesis, así como ácido butírico que puede transformarse a ácido acético con mayor facilidad, y en menor proporción de ácido propiónico y caproico, y aunque en algunos periodos de desestabilización del reactor para la metanogénesis se acumularon, finalmente con las estrategias aplicadas fue posible su degradación. Este comportamiento también puede atribuirse al tipo de reactores empleados para el tratamiento (UASB-híbridos), ya que por tener un filtro en la parte superior se evitó la pérdida de inóculo, que como se ha reportado en otros estudios (Saddoud *et al.* 2007) es uno de los problemas que afecta en mayor medida los tratamientos de este tipo de residuos. Otra variable importante en el tratamiento fue el control de pH en el influente del reactor para la acidogénesis, de tal manera de no permitir acidificación a niveles de pH menores a 4.0, y en el reactor para la metanogénesis el suplementar alcalinidad, que como otros autores han reportado es una estrategia de control de la alcalinidad (Venetsaneas *et al.*, 2009; Diamantis *et al.*, 2014).

Como se muestra en la Tabla 14, la máxima producción de CH<sub>4</sub> en nuestro estudio fue de 1.15±0.04 L/L<sub>R</sub>-d siendo igual a lo reportado por Gannoun *et al.* (2008) y Venetsaneas *et al.* (2009); el rendimiento alcanzado fue de 0.22 L CH<sub>4</sub>/g DQO<sub>degradada</sub> lo cual fue similar a lo encontrado por Göblös *et al.* (2008) y ligeramente menor a lo reportado por Saddoud *et al.* (2007) y Antonopoulou *et al.* (2008).

Resumiendo, todos los estudios coinciden en que a mayores COV la eficiencia de remoción tiende a disminuir como ocurrió en el presente estudio (Figura 15), pero que como se mostró anteriormente, esto pudo revertirse a través de las diferentes estrategias, concluyendo que la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero fue adecuada para la reducción de materia orgánica de lactosuero ácido y los mejores resultados se obtuvieron a: 1) 5.3±0.4 g DQO<sub>total</sub>/L (COV: 10.7±0.8 g DQO<sub>total</sub>/L-d) con un TRH global de 1.5 d (0.5 d acidogénesis; 1.0 d metanogénesis) y 2) 12.4±0.4 g DQO<sub>total</sub>/L (COV: 24.9±0.9 g DQO<sub>total</sub>/L-d) con un TRH global de 2.5 d (0.5 d acidogénesis; 2.0 d metanogénesis), con eficiencias de remoción de 89.0±9.1 y 79.9±5.4%, respectivamente.



**Figura 15.** Eficiencia de remoción a diferentes cargas orgánicas volumétricas durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero ácido.

### 8.2.2 Amonio y ortofosfatos

El nitrógeno en el lactosuero proviene principalmente de las proteínas de la leche, este se encuentra en diversas formas, entre ellas como proteínas y  $\text{NH}_4^+$  (Guillen-Jiménez *et al.*, 2000). Hassan y Nelson (2012) mencionan que el  $\text{NH}_4^+$  se genera a partir de la hidrólisis de proteínas produciendo aminoácidos, que a su vez son degradados por diferentes vías a diversos productos finales como ácidos orgánicos,  $\text{NH}_4^+$ /amoniaco ( $\text{NH}_3$ ),  $\text{CO}_2$ , pequeñas cantidades de  $\text{H}_2$  y compuestos azufrados. A concentraciones excesivas y pH alcalinos el  $\text{NH}_4^+$  puede limitar el crecimiento bacteriano e inhibir el proceso metanogénico.

En base a lo anterior, en este estudio se infiere que la concentración de  $\text{NH}_4^+$  en la acidogénesis/metanogénesis aumentó debido a la hidrólisis de las proteínas contenidas en el lactosuero, las cuales se encontraron en altas concentraciones, 2.8 hasta 30.3 g/L. Pero el incremento fue más significativo en el reactor para la metanogénesis ( $85.0 \pm 6.7 \text{ mg NH}_4^+/\text{L}$ ) dado que presentó condiciones más favorables para la amonificación, es decir, pH de 7.2 a 8.9 y TRH más largos en comparación con el reactor para la acidogénesis.

Al contrario del nitrógeno, el fósforo se encuentra principalmente en formas inorgánicas como  $\text{PO}_4^{-3}$  y polifosfatos ( $\text{P}_2\text{O}_7^{-4}$ ), los cuales representan alrededor del 70% del PT de un agua residual (Guillen-Jiménez *et al.*, 2000).

En el caso de los  $\text{PO}_4^{-3}$  no se observó un aumento o una degradación de este nutriente; en este caso se esperaba un decremento por precipitación con calcio (Guillen-Jiménez *et al.*, 2000) el cual generalmente es un componente del lactosuero. Se sabe que al tener un pH alcalino (min: 7.6 y máx: 9.0) y una concentración de  $1.25$  a  $3.75 \times 10^{-3}$  M de calcio se pueden formar compuestos insolubles como  $\text{Ca}_5(\text{PO}_3)\text{OH}$  (apatita) y  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (fosfato tricálcico), entre otros.

Göblös *et al.* (2008) mencionan que el efluente al término del respectivo tratamiento que emplearon presentó concentraciones altas de  $\text{NH}_4^+$  (544 mg  $\text{NH}_4^+/\text{L}$ ), por lo que sugieren un pos-tratamiento. En nuestro caso coincidimos con esta observación, ya que en este estudio se formaron  $16.5 \pm 7.3$  mg $\text{NH}_4^+/\text{L}$  en la acidogénesis y hasta  $85.0 \pm 6.7$  mg $\text{NH}_4^+/\text{L}$ , con una concentración en el último periodo de tratamiento de  $113.9 \pm 20.5$  mg  $\text{NH}_4^+/\text{L}$ . Por lo que las concentraciones rebasan los límites máximos permisibles dentro de la normatividad mexicana como se explicará en el siguiente apartado.

### **8.3 Composición del efluente tratado y comparación con la normatividad**

Comparando la composición del efluente al final del tratamiento acidogénico/metanogénico con la normatividad mexicana (Tabla 15) se observó lo siguiente:

Los SST en todas las concentraciones de materia orgánica alimentadas cumplieron con la NOM-001-001-SEMARNAT-1996 (para descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales) para su uso en riego agrícola; para uso público urbano sólo hasta  $5.3 \pm 0.4$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$  y hasta  $2.5 \pm 0.1$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$  para la protección de la vida acuática. Con la NOM-003-SEMARNAT-1997 (para aguas tratadas que se reúsen en servicios al público) sólo los efluentes de las primeras dos concentraciones cumplieron con lo establecido al no rebasar los 30 mg/L.

**Tabla 15.** Comparación del efluente tratado con la normatividad mexicana para la descarga de aguas residuales crudas y tratadas.

Normas mexicanas	SST	DQO	Parámetros (mg/L)			
			DBO <sub>5</sub>	Grasas y aceites	NT	PT
<sup>a</sup> NOM-001-SEMARNAT-1996	<sup>*</sup> 150/200 <sup>**</sup> 75/125 <sup>***</sup> 40/60	-	<sup>*</sup> 150/200 <sup>**</sup> 75/150 <sup>***</sup> 30/60	<sup>*</sup> 15/25 <sup>**</sup> 15/25 <sup>***</sup> 15/25	<sup>*</sup> 40/60 <sup>**</sup> 40/60 <sup>***</sup> 15/25	<sup>*</sup> 20/30 <sup>**</sup> 20/30 <sup>***</sup> 5/10
<sup>b</sup> NOM-002-SEMARNAT-1996	-	-	-	50/75	-	-
<sup>c</sup> NOM-003-SEMARNAT-1997	20/30	-	20/30	15	-	-
<sup>d</sup> NOM-CCA-009-1993	100/120	100/120		20/30		

Influyente (g DQO <sub>total</sub> /L)	Efluente de la acidogénesis/metanogénesis					
1.2±0.01	28	35	-	-	-	-
2.5±0.1	15	45	14.3	-	-	31.0
5.3±0.4	97	360	70.3	-	-	77.3
7.6±0.3	130	1889	81.9	-	-	107.0
9.8±0.7	149	1873	100.8	-	-	139.0
12.4±0.4	176	2518	171.1	-	-	148.2

<sup>a</sup>Promedio mensual/promedio diario: <sup>\*</sup>uso en riego agrícola; <sup>\*\*</sup>uso público urbano y <sup>\*\*\*</sup>protección de la vida acuática en las descargas a ríos. <sup>b</sup>Promedio mensual/promedio diario. <sup>c</sup>Servicios al público con contacto directo/servicios al público con contacto indirecto u ocasional. <sup>d</sup>Promedio diario/valor instantáneo.

Específicamente con la NOM-CCA-009-1993 (para descargas de aguas residuales de la industria procesadora de leche y productos lácteos) el efluente cumplió hasta 5.3±0.4 g DQO<sub>total</sub>/L, al no superar los 120 mg/L de SST.

La DQO únicamente se reglamenta en la NOM-CCA-009-1993 y como se muestra en la Tabla 15, los efluentes de las dos primeras concentraciones de materia orgánica tratadas cumplen con esta norma, dado que los demás sobrepasan los 120 mg/L establecidos como



máximos. Respecto a la DBO<sub>5</sub>, con excepción de la concentración de  $12.4 \pm 0.4$  g DQO/L, el efluente de todas las concentraciones es apto para su uso en riego agrícola y uso público urbano; mientras que, para la protección de la vida acuática sólo es adecuado el de la segunda concentración probada (NOM-001-001-SEMARNAT-1996). De la misma forma a esta concentración cumple para su uso en servicios al público con contacto directo e indirecto u ocasional como se establece en la NOM-003-SEMARNAT-1997.

En el caso del PT el cual incluye a los  $\text{PO}_4^{3-}$ , estos se encontraron en el efluente acidogénico/metanogénico en concentraciones de 31 a 148.2 mg/L, las cuales rebasaron lo establecido en la NOM-001-001-SEMARNAT-1996 para todos los usos.

Es importante resaltar que, aunque no todas las concentraciones de materia orgánica alimentadas se pudieron obtener niveles de los parámetros que estuvieran dentro de lo establecido en la normatividad mexicana, las concentraciones y COV de lactosuero tratadas en el presente estudio ( $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L;  $24.9 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L-d) disminuyen en alto grado el impacto ambiental que se generaría al descargar el lactosuero crudo, el cual llega a tener concentraciones de entre 51.7 y 100.9 g DQO<sub>total</sub>/L (Tabla 7), además de un pH ácido que por sus niveles es letal para la mayoría de los organismos acuáticos, y que al final del tratamiento acidogénico/metanogénico se mantuvo en  $7.9 \pm 0.3$ .

## 9. Conclusiones

- La acidogénesis/metanogénesis a cortos TRH fue adecuada para la reducción de materia orgánica de lactosuero ácido y los mejores resultados se obtuvieron a:
- $5.3 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L (COV:  $10.7 \pm 0.8$  g DQO<sub>total</sub>/L-d) y un TRH global de 1.5 d, con eficiencias de remoción de  $89.0 \pm 9.1\%$  y una producción de  $1.15 \pm 0.4$  L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d.
- $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L (COV:  $24.9 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L-d) y un TRH global de 2.5 d, con eficiencias de remoción de  $79.9 \pm 5.4\%$  y una producción de  $0.9 \pm 0.2$  L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d.
- En la acidogénesis se alcanzaron buenas eficiencias de conversión a intermediarios ( $37.9 \pm 11.9$  a  $49.6 \pm 4.0\%$ ) y los principales AGVs formados fueron acético, butírico, propiónico y caproico.
- La proporción de los AGVs formados en la acidogénesis fue dependiente del pH del lactosuero alimentado, pero también de la concentración de la materia orgánica.
- La formación de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en la acidogénesis ( $16.5 \pm 7.3$  mg/L) fue menos significativa que en la metanogénesis ( $85.0 \pm 6.7$  mg/L).
- Los PO<sub>4</sub><sup>-</sup> no presentaron cambio a través del tratamiento por acidogénesis/metanogénesis.
- Aunque no en todas las condiciones estudiadas en acidogénesis/metanogénesis se pudieron obtener niveles de los parámetros que estuvieran dentro de lo establecido en la normatividad mexicana, la reducción de la carga contaminante del lactosuero sí reduciría en alto grado el impacto ambiental que se generaría al descargar el lactosuero crudo.

