



**Estudio del efecto del suero en la producción de metano en un digester anaerobio a escala  
de laboratorio**

Óscar Darío Patiño Rodríguez

Trabajo de Grado para optar al título de Ingeniero Químico título otorgado por UdeA

Tutor

Juan Esteban Vásquez Bustamante, PhD

Universidad de Antioquia

Facultad de Ingeniería

Ingeniería Química

Medellín

2022

<b>Cita</b>	(Patiño Rodríguez, 2022)
<b>Referencia</b>	Patiño Rodríguez, O. D. (2022). <i>Estudio del efecto del suero en la producción de metano en un digestor anaerobio a escala de laboratorio</i> [Trabajo de Grado]. Universidad de Antioquia, Medellín.
<b>Estilo APA 7 (2020)</b>	



CENDOI (Centro de Documentación de Ingeniería)

**Repositorio Institucional:** <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)

**Rector:** John Jairo Arboleda Céspedes.

**Decano/Director:** Jesús Francisco Vargas Bonilla.

**Jefe departamento:** Lina María González Rodríguez.

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

## **Dedicatoria**

“Todo gran sueño comienza con un soñador. Recuerda siempre que tienes contigo la fortaleza, la paciencia y la pasión para alcanzar las estrellas, para cambiar el mundo”

Harriet Tubman.

## **Agradecimientos**

Agradezco a la Universidad de Antioquia por la formación profesional y humana, además de convertirse en un segundo hogar para mí.

A mi asesor PhD. Juan Esteban Vásquez Bustamante. Por su paciencia y orientación

## Tabla de contenido

Resumen	7
Abstract	8
I. Introducción	9
II. Objetivos	11
III. Marco teórico	12
3.1) Hidrólisis	12
3.2) Acidogénesis o etapa fermentativa	12
3.3) Acetogénesis	13
3.4) Metanogénesis	13
3.5) Digestión Anaeróbica del suero de leche	13
3.6) Modelo de Cálculo AME	14
IV. Metodología	15
4.1) Montajes experimentales de AME	15
4.2) Lodo y Sustratos	15
4.3) Evaluación de AME para suero y comparación con Ac. Acético	16
4.4) Métodos analíticos y análisis estadístico	16
V. Resultados y Discusión	18
5.1) Comparación de medias entre montajes de AME1 a AME4	18
5.2) Comparación de la AME a diferentes concentraciones de suero	20
5.3) Análisis de Regresión	21
5.4) Máxima producción de metano a partir del suero	22
5.5) pH, DQO y AGV's durante los montajes AME	24
VI. Conclusiones	26
VII. Referencias	27

## Lista de figuras

- Figura. 1. *Metano producido para digestores con concentración inicial de suero de 2480mg/l, la línea punteada separa la primera y segunda alimentación del sustrato A:AME1, B:AME2, C:AME3, D:AME4.* 19
- Figura. 2. *Resultados prueba ANOVA para los montajes desde AME1 hasta AME4* 19
- Figura. 3. *Metano producido, con concentraciones iniciales de suero de A:AME6=1000mg/l y B:AME5= 5000mg/l. La línea punteada separa la primera y segunda alimentación del sustrato.* 20
- Figura. 4. *AME frente al nivel de concentración inicial de suero alimentado* 21
- Figura. 5. *Resultados regresión polinomial usando resultados AME1 a AME7* 21
- Figura. 6. *Resultados prueba ANOVA para los montajes a diferentes concentraciones de suero* 22
- Figura. 7. *AME7, Producción máxima de CH<sub>4</sub> para digestores con concentración inicial de suero de 2480mg/l, la línea punteada separa la primera y segunda alimentación del sustrato.* 23
- Figura. 8. *Magnitudes AME en los sustratos evaluados* 24
- Figura. 9. *Resultados prueba t para comparar la AME de los montajes con suero y con ácido acético a las mismas concentraciones.* 24
- Figura. 10. *Parámetros de seguimiento pruebas AME, primera alimentación* 25
- Figura. 11. *Parámetros de seguimiento pruebas AME, segunda alimentación* 25