## **10. Recomendaciones**

Dividir el proceso de digestión anaerobia en dos etapas acidogénesis/metanogénesis se recomienda ampliamente ya que se obtuvieron buenas eficiencias de remoción a cortos TRH. Sin embargo hay que tener en consideración el buen manejo de parámetros como el pH, así como otras condiciones de operación. Asimismo se recomienda implementar un reactor para la acidogénesis con dos reactores para la metanogénesis o de un volumen mayor. Se propone mejorar el diseño de la parte del filtro del reactor UASB-híbrido empleado para la metanogénesis para tener una mayor recuperación del biogás.

## 11. Literatura citada

- Adekunle K., Okolie J. 2015. A Review of biochemical process of anaerobic digestion. *Adv. Biosci. Biotechnol.* 6: 205–212.
- Almario F., Mojica P., Cuéllar S., Montoya M. 2013. Uso del suero de leche en alimentos y sus sustitutos. Industria y Comercio Superintendencia. *Boletín Tecnológico*. Noviembre: 1–122.
- Almeida A., Navarrete-Rivera E., Alvarado A., Cervantes-Ovalle A., Luevanos M.P.E., Oropeza R., Bolagurusamy N. 2011. Expresión genética en la digestión anaerobia: un paso adelante en la comprensión de las interacciones tróficas de esta biotecnología. *Acta Química Mexicana*. 3 (6): 14–34.
- Alpina S.A., Copacking C.S.A., Copacol A.S.A. 2009. Pulverización de suero en la disminución de carga orgánica residual. Disponible en: [http://www.cccodes.org.co/descargas/casos\\_sostenibilidad/casosind/alpina1final.pdf](http://www.cccodes.org.co/descargas/casos_sostenibilidad/casosind/alpina1final.pdf) (Consultado el 14 de Mayo del 2014).
- Antonopoulou G., Stamatelatos K., Venetsaneas N., Kornaros M., Lyberatos G. 2008. Biohydrogen and methane production from cheese whey in a two-stage anaerobic process. *Ind. Eng. Chem. Res.* 47 (15): 5227–5233.
- APHA-AWWA-WEF. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation: Washington, DC, USA.
- Aquino I. (2012). Impulsan industria artesanal para la elaboración de quesos productores huamantlecos. El sol de Tlaxcala. Disponible en: <http://www.oem.com.mx/elsoldetlaxcala/notas/n2604963.htm>. (Consultado el 17 de mayo del 2016).
- Arango O., Sanches L. 2009. Tratamiento de aguas residuales de la industria láctea en sistemas anaerobios tipo UASB. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 7 (2): 25–31.

- Bermúdez-Savón R., Hoyos-Hernández J., Rodríguez-Pérez S. 2000. Evaluación de la disminución de la carga contaminante de la vinaza de la destilería por tratamiento anaerobio. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 16 (3): 103–107.
- Briones R., Aguilar G., Kuppusamy I. 2002. Biodegradación de un efluente textil mediante un reactor anaerobio tipo EGSB. XXVIII Congreso interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Cancún, México. 27 al 31 de Octubre.
- Carrillo J. 2006. Tratamiento y reutilización del suero de la leche. *Mundo Lácteo y Cárnico.* Noviembre/Diciembre: 27–30.
- Carvalho F., Prazeres A., Rivas J. 2013. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. Review. *Sci. Total Environ.* 385–396.
- Castilla P. 2006. Biodegradación anaerobia de compuestos petroquímicos. Tesis de Doctorado, Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Ciudad de México, México. 122p.
- Cesín A., Aliphath M., Ramírez B., Herrera J., Martínez D. 2007. Ganadería lechera familiar y producción de queso. Estudio en tres comunidades del municipio de Tetlatlahuca en el estado de Tlaxcala, México. *Técnica Pecuaria en México.* 45 (1): 61–66.
- Chatzipaschali A.A., Stamatis A.G. 2012. Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: current status and prospects. *Energies.* 5(9): 3492–3525.
- Contreras F. 1994. Manual de técnicas hidrobiológicas. Ed. Trillas. Ciudad de México. 69–74p.
- Demirel B., Scherer P. 2008. The roles of acetotrophic and hydrogenotrophic methanogens during anaerobic conversion of biomass to methane: a review. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.* 7: 173–190.

- Demirel B., Yenigun O. 2004. Anaerobic acidogenesis of dairy wastewater: the effects of variations in hydraulic retention time with no pH control. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79: 755–760.
- Diamantis V., Kapagiannidis G., Ntougias S., Tatakis V., Melidis P., Aivasidis A. 2014. Two-stage CSTR–UASB digestion enables superior and alkali addition-free cheese whey treatment. *J. Biochem. Eng.* 84: 45–52.
- Diekert G., Wohlfarth G. Metabolism of homoacetogens. *Antonie van Leeuwenhoek.* 66 (1): 209–221.
- Drake H.L. 1994. *Acetogenesis*. Ed. Chapman & Hall. New York, USA. 14–60p.
- Fernández M., Avalos A., Crombet S., Caballero H. 2010. Ensayos de biodegradabilidad anaerobia de aguas residuales generadas en una planta refinadora de aceite de soja. *Interciencia.* 35 (8): 600–604.
- Ferry J.G. Fermentation of acetate. 1993. In: *Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics*. Ed. Chapman & Hall, Inc. New York, USA. 304–334p.
- Gan J. 2010. Eliminación de materia carbonada de residuos líquidos orgánicos municipales en un filtro anaerobio. Tesis de Especialidad, Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Ciudad de México, México. 42p.
- Gannoun H., Khelifi E., Bouallagui H., Touhami Y., Hamdi M. 2008. Ecological classification cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter. *Bioresour. Technol.* 99 (14): 6105–6111.
- García J., Patel B., Ollivier B. 2000. Taxonomic, phylogenetic, and ecological diversity of methanogenic Archaea. *Anaerobe.* 6: 205–226.
- Gavala H., Yenil U., Skiadas I., Westermann P., Ahring B. 2003. Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. Effect of pre-treatment at elevated temperature. *Wat. Res.* 37: 4561–4572.

- Gelegenis J., Georgakakis D., Angelidaki I., Mavris V. 2007 Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renew. Energ.* 32:2147–2160.
- Gil Z.M. 2007. Industrialización de proteínas del lactosuero. *ReCiTeIA.* 7 (2): 1–25.
- Göblös S., Portoro P., Bordás D., Káamán M., Kiss I. 2008. Comparison of the effectivities of two-phase and single-phase anaerobic sequencing batch reactors during dairy wastewater treatment. *Renew. Energ.* 33: 960–965.
- González L., Ávila C., Montañez J., Rodríguez H. 2012. Potencialidades del suero lácteo como fuente proteica en la elaboración de dietas para el camarón blanco (*litopenaeus vannamei*). XVIII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica, VII Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica, X Jornadas Científicas de Biomedicina y Biotecnología Molecular. Ixtapa-Zihuatanejo Guerrero, México. 28 al 30 de Marzo.
- Gornall A.G., Bardawill C.J., David M.M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177(2): 751–766.
- Grass J., Cervantes F., Altamirano J. 2013. Estrategias para el rescate y valoración del queso tenate de Tlaxco. Un análisis desde el enfoque de sistemas agroalimentarios localizados (Sial). *Culturales.* 1 (2): 9–54.
- Guardia Y. 2012. Estudio de la digestión anaerobia en dos fases para el tratamiento de aguas residuales de despulpe del beneficio húmedo del café. Tesis de Doctorado, Biotecnología, Medición Ambiental. Universidad Politécnica de Madrid, Madrid. 161p.
- Guerrero-Rodríguez W.J., Castilla-Hernández P., Cárdenas-Medina K.N., Gómez-Aldapa C.A. 2012. Degradación anaerobia de dos tipos de lactosuero en reactores UASB. *Tecnol. Quím.* 32 (1): 99–106.

- Guillen-Jiménez E., Álvarez-Mateos P., Romeo-Guzmán F., Pereda-Marín J. 2000. Bio-mineralization of organic matter in dairy wastewater, as affected by pH. The evolution of ammonium and phosphates. *Wat. Res.* 34: 1215–1224.
- Hassan A.N., Nelson B.K. 2012. Invited review: Anaerobic fermentation of dairy food wastewater. *J. Dairy Sci.* 95: 6188–6203.
- Henning D., Baer R., Hassan A., Dave R. 2006. Major advances in concentrated and dry milk products, cheese and milk fat-based spreads. *J. Dairy Sci.* 89: 1179–88.
- Horiuchi J., Shimizu T., Tada K., Kanno T., Kobayashi M. 2002. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresour. Technol.* 82: 209–213.
- Ince O. 1998. Performance of a two-phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater. *Wat. Res.* 32 (9): 2707–2713.
- Kalogo Y., Verstraete W. 1999. Development of anaerobic sludge bed (ASB) reactor technologies for domestic wastewater treatment: motives and perspectives. *J. Microbiol. Biotechnol.* 15 (5): 523–534.
- Kalyuzhnyi S.V., Martinez E.P., Martinez J.R. 1997. Anaerobic treatment of high-strength cheese whey wastewaters in laboratory and pilot UASB reactors. *Bioresour. Technol.* 60: 59–65.
- Kissalita W., Lo K., Pinder K. 1989. Influence of dilution rate on the phase products distribution during two-phase lactose anaerobiosis. *Biotechnol. Bioeng.* 34: 1235–1250.
- Lettinga G., Velseo A.F.M., Hobma S.W., Zeeuw W. 1980. Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment, especially for anaerobic treatment. *Biotechnol. Bioeng.* 22 (4): 699–734.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193(1): 265–275.



- Madigan T.M., Martinko M.J., Parker J. 2004. *Brock: Biología de los Microorganismos*. Ed. Pearson Educación, S. A. Madrid, España. 1096p.
- Martí O.N. 2006. Phosphorus precipitation in anaerobic digestion process. Boca Ratón Florida, USA. 50p. Disponible en: <http://www.bookpump.com/dps/pdf-b/1123329b.pdf> (Consultado el 2 de mayo del 2014).
- Mockaitis G., Ratusznei S.M., Rodrigues J.A.D., Zaiat M., Foresti E. 2006. Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. *J. Environ. Manage.* 79 (2): 198–206.
- Muñoz M.D. 2005. Sistema de tratamiento de aguas residuales de matadero para una población menor 2000 habitantes. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 3 (1): 87–98.
- NMX-AA-005-SCFI-2013. Análisis de agua – medición de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba (cancela a la nmx-aa-005-scfi-2000). Diario Oficial de la Federación. 11 de abril de 2014.
- NMX-AA-028-SCFI-2001. Análisis de agua - determinación de la demanda bioquímica de oxígeno en aguas naturales, residuales (DBO<sub>5</sub>) y residuales tratadas - método de prueba (cancela a la nmx-aa-028-1981). Diario Oficial de la Federación.
- Noa M., Pérez N., Díaz G., Vega S. 2005. Cromatografía de gases y de líquidos de alta resolución: Aplicación en el análisis de alimentos. Serie Académicos CBS, Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, Ciudad de México, México. Núm. 57. 326p.
- NOM-001-ECOL-1996. Norma oficial mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación. 23 abril de 2003.
- NOM-002-ECOL-1996. Norma oficial mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano y municipal. Diario Oficial de la Federación. 3 junio de 1998.

- NOM-003-ECOL-1997. Norma oficial mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicio al público. Diario Oficial de la Federación. 21 de septiembre de 1998.
- NOM-CCA-009-ECOL-1993. Norma oficial mexicana que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de la industria elaboradora de leche y sus derivados. Diario Oficial de la Federación. 18 de Octubre de 1993.
- Ragsdale S.W., Pierce E. 2008. Acetogenesis and the Wood–Ljungdahl pathway of CO<sub>2</sub> fixation. *BBA Proteins and Proteomics*. 1784: 1873–1898.
- Panesar P.S., Kennedy J.F., Gandhi D.N., Bunko K. 2007. Bioutilisation of whey for lactic acid production. *Food Chem*. 105(1): 1–14.
- Parra H.R.A. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín*. 62 (1): 4967–4982.
- Parra H.R.A. 2010. Digestión anaerobia de lactosuero: Efecto de altas cargas puntuales. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín*. 63 (1): 5385–5394.
- Parra H.R.A., Campos M.R.G. 2014. Evaluación del comportamiento de un reactor UASB con diferentes cargas orgánicas provenientes de lactosuero. *Producción + Limpia*. 9 (1): 23–30.
- Pavlostathis S., Giraldo E. 1991. Kinetics of anaerobic treatment: a critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 21 (5-6): 411–490.
- Pomeón T., Boucher F., Cervantes F., Fournier S. 2006b. Las dinámicas colectivas en dos cuencas lecheras mexicanas: Tlaxco, Tlaxcala y Tizayuca, Hidalgo. *Agroalimentaria*. 22: 49–64.
- Rico G.J.L., García E.P.A., Fdez-Polanco F. 1991. Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB Reactor. *Bioresour. Technol*. 37: 271–276.

- Poméon T., Boucher F., Cervantes F., Fournier S. 2006a. Innovación tecnológica, oportunidad y acción colectiva, en la concentración quesera de Tlaxco, Tlaxcala, México. *Perspectivas Rurales*. (17-18): 67–83. Disponible en : [www.revistas.una.ac.cr/index.php/perspectivasrurales/article/.../3962](http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/perspectivasrurales/article/.../3962) (Consultado el 17 de Mayo del 2014).
- Saddoud A., Hassaïri I., Sayadi S. 2007. Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresour. Technol.* 98: 2102–2108.
- SAGARPA. 2011. Perspectivas de largo plazo para el sector agropecuario de México 2011-2020 Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios. Disponible en: [http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/estudios\\_economicos/escenariobase/perspectivalp\\_11-20.pdf](http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/estudios_economicos/escenariobase/perspectivalp_11-20.pdf) (Consultado el 18 de mayo del 2014).
- Tejerina, W.A., Farfán, R., Cuevas, C.M. 2007. Efectos del amoníaco, sulfuro y taninos sobre la actividad de un lodo anaeróbico. *Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente*. 11: 06–23.
- Tetra P., Laval A. 1996. Manual de industrias lácteas. Traducido por Antonio López Gómez y A. Madrid Vicente. Capítulo 8. 11–14p. <https://celfacenli.files.wordpress.com/2015/10/manual-de-industrias-lacteas-tetra-pak-pdf-descargar.pdf> (consultado el 15 de enero del 2014).
- Thauer R.K., Hedderich R., Fischer R. 1993. Reactions and enzymes involved in methanogenesis from CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>. Part II. Biochemistry. In: *Methanogenesis, ecology, physiology, biochemistry and genetics*. Ed. Ferry G.J. Chapman & Hall, Inc. New York, USA. 207–252p.
- UNAM. 2008. Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos. Laboratorio de alimentos I. Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM. Ciudad de México, México. 1-58p.
- Valencia D.E., Ramírez C.M.L. 2009. La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos*. 16 (73): 27–31.

- Valencia J. 2008. El suero de quesería y sus posibles aplicaciones. *Mundo Lácteo y Cárnico*. Marzo/abril: 16–18.
- Venetsaneas N., Antonopoulou G., Stamatelatu 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. *Bioresour. Technol.* 100 (15): 3713–3717.
- Verdini R. 2015. Análisis del contenido de proteínas en los alimentos. Manual. Ciencia y tecnología de los alimentos. Química de los alimentos. Disponible en: [http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/124179/mod\\_resource/content/1/QA-2015-PROTEINAS-METODOS.pdf](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/124179/mod_resource/content/1/QA-2015-PROTEINAS-METODOS.pdf) (consultado el 13 de abril del 2016).
- Yan J.Q., Liao P.H., Lo K.V. 1988. Methane production from cheese whey. *Biomass*. 17 (3): 185–202.
- Yan J.Q., Liao P.H., Lo K.V. 1989. Anaerobic digestion of cheese whey using upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Biol. Waste*. 27 (4): 289–305.
- Yu H., Fang H. 2001. Acidification of mid- and high-strength dairy. *Wat. Sci. and Technol.* 35 (15): 3697–3705.
- Yu H., Fang H. 2002. Acidogenesis of dairy wastewater at various pH levels. *Wat. Sci. Technol.* 45 (10): 201–206.

## 12. Artículo

## TWO PHASES (ACIDOGENIC/METHANOGENIC) FOR THE ACID CHEESE WHEY TREATMENT IN HYBRIDS UASB REACTORS

### TRATAMIENTO ANAEROBIO EN DOS ETAPAS (ACIDOGÉNESIS/METANOGÉNESIS) DE LACTOSUERO ÁCIDO EN REACTORES UASB HÍBRIDOS

Cárdenas-Medina Karen Noemi<sup>1</sup>, Fajardo-Ortiz María del Carmen<sup>2</sup>, Schettino-Bermúdez Beatriz Sofía<sup>3</sup> and Castilla-Hernández Patricia<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Depto. El Hombre y su Ambiente. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calz. del Hueso 1100, Wa-309, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México.

<sup>2</sup>Depto. Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco 186, W106, Col. Vicentina, Iztapalapa, 09340 Ciudad de México.

<sup>3</sup>Depto. Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. Calz. del Hueso 1100, Ed. F, Col. Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México.

\*Corresponding author: castilla@correo.xoc.uam.mx

Fecha de envío: a enviarse en 2016.

#### Abstract

The cheese industry, produce residues as the whey, this is characterized by the high organic matter concentration and others nutrients, and can affect negatively the environment if is released without treatment. In this study was evaluated the anaerobic degradation of acid cheese whey in two phases (acidogenesis/methanogenesis). Ten batches of cheese whey were characterized and two UASB-Hybrid reactors (packed with zeolite on top) were operated in series during 277 days, one for the acidogenesis and the other for the methanogenesis. The first was fed with organic matter concentrations from  $1.2 \pm 0.01$  to  $12.4 \pm 0.4$  gCOD<sub>total</sub>/L, HRT of 0.5 d and a pH of 4.5 to 7.5; the second from  $1.0 \pm 0.03$  to  $10.8 \pm 0.9$  gCOD<sub>total</sub>/L, HRT of 0.5, 1.5 y 2 d and a pH of 6.0 y 7.0. The characterization showed the high contaminant content of the cheese whey. The acidogenic reactor presented a good conversion efficiency to intermediaries ( $37.9 \pm 11.9$  a  $49.6 \pm 4.0\%$ ) and were mainly acetic, butyric, propionic and caproic acids. The methanogenic reactor reached removal efficiencies of  $60.3 \pm 10.7$  to  $96.8 \pm 0.9\%$  of the COD<sub>total</sub>, with a production of  $0.25 \pm 0.01$  to  $0.94 \pm 0.1$  L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d. The NH<sub>4</sub><sup>+</sup> formation in acidogenesis ( $16.5 \pm 7.3$  mg/L) was less significant than in the methanogenesis ( $85.0 \pm 6.7$  mg/L); by the contrary, by the PO<sub>4</sub><sup>-</sup> was not observed change through of the acidogenesis/methanogenesis. **Keywords:** acidogenic/methanogenic; anaerobic digestion; acid cheese whey; hybrid UASB reactor.

#### Resumen

La industria quesera genera residuos como el lactosuero, que se caracteriza por la alta concentración de materia orgánica y otros nutrientes, y puede afectar negativamente al medio ambiente si se desecha sin tratamiento. En este estudio se evaluó la degradación anaerobia de lactosuero ácido, en dos etapas (acidogénesis/metanogénesis). Se caracterizaron diez lotes de lactosuero y se operaron en serie durante 277 días dos reactores UASB-Híbridos (empacados en la parte superior con zeolita), uno para la acidogénesis y otro para la metanogénesis. El primero se alimentó con concentraciones de materia orgánica de  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L, TRH de 0.5 d y un pH de 4.5 a 7.5; el segundo de  $1.0 \pm 0.03$  a  $10.8 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L, TRH de 0.5, 1.5 y 2 d y pH de 6.0 y 7.0. La caracterización mostró el alto contenido contaminante del lactosuero. El reactor para la acidogénesis presentó buena eficiencia de conversión a intermediarios ( $37.9 \pm 11.9$  a  $49.6 \pm 4.0\%$ ), siendo los principales ácido acético, butírico, propiónico y caproico. El reactor para la metanogénesis alcanzó eficiencias de remoción de la DQO<sub>total</sub> de  $60.3 \pm 10.7$  a  $96.8 \pm 0.9\%$ , con una producción de  $0.25 \pm 0.01$  a  $0.94 \pm 0.1$  L CH<sub>4</sub>/L<sub>R</sub>-d. La formación de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en acidogénesis ( $16.5 \pm 7.3$  mg/L) fue menos significativa que en la metanogénesis ( $85.0 \pm 6.7$  mg/L); por el contrario, los PO<sub>4</sub><sup>-</sup> no presentaron cambio a través de la acidogénesis/metanogénesis.

**Palabras clave:** acidogénesis metanogénesis, digestión anaerobia, lactosuero ácido, reactor UASB híbrido.

## 1. Introduction

El lactosuero es definido como un líquido de color amarillo verdoso que es producido durante la elaboración de queso, a partir de la separación por coagulación de la caseína de la leche (Gelegenis *et al.*, 2007; Valencia y Ramírez, 2009; Parra, 2009; Carvalho *et al.*, 2013). El tipo de lactosuero depende del proceso empleado para desestabilizar la caseína y formar la cuajada; Henning *et al.* (2006), mencionan que hay tres posibles métodos: acidificación directa (mediante un cultivo iniciador); proteólisis limitada empleando enzimas, y por una combinación de ambos. Si la acidificación se realiza por adición directa de algún ácido orgánico o mineral, presenta un pH alrededor de 4.6, si la acidificación se lleva a cabo por la acción de bacterias ácido lácticas el pH será aproximadamente de 5.6. Ambos lactosueros se conocen como sueros “ácidos”. Cuando participan enzimas en la desestabilización de la caseína, el lactosuero se caracteriza por poseer un pH de 6.5 y se domina suero “dulce”. A pesar de los múltiples usos del lactosuero como materia prima para la elaboración de subproductos como suero en polvo, yogurt, productos untables, embutidos y confitería (Almario *et al.*, 2013), aproximadamente el 47 por ciento, de las 115 millones de toneladas por año que se producen a nivel mundial (Saddoud *et al.*, 2007) y de alrededor de un millón de toneladas a nivel nacional (Valencia y Ramírez 2009), son descargados al suelo, drenaje o cuerpos de agua sin recibir tratamiento causando un impacto negativo al ambiente, sin embargo, el impacto no sólo se debe a los volúmenes generados, sino a las propiedades físico-químicas que este residuo presenta, entre estas, la alta concentración de materia orgánica, que como demanda química de oxígeno (DQO) fluctúa de 40 a 73 g/L, con una demanda bioquímica de oxígeno (DBOs) de entre 37 y 40 g/L (Demirel y

Yenigun, 2004; Saddoud *et al.*, 2007; Gannoun *et al.*, 2008; Venetsaneas *et al.*, 2009 y Guerrero-Rodríguez *et al.*, 2012). De estas el mayor componente es la lactosa, pero también contiene proteínas solubles, lípidos y minerales (Aspasia *et al.*, 2012), además contiene nutrientes como nitrógeno y fósforo.