## **Siglas, acrónimos y abreviaturas**

<b>AGV's</b>	Ácidos Grasos Volátiles
<b>AME</b>	Actividad Metanogénica Específica
<b>BHP</b>	Brake Horse Power
<b>DQO</b>	Demanda Química de Oxígeno
<b>PhD</b>	Philosophiae Doctor
<b>SPSS</b>	Statistical Package for the Social Sciences
<b>SSV</b>	Sólidos Suspendidos Volátiles
<b>UdeA</b>	Universidad de Antioquia

### Resumen

En este trabajo, se realizó un estudio experimental con digestores anaerobios a escala de laboratorio con el fin de cuantificar el efecto que tienen diferentes concentraciones de suero sobre la producción de metano, usando ensayos de actividad metanogénica específica (AME). Los experimentos se llevaron a cabo bajo condiciones térmicas controladas, donde se evaluaron dos tipos de sustrato: ácido acético y suero pasteurizado. Para cada ensayo y tipo de sustrato, se realizaron 2 alimentaciones. Los parámetros de seguimiento medidos como pH, ácidos grasos volátiles (AGV's) y demanda química de oxígeno (DQO), mostraron diferentes magnitudes. Los valores promedio de AME para el ácido acético y el suero pasteurizado para un nivel de concentración inicial alimentado de 2480mg/l en DQO, fueron de 0.96 y 0.62  $\text{gDQO}_{\text{CH}_4}/(\text{gSSV} \cdot \text{d})$ , respectivamente. Así, se estableció una disminución en promedio del 35% cuando se utiliza el sustrato suero para el desarrollo de esta prueba. De otro lado, para los ensayos con suero, también se evaluaron concentraciones iniciales de 1000 y 5000mg/l en DQO, para las que se registraron AME de 0.63 y 0.48  $\text{gDQO}_{\text{CH}_4}/(\text{gSSV} \cdot \text{d})$  respectivamente. Lo anterior indica que una sobre-concentración del sustrato suero tuvo un efecto sobre la condición y desarrollo de las etapas de degradación del sustrato, lo cual parece estar relacionado con una acidificación del medio, causada por la naturaleza del suero.

*Palabras clave:* actividad metanogénica específica (AME), suero pasteurizado, ácido acético, demanda química de oxígeno (DQO), etapas de degradación.

### Abstract

In this work, an experimental study was carried out with anaerobic digesters at a laboratory scale in order to quantify the effect of different whey concentrations on methane production, using specific methanogenic activity (SMA) tests. The experiments were carried out under controlled thermal conditions, where two types of substrate were evaluated: acetic acid and pasteurized whey. For each test and type of substrate, 2 feeds were made. The monitoring parameters measured as pH, volatile fatty acids (VFA's) and chemical oxygen demand (COD), showed different magnitudes. Mean SMA values for acetic acid and pasteurized whey for an initial fed concentration level of 2480mg/l COD, were 0.96 and 0.62  $\text{gCOD}_{\text{CH}_4}/(\text{gSSV} \cdot \text{d})$ , respectively. Thus, an average decrease of 35% was established when the whey substrate is used for the development of this test. On the other hand, initial concentrations of 1000 and 5000mg/l in COD were evaluated, for which SMA of 0.63 and 0.48  $\text{gCOD}_{\text{CH}_4}/(\text{gSSV} \cdot \text{d})$  were recorded, respectively. This indicates an over-concentration of the whey substrate had an effect on the condition and development of the substrate degradation stages, which seems to be related to an acidification of the medium, caused by the nature of the whey.

Keywords: specific methanogenic activity (SMA), pasteurized whey, acetic acid, chemical oxygen demand (COD), degradation stages.

## I. Introducción

En el sistema de tratamiento de aguas residuales, de la sede Colanta Derivados Lácteos ubicada en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia, se tiene un reactor Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB). Dicha unidad es alimentada con las aguas provenientes de una unidad de flotación o Diffusion Air Flotación (DAF), que contiene la carga líquida disuelta, posterior al proceso de coagulación y separación de fases del afluente principal del sistema.