La digestión anaerobia in a single phase se ha utilizado ampliamente para el tratamiento de lactosuero (Yan, 1988; Rico *et al.* 1991; Kalyuzhnyi *et al.* 1997; Mockaitis *et al.* 2006; Arango y Sanches, 2009; Parra, 2010; Guerrero-Rodríguez *et al.* 2012; Parra y Campos, 2014), en ésta la degradación de la materia orgánica se lleva a cabo en un mismo sistema físico e incluye varios procesos que son hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis, generando productos finales como metano (CH<sub>4</sub>) y bióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Los diversos estudios empleando una sola fase, coinciden en que al aumentar la carga orgánica de lactosuero, el proceso de metanogénesis se acidifica rápidamente debido a la acumulación de los productos intermediarios provenientes de la acidogénesis y a la baja alcalinidad de bicarbonato (50 meq/L) (Gannoun *et al.*, 2008; Arango y Sanches, 2009; Guerrero-Rodríguez *et al.*, 2012); por lo que una alternativa que se está estudiando es la digestión anaerobia in two phases, acidogenesis/methanogenesis (Saddoud *et al.*, 2007; Goblos *et al.*, 2008; Antonopoulou *et al.*, 2008; Venetsaneas *et al.*, 2009; Diamantis *et al.*, 2014). La división de este proceso consiste en llevar a cabo la etapa de acidogénesis en un espacio físico, y en otro la metanogénesis, pero ambos operan en serie. Las ventajas de implementar un sistema en dos fases son las altas cargas orgánicas que pueden degradar los microorganismos (Saddoud *et al.*, 2007; Goblos *et al.*, 2008; Diamantis *et al.*, 2014), las altas eficiencias de remoción que se pueden alcanzar (>80%), así como la prevención de la acidificación del proceso metanogénico (Saddoud *et al.*, 2007;

Goblos *et al.*, 2008; Antonopoulou *et al.*, 2008; Venetsaneas *et al.*, 2009; Diamantis *et al.*, 2014), sin embargo todavía existen varios aspectos que se deben estudiar como son tiempos de retención hidráulico (TRH) más cortos o sistemas de tratamiento que eviten la pérdida de biomasa como ocurre en varios sistemas (Saddoud *et al.*, 2007). Por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar la degradación anaerobia en dos etapas (acidogénesis/metanogénesis) de lactosuero ácido para reducir su impacto ambiental, empleando reactores UASB-híbridos.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1 Origen y composición del lactosuero

El lactosuero utilizado en este estudio se obtuvo de una quesería del estado de Tlaxcala. La toma de muestra fue directamente después de la fabricación del queso tipo oaxaca. A cada lote se le determinó la concentración de materia orgánica expresada como demanda química de oxígeno ( $DQO_{total}$  y  $DQO_{soluble}$ ), demanda biológica de oxígeno ( $DBO_5$ ), carbohidratos, sólidos totales (ST) y suspendidos (SST), amonio ( $NH_4^+$ ), fósforo total (PT) y ortofosfatos ( $PO_4^{3-}$ ). Grasas y aceites, carbono orgánico total (COT), nitrógeno total (NT), proteína total y soluble, así como pH (Tabla 1).

**Tabla 1.** Muestra la composición del lactosuero ácido empleado en el presente estudio.  $n = 10$ .

Parámetro	Promedio (g/L)	Parámetro	Promedio (g/L)
pH	4.3±0.6	Grasas y aceites	3.6±1.0
DQO	85.4±15.9	NT	1.3±0.5
DBO <sub>5</sub>	52.9±10.0	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0.06±0.03
ST	60.5±15.2	Proteína total	18.3±8.7
SST	11.2±1.1	Proteína soluble	5.8±2.6
COT	24.1±4.9	PT	1.2±0.4
Carbohidratos	74.4±22.1	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1.1±0.3

### 2.2 Instalación y puesta en marcha de los reactores

#### 2.2.1 Reactor para la acidogénesis

El reactor para la acidogénesis (R-Ac), consistió en un sistema de acrílico de un volumen de 2.7 L y se empacó en la parte superior con 280 g de zeolita de diámetro entre 0.5mm y 13 mm ( $\phi$  promedio = 9 mm) (Figura 1). Se inoculó con 640 mL de lodo anaerobio con 28.2 g SSV/L, proveniente de la planta de tratamiento de aguas residuales de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. En el reactor los

microorganismos se seleccionaron a condiciones ácidas, para lo que, durante 54 días se alimentó lactosuero ( $1.25 \pm 0.01$  g DQO/L) a un pH de 4.5. El TRH de operación fue de 0.5 d.

#### 2.2.2 Reactor para la metanogénesis

Para la metanogénesis (R-Me) se instaló un reactor de acrílico, de un volumen de 4.3 L, también empacado con zeolita (Figura 1). Se inoculó con 960 mL de lodo anaerobio de la misma fuente que el empleado para la acidogénesis. Para adaptar a los microorganismos al lactosuero, el reactor se

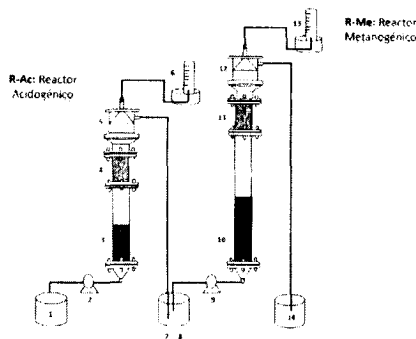


alimentó por 54 días con este residuo a una concentración de  $1.25 \pm 0.01$  g DQO<sub>total</sub>/L y a un pH de 7.0; se suplementó con 2 g de bicarbonato de sodio (NaHCO<sub>3</sub>) y el TRH de operación fue de 0.75 y 1d.

### 2.2.3 Acidogénesis/metanogénesis de lactosuero

Para evaluar la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero, una vez seleccionados a los microorganismos acidogénicos y adaptado a los metanogénicos, se inició la operación en serie de los dos reactores, es decir el efluente

del reactor empleado para la acidogénesis se utilizó como influente del reactor destinado a evaluar la metanogénesis (Figura 1). La acidogénesis/metanogénesis fue evaluada por 277 días en los que se fueron aumentando las concentraciones de materia orgánica de  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.5 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L. El pH del influente en el reactor para la acidogénesis se modificó de 4.0 a 7.5 para mantener el efluente a no menos de 4.0 y el TRH se mantuvo en 0.5 d. En el reactor para la metanogénesis el TRH fluctuó de 1 hasta 2d. Los reactores se mantuvieron a temperatura ambiente ( $21.6 \pm 0.6$  °C).



**Figura 1.** Esquema de los reactores acidogénico/metanogénico UASB-híbridos. 1) Influyente del R-Ac; 2) Bomba peristáltica; 3) Cama de lodos acidogénicos; 4) Empaque de zeolita; 5) Separador de biogás; 6) Medidor de biogás; 7) Efluente del R-Ac; 8) Influyente del R-Me; 9) Bomba peristáltica; 10) Cama de lodos metanogénicos; 11) Empaque de zeolita; 12) Separador de biogás; 13) Medidor de biogás; 14) Efluente del R-Me.

### 2.2.4 Monitoreo de la acidogénesis y metanogénesis

Para evaluar el desempeño de la acidogénesis y metanogénesis en los reactores, estos se monitorearon tres veces por semana a través del análisis de la DQO<sub>total</sub>, DQO<sub>soluble</sub>; ácidos grasos volátiles (AGVs): acético, propiónico, *i*-butírico, butírico, *i*-valérico, valérico y caproico); alcoholes (R-OHs): etanol, propanol y butanol; pH y relación de alcalinidad; producción de biogás (reactor para la acidogénesis) y producción de CH<sub>4</sub> (reactor para la metanogénesis). Asimismo se monitoreó la evolución de los nutrientes NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y PO<sub>4</sub><sup>-3</sup>.

La eficiencia de conversión a intermediarios (AGVs y R-OHs) en el reactor para la acidogénesis se determinó como se presenta en la ecuación 1. Mientras que, para ambos reactores se calculó la eficiencia de remoción de la materia orgánica (Ecuación 2).

$$Ef. Conversion (\%) = \left[ \frac{(AGVs)_{formados} + (R-OHs)_{formados}}{(DQO_{total})_{influyente}} \right] \times 100 \quad Ecuación (1)$$

Dónde: AGVs = DQO equivalente a AGVs formados (g/L); R-OHs = DQO equivalente a R-OHs formados (g/L); DQO<sub>total</sub> = influente (g/L).

$$Ef. \text{ Remoción } (\%) = \left[ \frac{(\text{DQO})_{\text{influyente}} - (\text{DQO})_{\text{efluente}}}{(\text{DQO})_{\text{influyente}}} \right] \times 100 \quad \text{Ecuación (2)}$$

Dónde:  $\text{DQO}_{\text{influyente}} = (\text{g/L})$ ;  $\text{DQO}_{\text{efluente}} = (\text{g/L})$ .

### 2.3 Métodos analíticos

Los análisis de la  $\text{DQO}_{\text{total}}$  y  $\text{DQO}_{\text{soluble}}$ ,  $\text{DBO}_5$ , carbohidratos, sólidos totales (ST) suspendidos (SST), amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), fósforo total (PT) y ortofosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), se realizaron como se establece en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA-AWWA-WEF, 2005). El contenido de grasas y aceites como se indica en la NMX-AA-005-SCFI-201, el carbono orgánico total (COT) y nitrógeno total (NT) por el método de HACH 10129 y 10072, respectivamente. La proteína total se determinó por el método de Biuret (Gornall *et al.*, 1949) y la soluble por el de Lowry (Lowry *et al.*, 1951), el pH se midió con potenciómetro. La cuantificación de AGVs y R-OHs se realizó por cromatografía de gases con una columna AT-1000 y detector FID. La cantidad de biogás por desplazamiento de una solución de NaCl saturada y la calidad por cromatografía de gases con una columna Carbowax y detector TCD.

## 3. Resultados

### 3.1 Materia orgánica

Como se presenta en la Tabla 2 y Figura 2A, el reactor para la acidogénesis fue alimentado a diferentes concentraciones de materia orgánica,  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.4 \pm 0.4$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$ , representando la  $\text{DQO}_{\text{soluble}}$  el  $80.7 \pm 2.9\%$ . La COV para el arranque de esta etapa fue de  $2.5 \pm 0.02$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L-d}$  y se duplicó en cada incremento de concentración alcanzando un valor de  $24.9 \pm 0.9$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L-d}$  para los últimos 34 días de operación (245 a 277 días).

La eficiencia de conversión de DQO fue alta a pesar del incremento de concentración y COV, siendo de hasta  $49.6 \pm 7.0\%$ . Mientras que las eficiencias de remoción fueron entre  $15.9 \pm 8.3$  y  $21.8 \pm 3.3\%$  para la  $\text{DQO}_{\text{total}}$  y de  $13.1 \pm 5.9$  a  $17.0 \pm 9.3\%$  para la  $\text{DQO}_{\text{soluble}}$ , reflejándose en la producción de biogás, siendo la más alta registrada entre los días 245 a 277, con  $0.10 \pm 0.004$  L/ $\text{L}_R\text{-d}$ .

En general el comportamiento del reactor para la acidogénesis mostró estabilidad, sin embargo el reactor para la metanogénesis presentó un comportamiento variable (Figura 2A, Tabla 3). Al respecto, para las primeras dos concentraciones provenientes de la acidogénesis (1 a 45 días; Figura 2A) la eficiencia de remoción fue similar (Figura 2B), siendo en promedio de  $95.6 \pm 1.7\%$  ( $\text{DQO}_{\text{total}}$ ) y del  $96.7 \pm 1.2\%$  ( $\text{DQO}_{\text{soluble}}$ ). El incremento en el día 46 a  $4.2 \pm 0.3$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$ , pareció no afectar a los microorganismos metanogénicos quienes mantuvieron una eficiencia de remoción similar a los periodos anteriores, sin embargo a partir del día 79 la eficiencia decayó hasta el 66%, por lo que el promedio para este periodo fue de  $89.0 \pm 9\%$ , tanto para la  $\text{DQO}_{\text{total}}$  como para la  $\text{DQO}_{\text{soluble}}$ .

El incremento en la concentración a  $6.5 \pm 0.7$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$  (día 102) afectó marcadamente la capacidad de remoción del consorcio metanogénico, cayendo hasta un 47% (día 155), a pesar de que en el día 122 se incrementó la cantidad de  $\text{NaHCO}_3$  de 2 a 3 g /L. El promedio de la DQO residual en esta parte del periodo fue de  $2.4 \pm 0.9$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}/\text{L}$ , rindiendo una eficiencia de remoción entre 63

y 65% para ambas DQO, y una relación de alcalinidad de  $0.66 \pm 0.1$ . Debido a esto el día 162 se aumentó el TRH de 1 a 1.5 d, favorablemente en los siguientes 15 días la eficiencia de remoción mejoró alcanzando estabilidad (día 171 a 187), con una remoción

promedio de  $79.9 \pm 5.0\%$  DQO<sub>total</sub> y  $79.1 \pm 5.4\%$  DQO<sub>soluble</sub>, atribuibles a que al aumentar el TRH los microorganismos tuvieron más tiempo para degradar los productos de la acidogénesis.

**Tabla 2.** Parámetros indicadores de la acidogénesis de la materia orgánica de lactosuero. TRH de operación 0.5 d.

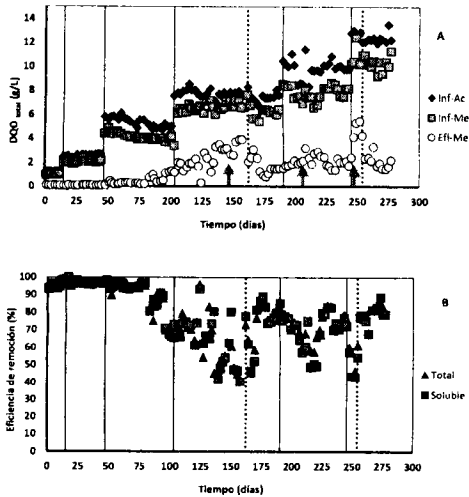
Tiempo (días)	DQO <sub>total</sub> (g/L)		DQO <sub>soluble</sub> (g/L)		COV (g DQO/L-d)		Ef. Conversión (%)	Ef. Remoción (%)		Biogás (L/LR-d)
	Inf.	Efl.	Inf.	Efl.	Total	Soluble		DQO <sub>total</sub>	DQO <sub>soluble</sub>	
	1-12	1.2±0.01	1.0±0.03	1.0±0.05	0.8±0.05	2.5±0.02	2.1±0.1	48.3±3.9	21.8±3.3	17.0±9.3
13-45	2.5±0.1	2.1±0.1	2.1±0.1	1.8±0.1	5.1±0.2	4.2±0.2	49.3±10.1	19.2±3.6	13.1±5.9	0.002±0.005
46-101	5.3±0.4	4.2±0.3	4.4±0.3	3.7±0.3	10.7±0.8	8.9±0.6	37.9±11.9	21.6±4.3	16.4±7.2	0.09±0.05
102-187	7.6±0.3	6.4±0.7	6.7±0.5	5.8±0.6	14.2±2.4	12.5±2.4	43.8±11.5	15.9±8.3	13.9±8.1	0.03±0.02
188-243	9.8±0.7	7.8±0.6	7.9±0.7	6.6±0.8	19.7±1.5	15.9±1.4	49.6±7.0	20.1±5.7	16.5±9	0.05±0.02
245-277	12.4±0.4	10.4±0.8	10.0±0.8	8.5±1.7	24.9±0.9	19.9±1.6	45.1±6.9	16.1±6.6	14.3±9.7	0.10±0.004

**Tabla 3.** Parámetros indicadores de la metanogénesis de los productos de la acidogénesis, durante la degradación de lactosuero.

Tiempo (días)	TRH (d)	DQO <sub>total</sub> (g/L)		DQO <sub>soluble</sub> (g/L)		COV (g DQO/L-d)		Ef. Remoción (%)		CH <sub>4</sub> (L/LR-d)
		Inf.	Efl.	Inf.	Efl.	Total	Soluble	DQO <sub>total</sub>	DQO <sub>soluble</sub>	
		1-12	1	1.0±0.03	0.05±0.01	0.8±0.05	0.03±0.01	1.0±0.01	0.9±0.1	94.4±1.1
13-45	1	2.1±0.1	0.1±0.02	1.8±0.1	0.04±0.01	2.1±0.01	1.8±0.1	96.8±0.9	97.6±0.1	0.58±0.3
46-101	1	4.2±0.3	0.4±0.3	3.7±0.3	0.4±0.3	4.2±0.3	3.7±0.3	89.0±9.1	89.8±9.6	1.15±0.4
102-187	1	6.5±0.7	2.4±0.9	5.9±0.7	2.1±0.9	6.1±0.7	5.9±0.7	63.3±13.6	65.0±13.5	1.0±0.2
	1.5	6.3±0.6	1.6±0.7	5.6±0.6	1.4±0.7	4.1±0.9	4.3±0.3	79.9±5.0	79.1±5.4	0.94±0.1
188-243	1.5	7.8±0.6	2.1±0.5	6.6±0.8	1.9±0.5	5.2±0.4	4.4±0.5	73.1±7.4	70.7±10.6	0.99±0.2
	1.5	10.8±0.9	4.3±1.2	8.6±0.7	4.0±1.2	6.9±0.3	4.2±1.0	60.3±10.7	54.2±12.0	0.9±0.2
245-277	1.5	10.2±0.6	2.1±0.5	8.4±0.9	1.8±0.6	5.1±0.3	4.2±0.4	79.9±5.0	79.1±5.4	0.9±0.1

Lo anterior permitió aumentar la concentración de materia orgánica en el reactor para la acidogénesis a  $9.8 \pm 0.7$  g DQO<sub>total</sub>/L (día 188), alimentando al reactor para la metanogénesis  $7.8 \pm 0.6$  g DQO<sub>total</sub>/L ( $6.6 \pm 0.8$  g DQO<sub>soluble</sub>/L), a partir de este día y hasta el día 220 la metanogénesis presentó un

decremento en la eficiencia, hasta 58 y 49% respectivamente, que se revirtió con el aumento de NaHCO<sub>3</sub> de 3 a 4 g/L y un pH en el influente de 7.0, alcanzando en promedio para el periodo  $73.1 \pm 7.4\%$  y  $70.7 \pm 10.6\%$ , respectivamente.



**Figura 2. (A)** Comportamiento de la de la materia orgánica ( $DQO_{total}$ ); **(B)** eficiencia de remoción ( $DQO_{total}$  y  $DQO_{soluble}$ ) durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero. Las líneas punteadas indican aumento de TRH. Las flechas reflejan los AGVs y R-OH durante los periodos de desestabilización del reactor para la metanogénesis y que serán descritos más adelante.

El día 245, se alimentaron en la acidogénesis  $12.4 \pm 0.4$   $gDQO_{total}/L$ , registrándose en el efluente  $10.8 \pm 0.9$   $gDQO_{total}/L$  ( $8.6 \pm 0.7$   $gDQO_{soluble}/L$ ) que pasaron a metanogénesis. Debido a esto se observó un decaimiento en la eficiencia de remoción en los siguientes 10 días y se restableció aumentando el TRH a 2 días (día 254), por lo que a partir del día 266 se alcanzaron eficiencias mejores y estables (alrededor del  $79.9 \pm 0.5$  y  $79.1 \pm 5.4\%$ ; la DQO residual al final de esta

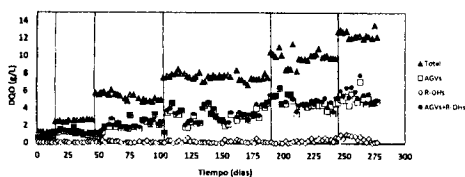
última etapa de tratamiento fue de  $2.8 \pm 1.3$   $gDQO_{total}/L$ .

Como se muestra en la Tabla 3, las COV en metanogénesis fluctuaron de  $1.0 \pm 0.01$  a  $6.9 \pm 0.3$   $g DQO_{total}/L \cdot d$  y de  $0.9 \pm 0.1$  a  $5.9 \pm 0.7$   $g DQO_{soluble}/L \cdot d$ . La producción de  $CH_4$  aumentó conforme se incrementó la concentración de materia orgánica; del día 1 al 45 se alcanzaron de  $0.25 \pm 0.01$  a  $0.58 \pm 0.3$   $L CH_4/L_R \cdot d$  (Tabla 3). Del día 46 al 61 la producción de  $CH_4$  aumentó marcadamente, de  $0.55$  a  $1.9$   $L/L_R \cdot d$  debido al incremento de la materia orgánica, coincidiendo con la eficiencia de remoción que fue del 94%. Sin embargo del día 68 al 101 la producción de  $CH_4$  disminuyó hasta  $0.77$   $L/L_R \cdot d$ , con un promedio para todo el periodo de tiempo de  $1.15 \pm 0.4$   $L/L_R \cdot d$ . En el siguiente periodo (102 a 187 días) la producción se mantuvo estable ( $1.0 \pm 0.2$   $L CH_4/L_R \cdot d$ ). El día 188 y hasta el día 243, con el incremento de la DQO a  $7.8 \pm 0.6$   $gDQO_{total}/L$ , la producción de alcanzada fue de  $0.9 \pm 0.2$   $L CH_4/L_R \cdot d$ . Para el último periodo (245 a 277 días) este incrementó hasta  $0.9 \pm 0.2$   $L CH_4/L_R \cdot d$  en ambos TRH (1.5 y 2 d), equivalentes a  $3.9$   $L CH_4/d$ .

Aunque el reactor para la metanogénesis presentó inestabilidad en ciertos periodos de la operación, la eficiencia global del proceso conjunto (acidogénesis/metanogénesis) a cortos TRH (0.5 d y de 1 a 2 días respectivamente) mostró que los resultados acerca de la remoción de materia orgánica son relevantes, ya que se trataron concentraciones de lactosuero de hasta  $12.4$   $g DQO_{total}/L$  equivalentes a una COV de  $24.9$   $g DQO_{total}/L \cdot d$ , con eficiencias de remoción de hasta el 82% a un TRH total de 2.5 d y con un rendimiento de  $CH_4$  de hasta  $0.9 \pm 0.1$   $L/L_R \cdot d$ , equivalentes a  $3.9$   $L CH_4/d$  y un rendimiento de  $0.22$   $L CH_4/gDQO_{degradado}$ .

### 3.1.1 Productos de la conversión de la materia orgánica en la acidogénesis

La conversión de la materia orgánica a los diferentes AGVs y R-OHs en las dos primeras concentraciones de materia orgánica alimentadas en el reactor para la acidogénesis (Figura 3A y 3B) incrementó ( $48.3 \pm 3.9$  y  $49.3 \pm 10.1\%$ ) con respecto a la alcanzada durante la selección de los microorganismos acidogénicos ( $38.5 \pm 7.2\%$ ).



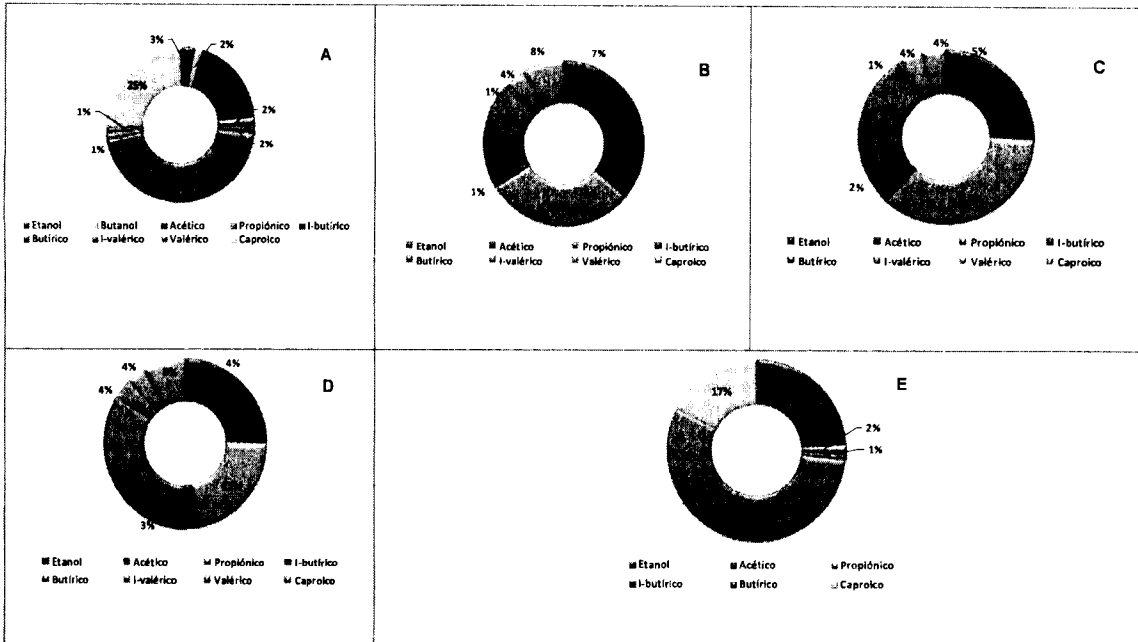
**Figura 3.** Muestra la materia orgánica alimentada como  $DQO_{total}$  y la formación de AGVs y R-OHs, así como la suma de ambos grupos de productos.

Como se muestra en la Figura 4A, los intermediarios mayoritarios promedio para estas dos condiciones fueron ácido butírico (45%), ácido caproico (25%) y acético (19%) en ambos casos. Respecto a los R-OHs, los que se formaron fueron etanol y butanol, pero en concentraciones bajas (Figura 3A), representando apenas un 5% de la formación total de intermediarios (ver Figura 4A). Los ácidos propiónico, *i*-butírico, *i*-valérico y valérico presentaron una formación mínima.

Al incrementar la materia orgánica a  $5.3 \pm 0.4$  g  $DQO_{total}/L$  (46 a 101 d) la eficiencia de conversión fue más variable ( $37.9 \pm 11.9\%$ ) y la composición y porcentaje de los principales intermediarios se modificó, incrementando la concentración de ácido propiónico hasta un 30% y la de acético a

29%, mientras que disminuyeron las del ácido butírico 20% y ácido caproico 8.0% (Figura 4B). Cabe mencionar que el pH del efluente de este reactor en esta condición se acidificó, disminuyendo hasta un valor de 3.8, nivel que se sabe no es ideal para la conversión a los diferentes productos intermediarios en acidogénesis, por lo que a partir de aquí el pH del influente se varió de 4.0 a 7.5 para mantener el efluente a un pH no menor de 4.0.

Para la siguiente concentración que se alimentó ( $7.6 \pm 0.3$  g  $DQO_{total}/L$ ) días 102 a 187 (Figura 4C), el ácido caproico continuó disminuyendo (4%), mientras tanto el ácido propiónico y acético se mantuvieron cercanos a los porcentajes anteriores (36 y 21%, respectivamente) y el butírico nuevamente incrementó (27%). La eficiencia de conversión para este periodo incrementó ligeramente, aunque permaneció presentando alta dispersión ( $43.8 \pm 11.5\%$ ) (Tabla 2). En los días 188 a 243, cuando el reactor para la acidogénesis se alimentó a una concentración de  $9.8 \pm 0.7$  g  $DQO_{total}/L$ , la proporción de los intermediarios mayoritarios fue la siguiente, el ácido butírico aumentó considerablemente (34%), el ácido acético mantuvo su porcentaje (21%), pero hubo un marcado descenso para el ácido propiónico el cual disminuyó hasta un 22%, el ácido caproico se encontró en un 8% (Figura 4D). Un incremento de concentración en la alimentación favoreció la eficiencia de conversión la cual aumentó en este lapso de tiempo y se observó mayor estabilidad ( $49.6 \pm 7.0\%$ ) (Tabla 2).



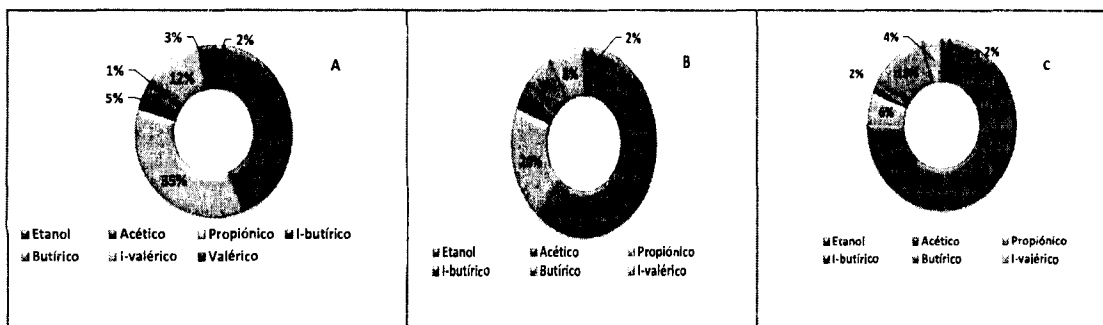
**Figura 4.** Porcentaje de formación de los productos de la acidogénesis. (A) Concentraciones de 1.2 y 2.5 g DQO<sub>total</sub>/L; (B) concentración de 5.3 g DQO<sub>total</sub>/L; (C) concentración de 7.6 g DQO<sub>total</sub>/L; (D) concentración de 9.8 g DQO<sub>total</sub>/L y (E) concentración de 12.4 g DQO<sub>total</sub>/L.

Finalmente, para los días 245 a 277, a una concentración de  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L, el porcentaje de formación se modificó considerablemente, en este caso el ácido butírico se formó por arriba del 55%, seguido de ácido caproico (17%) y ácido acético (15%), mientras que el ácido propiónico casi desapareció (2%) (Figura 4E). Durante éste periodo se alcanzó una conversión del  $45 \pm 6.9\%$ .

### 3.1.2 Productos finales en la metanogénesis

El reactor para la metanogénesis presentó tres periodos de inestabilidad (Figura 2A y 2B), como se observa en la Figura 5A, el primero

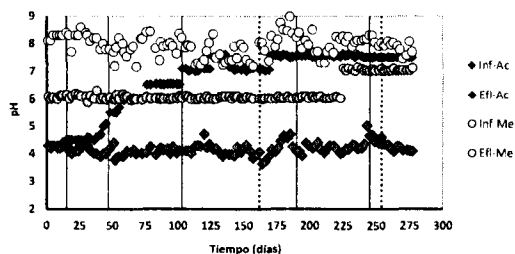
pudo ser causado por la acumulación de ácido acético (42%) y propiónico (35%) principalmente, y en menor proporción ácido *i*-valérico (12%) (Figura 5B). El segundo por ácido acético (59%) y en menor proporción por propiónico (20%) e *i*-valérico (8%). Mientras que en el tercero predominó el ácido acético, el cual incrementó hasta 73%; el ácido propiónico e *i*-valérico casi desaparecieron 6 y 4 % (Figura 5C); dejando ver que las arqueobacterias metanogénicas requerían un mayor tiempo para el consumo de este intermediario. Respecto a los alcoholes, el único que se formó en estos periodos de desestabilización fue etanol, pero representó sólo el 2%.



**Figura 5.** Porcentaje de formación de los productos de la metanogénesis. (A) TRH 1 d y  $6.5 \pm 0.7$  g DQO/L; (B) TRH 1.5 d y  $7.8 \pm 0.6$  g DQO/L y (C) TRH 1.5 d y  $10.8 \pm 0.9$  g DQO/L.

### 3.2 pH y relación de alcalinidad

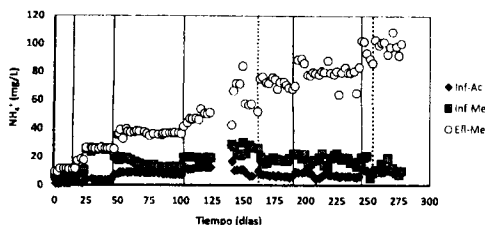
La evolución del pH se muestra en la Figura 6A. En la acidogénesis, el pH del influente del reactor varió de  $4.3 \pm 0.01$  a  $7.5 \pm 0.04$ . Para la metanogénesis, el influente del reactor se ajustó a un pH de  $6.1 \pm 0.3$  y se suplementó con 2, 3 y hasta 4 g  $\text{NaHCO}_3/\text{L}$  como ya se mencionó, esto para prevenir o revertir una acidificación por las diferentes concentraciones de materia orgánica que se aplicaron en el estudio y por los intermediarios formados durante la acidogénesis. El pH en el efluente metanogénico se mantuvo en nivel de básico a alcalino, siendo no menor a 7.2 y con un máximo de 8.9, mientras que el promedio para los 277 días en los que se evaluó la metanogénesis fue de  $8.0 \pm 0.3$ . La relación de alcalinidad fue un indicador eficiente de la desestabilización por acidificación del reactor para la metanogénesis, dado que los intervalos de tiempo donde la eficiencia de remoción de la materia orgánica disminuyó marcadamente, coincidieron con la reducción de la relación de alcalinidad, la cual de entre 0.7 y 0.8, disminuyó hasta 0.57.



**Figura 6.** Muestra la evolución del pH a través del tiempo durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.

### 3.3 Amonio y ortofosfatos

En el reactor para la acidogénesis, la concentración de  $\text{NH}_4^+$  alimentada fue incrementando conforme la materia orgánica aumentó (Figura 7; Tabla 4), iniciando en  $1.0 \pm 0.2$  mg/L (1 a 12 días) y alcanzando hasta  $9.8 \pm 1.7$  mg/L para el periodo de 245 a 277 días. La amonificación en la acidogénesis fue muy baja dado que sólo se formaron de  $2.8 \pm 4.0$  a  $16.5 \pm 7.3$  mg de  $\text{NH}_4^+/\text{L}$  y donde la menor formación se encontró en los días 1 a 22 y 245 a 277.



**Figura 7.** Muestra el comportamiento del  $\text{NH}_4^+$  durante la degradación de lactosuero en metanogénesis/acidogénesis.

Por el contrario, la amonificación en el reactor para la metanogénesis fue más significativa, incrementando marcadamente durante todos los periodos; como se observa en la Tabla 4 del día 1 al 187 las concentraciones en el efluente se fueron duplicando, alcanzando hasta  $61.2 \pm 12.7$  mg

$\text{NH}_4^+/\text{L}$ . Mientras que del día 245 a 277 se alcanzó una concentración de  $97.6 \pm 5.9$  mg  $\text{NH}_4^+/\text{L}$ . La formación fluctuó en el efluente de este reactor desde  $2.7 \pm 3.2$  hasta  $85.0 \pm 6.7$  mg/L.

Por su parte, el  $\text{PO}_4^{3-}$  también aumentó conforme se incrementó la concentración de materia orgánica en el reactor para la acidogénesis (Tabla 4), siendo en el influente de  $18.2 \pm 0.6$  mg/L (1-12 días) y alcanzando hasta  $116.8 \pm 13.7$  mg/L. Sin embargo ni en la acidogénesis ni en la metanogénesis se observó cambio significativo sobre la concentración de este nutriente, permaneciendo en los respectivos efluentes en concentraciones similares a las alimentadas, por lo que la formación o eficiencia de remoción fue nula.

**Tabla 4.** Concentración de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  durante la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero.

Tiempo (días)	Acidogénesis				Metanogénesis				
	$\text{NH}_4^+$			$\text{PO}_4^{3-}$		$\text{NH}_4$		$\text{PO}_4^{3-}$	
	(mg/L)		Formación (mg/L)	(mg/L)		(mg/L)	Formación (mg/L)	(mg/L)	
	Inf.	Efl.		Inf.	Efl.	Efl.		Efl.	
<b>1-12</b>	1.0±0.2	6.9±0.8	5.9±0.7	18.2±0.6	16.8±1.4	10.8±1.1	3.9±0.5	17.7±1.2	
<b>13-45</b>	3.2±1.0	19.7±8.2	16.5±7.3	39.8±5.4	37.3±4.2	22.4±5.8	2.7±3.2	31.9±7.1	
<b>46-101</b>	8.4±0.6	15.5±2.8	7.1±2.5	74.1±9.1	71.0±8.0	36.4±2.7	20.9±4.3	68.4±9.8	
<b>102-187</b>	9.4±2.9	20.9±4.0	9.5±5.7	95.0±14.0	92.6±15.7	61.2±12.7	33.6±19.8	91.1±17.7	
<b>188-243</b>	6.9±1.3	18.3±3.1	11.4±3.3	108.7±9.0	107.1±9.7	78.9±66.0	60.6±7.4	109.1±10.0	
<b>245-277</b>	9.8±1.7	12.6±5.0	2.8±4.0	116.8±13.7	117.8±14.2	97.6±5.9	85.0±6.7	113.9±20.5	

## 4. Discusión

### 4.1 Acidogénesis

#### 4.1.1 Eficiencias de conversión de la materia orgánica

Las eficiencias de conversión a intermediarios como se muestra en la Tabla 5, fueron menores que las reportadas por Yu y

Fang (2002) (71.6%), cabe señalar que esta alta eficiencia puede ser debida a la baja concentración de DQO y COV probadas (4 g DQO/L y 8 g DQO/L-d) por los autores; mencionan que el grado de acidificación óptimo para la formación de AGVs y R-OHs es a un pH de 6.5 y una temperatura de 35°C. Eficiencias de conversión (56%) similares a nuestro estudio fueron reportadas por



Demirel y Yenigun (2004), sin embargo la concentración de DQO alimentada estuvo por debajo del 50% de la del presente estudio. Por su parte, Saddoud *et al.* (2007) en un reactor acidogénico, con un TRH de 1 d y 19 g DQO/L alcanzaron una conversión del

52.2%. Además, el reactor para la acidogénesis en nuestro estudio mostró capacidad para tolerar COV más altas debido a la estabilidad que presentó en la eficiencia de conversión.

**Tabla 5.** Comparación de este estudio con la literatura.

Residuo	TRH (d)	DQO (g/L)	COV (g DQO/L-d)	pH	AGVs (mg/L)	EC (%)	Referencias
ARL	0.5	4.0	8.0	4-6.5	101	71.6	Yu y Fang (2002)
ARL	0.5	5.0	10.0	4-6	-	-	Kissalita <i>et al.</i> (1989)
Lactosuero	0.5	8.0	16.0	5-8	413	-	Horiuchi <i>et al.</i> (2002)
SQ	1	15.0	15.0	5.2	2515	-	Venetsaneas <i>et al.</i> (2009)
SQ	1	19.0	19.0	6.5	5000	52.2	Saddoud <i>et al.</i> (2007)
ARL	0.5	5.0	10.0	6.6-7.5	0.73	56.0	Demirel y Yenigun (2004)
Lactosuero	0.5	1.2 a 12.4	2.5-25	4.5-7.5	5611	49.6	En este estudio

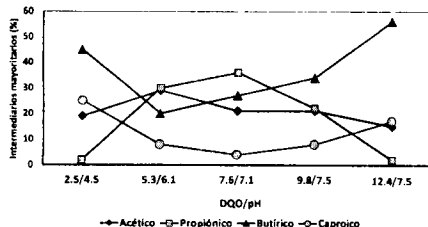
ARL: Aguas residuales lácteas; SQ: suero de queso; EC: eficiencia de conversión.

#### 4.1.2 Productos de la conversión de la materia orgánica

En la primeras dos concentraciones de materia orgánica probadas el reactor se alimentó a un pH de 4.5 para promover la mayor capacidad de conversión a productos intermediarios como ha sido reportado por Yu y Fang (2002), Horiuchi *et al.* (2002) y Kissalita *et al.* (1989). Al incrementar la materia orgánica, también el pH del influente se fue incrementando desde 6.1 hasta un pH de 7.5 (Figura 8) con la finalidad de que el efluente del reactor no superará un pH menor de 4.0. Se ha reportado que la acidificación de los diferentes componentes del lactosuero como glucosa, sacarosa, lactosa, proteínas y lípidos es llevada a cabo y favorecida a un pH de 5.7, 6.0, 6.5, 5.8 y 6.2, respectivamente (Yu y Fang, 2002), por lo que en este estudio se puede inferir que se promovió la acidogénesis de la mayoría de los compuestos que forman parte del lactosuero.

La proporción porcentual o en concentración de los diferentes intermediarios en la acidogénesis pudo deberse principalmente al pH del influente del reactor para la acidogénesis. Según Horiuchi *et al.* (2002), la formación de cada uno de los ácidos depende fuertemente de este parámetro, reportando que condiciones básicas (7.0 y 8.0) favorecen en mayor proporción al ácido acético, seguido de propiónico; contrariamente en condiciones ácidas (pH 5.0 y 6.0) predomina el ácido butírico. Al respecto Yu y Fang (2002) mencionan que los AGVs producidos a pH de 6.0 a 6.5 son acético y butírico, señalando que este es el pH óptimo para la fermentación de la lactosa. Por su parte, Kissalita *et al.* (1989) encontraron ácido acético, propiónico y también butírico a pH de 4.5 a 6.0. A pH menores, 4.0 a 4.5, Yu y Fang (2002) reportan que los principales intermediarios son ácido propiónico y etanol. En nuestro estudio, a un pH de 4.5 se encontraron ácido butírico, caproico y acético en mayor proporción.

Mientras que a pH 6 los principales intermediarios fueron ácido propiónico, acético y butírico (Figura 8).



**Figura 8.** Principales intermediarios formados en acidogénesis con respecto a la concentración de materia orgánica y pH alimentados.

Al alimentar el reactor a un pH de 7.5 los intermediarios mayoritarios fueron ácido butírico, propiónico y acético, sin embargo a la misma condición de pH, pero a mayor concentración de materia orgánica, la proporción de los intermediarios cambió drásticamente encontrando en mayor cantidad ácido butírico, seguido de caproico y acético (Figura 8), como lo reportan Venetsaneas *et al.* (2009). Por lo que la proporción de intermediarios también puede estar influenciada por la concentración de materia orgánica alimentada.

Es importante señalar, que tanto en condiciones ácidas (pH 4.5) y medianamente básicas (7.5) el intermediario que predominó fue el ácido butírico contrastando con los reportes anteriores. Bajo todas las condiciones de pH la formación de etanol fue baja coincidiendo con Kissalita *et al.* (1989) y Horiuchi *et al.* (2002) los cuales reportan la formación de concentraciones trazas de etanol en acidogénesis y difiriendo con Yu y Fang (2002). Saddoud *et al.* (2007) reportan en su estudio que los principales AGVs formados fueron ácido acético y propiónico,

mientras que los ácidos *i*-butírico, butírico y valérico se formaron en menor concentración, similar a lo encontrado en este estudio.

#### 4.2. Materia orgánica en acidogénesis/metanogénesis

La evaluación de la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero se ha estudiado en sistemas anaerobios de dos etapas (Tabla 6), en este sentido el reporte de Ince (1998) en acidogénesis/metanogénesis a un TRH de 2.0 d (fase acidogénica 0.5; fase metanogénica de 1.5 d), a una COV de 5 g DQO/L-d alcanzó eficiencias de remoción de 90% para DQO y de 95% para DBO<sub>5</sub>, sin embargo las COV alcanzadas en nuestro estudio fueron cinco veces superiores. Por su parte, Saddoud *et al.* (2007) reportó resultados cercanos a los nuestros en términos de COV, alcanzando eficiencias de remoción del 79 y 83% para la DQO y DBO<sub>5</sub>, respectivamente, a una carga orgánica de 19.8 g DQO/L d y un TRH de 4 d.

Göblös *et al.* (2008) probaron COV de 1.6 a 12.8 g DQO/L-d de suero ácido crudo y suero de leche pre-fermentado, a un TRH de 40 a 5 d, alcanzando eficiencias de remoción del 68 y 80% respectivamente y un rendimiento de 0.12 y 0.19 L/gDQO<sub>degradado</sub> respectivamente. Comparando con este estudio, encuentran una menor capacidad de tratamiento aún con suero pre-fermentado. Antonopoulou *et al.* (2008) mencionan que un proceso continuo (dos etapas) puede ser llevado exitosamente a un TRH de 1 y 4.4 d, respectivamente, comparando alcanzan eficiencias de remoción elevadas, pero la COV a la que obtienen sus mejores resultados es 40% inferior a la del presente estudio.

**Tabla 6.** Acidogénesis/metanogénesis, comparación de este estudio con la literatura.

Residuo	TRH (d)	DQO (g/L)	COV (g DQO/L-d)	ER (%)	CH <sub>4</sub> (L/L <sub>R</sub> -d)	Referencias
ARL	2	10.0	5.0	90	-	Ince (1998)
SQ	4	79.2	19.8	79	<sup>a</sup> 0.31	Saddoud <i>et al.</i> (2007)
SQ	40-5	-	1.6-12.8	68-80	<sup>a</sup> 0.19	Göblös <i>et al.</i> (2008)
SQ	5.4	45.0	10.2	94	<sup>a</sup> 0.31	Antonopoulou <i>et al.</i> (2008)
SQ	20	30.0	1.5	95.3	<sup>b</sup> 1.0	Venetsaneas <i>et al.</i> (2009)
SQ	5	15.0	3.0	80-90	<sup>b</sup> 1.15	Gannoun <i>et al.</i> (2008)
SQ	0.8	8.9	22.26	78	<sup>a</sup> 0.37	Diamantis <i>et al.</i> (2014)
<b>Lactosuero</b>	2.5	1.2-12.4	2.4-24.8	65-97	1.15 ( <sup>a</sup> 0.22; <sup>b</sup> 3.9)	<b>En este estudio</b>

ARL: Agua residual láctea; SQ: Suero de queso. <sup>a</sup>L CH<sub>4</sub>/g DQO<sub>degradado</sub>; <sup>b</sup>L CH<sub>4</sub>/d;

Por su parte, Venetsaneas *et al.* (2009) reportaron una buena operación de dos digestores anaerobios en condiciones mesófilas, el reactor metanogénico alcanzó una producción de 1.0 L CH<sub>4</sub>/d a un TRH de 20 d y una eficiencia de remoción del 95.3% para la DQO. En contraste, en este estudio se mantuvieron TRH cortos (2.5 d), por lo que se puede tratar un volumen más grande de lactosuero y COV muy superiores, con eficiencias de remoción entre el 65 y 97% y se llevó a cabo exitosamente a temperatura ambiente (22°C).

Estudiando la degradación de un suero pre-acidificado, Gannoun *et al.* (2008) indican que los mejores resultados los obtienen a 15 g DQO/L equivalentes a una COV de 3.0 g DQO/L-d, con eficiencias de remoción del 80 al 90%; sin embargo, al aumentar la DQO a 20 g/L (4 g DQO/L-d), el filtro anaerobio se desestabilizó y redujo la eficiencia de remoción hasta un 72%. Por lo que la capacidad de tratamiento fue inferior a la alcanzada en nuestro estudio. Los autores comentan que la desestabilización de su proceso fue principalmente causada por acumulación de intermediarios. Comparando con el estudio realizado recientemente por

Diamantis *et al.* (2014), quienes alcanzaron una eficiencia de remoción del 78% en acidogénesis/metanogénesis, a una DQO de 8.9 g/L (22.2 g DQO/L-d) y una temperatura de 30°C, en nuestro estudio se obtuvo una mayor capacidad de tratamiento; los autores mencionan que la configuración de dos etapas es más favorable para el tratamiento que los de una etapa, en lo que se coincide con ellos.

Como se muestra en la Tabla 6, la máxima producción de CH<sub>4</sub> en nuestro estudio fue de 1.15±0.04 L/L<sub>R</sub>-d siendo igual a lo reportado por Gannoun *et al.* (2008) y Venetsaneas *et al.* (2009); el rendimiento alcanzado fue de 0.22 L CH<sub>4</sub>/gDQO<sub>degradado</sub> lo cual fue similar a lo encontrado por Göblös *et al.* (2008) y ligeramente menor a lo reportado por Saddoud *et al.* (2007) y Antonopoulou *et al.* (2008).

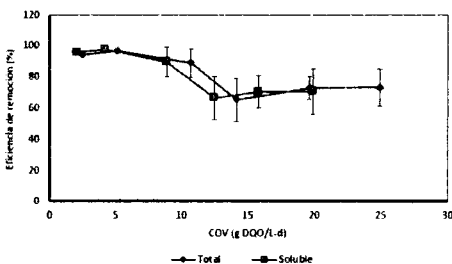
En nuestro estudio durante la operación del reactor para la metanogénesis se presentaron tres periodos de inestabilidad, atribuidos a la acumulación de ácido acético y propiónico. Al respecto, algunos estudios mencionan que la metanogénesis es inhibida por procesos de acidificación, por acumulación de diferentes ácidos formados, entre ellos ácido láctico,

fórmico, propiónico y butírico (Demirel y Yenigun, 2004; Saddoud *et al.* 2007). También la literatura reporta que la degradación depende de la vía que tomen los componentes del lactosuero como son glucosa, lactosa, grasa y proteínas (Gannoun *et al.* 2008; Saddoud *et al.* 2007; Hassan y Nelson, 2012). Otra causa que puede afectar el proceso de degradación puede ser la concentración de grasas, ya que por su alta hidrofobicidad limitan el acceso de las sustancias a degradar al interior de los gránulos que contienen a los microorganismos, además provocan el lavado de la biomasa por flotación en los sistemas de depuración (Hassan y Nelson, 2012), llevando a problemas de operación de los reactores usados para el tratamiento. Sin embargo estos periodos de inestabilidad del reactor para la metanogénesis se superaron.

Como se mostró, nuestro estudio presentó ventajas sobre la capacidad de tratamiento en comparación de otros estudios (Tabla 6), al permitir el tratamiento de materia orgánica desde  $1.2 \pm 0.01$  a  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L equivalentes a una COV de  $2.5 \pm 0.02$  a  $24.9 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L-d con eficiencias de remoción del  $63.3 \pm 13.6$  a  $96.8 \pm 0.9\%$ , a TRH cortos: global de 2 d (0.5 acidogénesis; 2.0 metanogénesis) y una producción de CH<sub>4</sub> de  $0.25 \pm 0.01$  a  $1.15 \pm 0.4$  L/L<sub>R</sub>-d. Estos resultados pueden deberse a que los AGVs formados en el reactor para la acidogénesis predominantemente en los diferentes periodos de operación fueron ácido acético que es precursor directo de la metanogénesis, así como ácido butírico que puede transformarse a ácido acético con mayor facilidad, y en menor proporción de ácido propiónico y caproico, y aunque en algunos periodos de desestabilización del reactor metanogénico se acumularon, finalmente con las estrategias aplicadas la degradación de estos fue alcanzada. También puede atribuirse al tipo de reactores empleados para el tratamiento (UASB-híbridos), ya que por

tener un filtro en la parte superior evitaron la pérdida de inóculo, que como se ha reportado en otros estudios (Saddoud *et al.* 2007) es uno de los problemas que afecta en mayor medida los tratamientos de este tipo de residuos. Otra variable importante en el tratamiento fue el control de pH en el influente del reactor para la acidogénesis, de tal manera de no permitir acidificación a niveles de pH menores a 4.0, y en el reactor para la metanogénesis el suplementar alcalinidad como otros autores han reportado (Venetsaneas *et al.*, 2009; Diamantis *et al.*, 2014).

Resumiendo, todos los estudios coinciden en que a mayores COV la eficiencia de remoción tiende a disminuir como ocurrió en el presente estudio (Figura 9), pero que como se mostró anteriormente, esto pudo revertirse a través de las diferentes estrategias, concluyendo que la acidogénesis/metanogénesis de lactosuero fue adecuada para la reducción de materia orgánica de lactosuero ácido y los mejores resultados se obtuvieron a: 1)  $5.3 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L (COV:  $10.7 \pm 0.8$  g DQO<sub>total</sub>/L-d) con un TRH global de 1.5 d (0.5 d acidogénesis; 1.0 d metanogénesis) y 2)  $12.4 \pm 0.4$  g DQO<sub>total</sub>/L (COV:  $24.9 \pm 0.9$  g DQO<sub>total</sub>/L-d) con un TRH global de 2.5 d (0.5 d acidogénesis; 2.0 d metanogénesis), con eficiencias de remoción de  $89.0 \pm 9.1$  y  $79.9 \pm 5.4\%$ , respectivamente.



**Figura 9.** Eficiencia de remoción a diferentes cargas orgánicas volumétricas durante la

acidogénesis/metanogénesis de lactosuero ácido.

#### 4.3 Amonio y ortofosfatos

El nitrógeno en el lactosuero proviene principalmente de las proteínas de la leche, este se encuentra en diversas formas, entre ellas como proteínas y  $\text{NH}_4^+$  (Guillen *et al.*, 2000). En base a lo anterior, en este estudio se infiere que la concentración de  $\text{NH}_4^+$  en la acidogénesis/metanogénesis aumentó debido a la hidrólisis de las proteínas contenidas en el lactosuero (Hassan y Nelson, 2012), las cuales se encontraron en altas concentraciones, 2.8 hasta 30.3 g/L. Pero el incremento fue más significativo en el reactor para la metanogénesis ( $85.0 \pm 6.7$  mg  $\text{NH}_4^+$ /L) dado que presentó condiciones más favorables para la amonificación, es decir, pH de 7.2 a 8.9 y TRH más largos en comparación con el reactor para la acidogénesis.

En el caso de los  $\text{PO}_4^{3-}$ , al contrario del nitrógeno, el fósforo se encuentra principalmente en formas inorgánicas como  $\text{PO}_4^{3-}$  y polifosfatos ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ ), los cuales representan alrededor del 70% del PT de un agua residual (Guillen-Jiménez *et al.*, 2000). En nuestro estudio no se observó un aumento o una degradación de este nutriente; en este caso se esperaba un decremento por precipitación con calcio (Guillen-Jiménez *et al.*, 2000) el cual generalmente es un componente del lactosuero. Se sabe que al tener un pH alcalino (min: 7.6 y máx: 9.0) y una concentración de  $1.25$  a  $3.75 \times 10^{-3}$  M de calcio se pueden formar compuestos insolubles como  $\text{Ca}_5(\text{PO}_3)\text{OH}$  (apatita) y  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  (fosfato tricálcico), entre otros.

Saddoud *et al.* (2007) y Göblös *et al.* (2008) mencionan que el efluente al término de los respectivos tratamientos que emplearon presentó concentraciones altas de  $\text{NH}_4^+$ , por lo que sugieren un pos-tratamiento. En

nuestro caso coincidimos con esto porque como se comentó, en este estudio se formaron  $16.5 \pm 7.3$  mg  $\text{NH}_4^+$ /L en la acidogénesis y hasta  $85.0 \pm 6.7$  mg  $\text{NH}_4^+$ /L, con una concentración en el último periodo de tratamiento de  $113.9 \pm 20.5$  mg  $\text{NH}_4^+$ /L.

## 5. Conclusiones

La acidogénesis/metanogénesis a cortos TRH fue adecuada para la reducción de materia orgánica de lactosuero ácido y los mejores resultados se obtuvieron a:  $5.3 \pm 0.4$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}$ /L (COV:  $10.7 \pm 0.8$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}$ /L-d) y un TRH global de 1.5 d, con eficiencias de remoción de  $89.0 \pm 9.1\%$  y una producción de  $1.15 \pm 0.4$  L  $\text{CH}_4$ /L<sub>R</sub>-d, y  $12.4 \pm 0.4$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}$ /L (COV:  $24.9 \pm 0.9$  g  $\text{DQO}_{\text{total}}$ /L-d) y un TRH global de 2.5 d, con eficiencias de remoción de  $79.9 \pm 5.4\%$  y  $0.9 \pm 0.2$  L  $\text{CH}_4$ /L<sub>R</sub>-d.

En la acidogénesis se alcanzaron buenas eficiencias de conversión a intermediarios ( $37.9 \pm 11.9$  a  $49.6 \pm 4.0\%$ ) y los principales AGVs formados fueron acético, butírico, propiónico y caproico. La proporción de los AGVs formados en la acidogénesis fue dependiente del pH del lactosuero alimentado, pero también de la concentración de la materia orgánica.

Finalmente se encontró que la formación de  $\text{NH}_4^+$  en la acidogénesis ( $16.5 \pm 7.3$  mg/L) fue menos significativa que en la metanogénesis ( $85.0 \pm 6.7$  mg/L) y los  $\text{PO}_4^-$  no presentaron cambio a través del tratamiento por acidogénesis/metanogénesis.

## 6. Agradecimientos

Al CONACTY por la beca de Maestría número 454760, otorgada a la alumna Karen Noemi Cárdenas Medina.

Al proyecto "Calidad del agua del río Zahuapan" de la de DCBS, UAM-Xochimilco.

## 7. Referencias

- Almario F., Mojica P., Cuéllar S., Montoya M. 2013. Uso del suero de leche en alimentos y sus sustitutos. Industria y Comercio Superintendencia. *Boletín Tecnológico*. Noviembre: 1-122.
- Antonopoulou G., Stamatelatou K., Venetsaneas N., Kornaros M., Lyberatos G. 2008. Biohydrogen and methane production from cheese whey in a two-stage anaerobic process. *Ind. Eng. Chem. Res.* 47 (15): 5227-5233.
- APHA-AWWA-WEF. 2005. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21st ed. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation: Washington, DC, USA.
- Arango O., Sanches L. 2009. Tratamiento de aguas residuales de la industria láctea en sistemas anaerobios tipo UASB. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*. 7 (2): 25-31.
- Carvalho F., Prazeres A., Rivas J. 2013. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. Review. *Sci. Total Environ.* 385-396.
- Chatzipaschali A.A., Stamatis A.G. 2012. Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: current status and prospects. *Energies*. 5(9): 3492-3525.
- Demirel B., Yenigun O. 2004. Anaerobic acidogenesis of dairy wastewater: the effects of variations in hydraulic retention time with no pH control. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 79: 755-760.
- Diamantis V., Kapagiannidis G., Ntougias S., Tatakis V., Melidis P., Aivasidis A. 2014. Two-stage CSTR-UASB digestion enables superior and alkali addition-free cheese whey treatment. *J. Biochem. Eng.* 84: 45-52.
- Gannoun H., Khelifi E., Bouallagui H., Touhami Y., Hamdi M. 2008. Ecological classification cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter. *Bioresour. Technol.* 99 (14): 6105-6111.
- Gelegenis J., Georgakakis D., Angelidaki I., Mavris V. 2007. Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renew. Energ.* 32:2147-2160.
- Göblös S., Portoro P., Bordás D., Káamán M., Kiss I. 2008. Comparison of the effectivities of two-phase and single-phase anaerobic sequencing batch reactors during dairy wastewater treatment. *Renew. Energ.* 33: 960-965.
- Gornall A.G., Bardawill C.J., David M.M. (1949). Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J. Biol. Chem.* 177(2): 751-766.
- Guerrero-Rodríguez W.J., Castilla-Hernández P., Cárdenas-Medina K.N., Gómez-Aldapa C.A. 2012. Degradación anaerobia de dos tipos de lactosuero en reactores UASB. *Tecnol. Quím.* 32 (1): 99-106.
- Guillen-Jiménez E., Álvarez-Mateos P., Romeo-Guzmán F., Pereda-Marín J. 2000. Biomineralization of organic matter in dairy wastewater, as affected by pH. The evolution of ammonium and phosphates. *Water Res.* 34: 1215-1224.
- Hassan A.N. y Nelson B.K. 2012. Invited review: Anaerobic fermentation of dairy food wastewater. *J. Dairy Sci.* 95: 6188-6203.
- Henning D., Baer R., Hassan A., Dave R. 2006. Major advances in concentrated and dry milk products, cheese and milk fat-based spreads. *J. Dairy Sci.* 89: 1179-88.
- Horiuchi J., Shimizu T., Tada K., Kanno T., Kobayashi M. 2002. Selective production of organic acids in anaerobic acid reactor by pH control. *Bioresource Technol.* 82: 209-213.
- Ince O. 1998. Performance of a two-phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater. *Wat. Res.* 32 (9): 2707-2713.
- Kalyuzhnyi S.V., Martinez E.P., Martinez J.R. 1997. Anaerobic treatment of high-strength cheese whey wastewaters in laboratory and pilot UASB reactors. *Biores. Technol.* 60: 59-65.
- Kissalita W., Lo K., Pinder K. 1989. Influence of dilution rate on the phase products distribution during two-phase lactose anaerobiosis. *Biotechnol Bioeng.* 34: 1235-1250.

- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193(1), 265-275.
- Mockaitis G., Ratusznei S.M., Rodrigues J.A.D., Zaiat M., Foresti E. 2006. Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. *J. of Environmen Managem.* 79 (2): 198–206.
- NMX-AA-005-SCFI-2013. Análisis de agua – medición de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas – método de prueba (cancela a la nmx-aa-005-scfi-2000). Diario Oficial de la Federación. 11 de abril de 2014.
- Parra H.R.A. 2009. Lactosuero: importancia en la industria de alimentos. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín.* 62 (1): 4967–4982.
- Parra H.R.A. 2010. Digestión anaerobia de lactosuero: Efecto de altas cargas puntuales. *Rev. Fac. Nat. Agr. Medellín.* 63 (1): 5385–5394.
- Parra H.R.A., Campos M.R.G. 2014. Evaluación del comportamiento de un reactor UASB con diferentes cargas orgánicas provenientes de lactosuero. *Producción + Limpia.* 9 (1): 23–30.
- Rico G.J.L., García E.P.A., Fdez-Polanco F. 1991. Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB Reactor. *Bioresour. Technol.* 37: 271–276.
- Saddoud A., Hassaïri I., Sayadi S. 2007. Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresour. Technol.* 98: 2102–2108.
- Valencia D.E., Ramírez C.M.L. 2009. La industria de la leche y la contaminación del agua. *Elementos.* 16 (73): 27–31.
- Venetsaneas N., Antonopoulou G., Stamatelatou K., Kornaros M., Lyberatos G. 2009. Using cheese wey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresour. Technol.* 100 (15): 3713–3717.
- Yan J.Q., Liao P.H., Lo K.V. 1988. Methane production from cheese whey. *Biomass.* 17 (3): 185–202.
- Yu H., Fang H. 2002. Acidogenesis of dairy wasterwater at various pH levels. *Wat. Sci. Technol.* 45 (10): 201–206.