La función del reactor UASB es degradar la mencionada carga disuelta, en formas de proteínas, carbohidratos y lípidos, a través de las bacterias contenidas en el lodo anaerobio. Como producto de esta remoción se genera biogás cuya composición es metano y dióxido de carbono ( $\text{CH}_4$  y  $\text{CO}_2$ ) principalmente. Este biogás es usado como fuente de energía renovable como combustible en una caldera de 70BHP. De esta manera, se considera relevante estudiar el efecto que tiene el suero pasteurizado al suministrarse como sustrato a una unidad biológica simulada como digestor a escala de laboratorio, lo anterior por considerar una estructura compleja de este sustrato de difícil degradación.

Para alcanzar el anterior objetivo, la prueba de AME de un lodo puede ser usada como análisis de rutina para cuantificar la actividad de la población metanogénica, además de ofrecer otras aplicaciones como son: evaluar el comportamiento de la biomasa bajo el efecto de compuestos potencialmente inhibidores, determinar la toxicidad relativa de compuestos químicos presentes en efluentes y/o establecer el grado de degradabilidad de diversos sustratos [1].

Para la cuantificación del metano se pueden optar por métodos sofisticados como la medición manométrica o cromatográfica o adaptar mediciones volumétricas simples que contemplan lecturas de metano generado, esto a través de una columna de solución de hidróxido de sodio (NaOH) desplazada, aprovechando su capacidad de reaccionar con el  $\text{CO}_2$  contenido en el biogás [2].

Algunos estudios han explorado el efecto del suero en el proceso de digestión anaerobia. En un estudio realizado por Arango y Sanches [3], se operó un reactor UASB a escala de laboratorio a condiciones estables usando como sustrato suero de quesería. Encontraron que con tasas de carga orgánica superiores a 9.6g de DQO/(l\*d), se observaron reducciones en porcentajes de eliminación de DQO y de sólidos suspendidos volátiles (SSV). Así también, Arango y Sanches, referenciaron un incremento en la producción de biogás de 0.66 a

5.56l\_biogás/(l\_reactor\*d) al aumentar la velocidad de la carga orgánica en el afluente desde 1.7 hasta 18.5gDQO/(l\*d), usando como sustrato el mismo suero de quesería, aunque en la composición del biogás, se disminuyó la proporción de metano y se incrementó la de dióxido de carbono.

Lo hallado por estos estudios, evidencia la influencia de la concentración del suero sobre la producción de biogás. De este modo, la evaluación de la AME del lodo contenido en los reactores UASB instalados en la Cooperativa Colanta, será útil para cuantificar el alcance que puedan proveer dichas unidades en la remoción de cargas eventuales de suero pasteurizado.

El presente proyecto consiste en hacer la medición a escala de laboratorio, de la capacidad de conversión en metano de la DQO contenida en un sustrato como el suero pasteurizado, a diferentes concentraciones, por acción de la población de bacterias contenidas en el lodo de un digestor anaerobio.

## **II. Objetivos**

### **Objetivo general**

Cuantificar el efecto que tienen diferentes concentraciones de suero sobre la producción de metano en un digester anaerobio a escala de laboratorio, usando ensayos de AME.

### **Objetivos específicos**

- Realizar pruebas a diferentes concentraciones de suero para el montaje de la prueba de AME, y así registrar el volumen de metano generado durante los tiempos de los ensayos.
- Comparar la capacidad de las bacterias anaeróbicas para transformar los diferentes sustratos alimentados (suero y ácido acético) en metano.
- Medir los parámetros de seguimiento definidos como son: pH, DQO disuelta, ácidos grasos volátiles (AGV's), especificados para el seguimiento de la prueba de AME en general.

### III. Marco teórico

La actividad metanogénica es hoy en día la prueba más importante para determinar el grado de actividad biológica en que se encuentran los lodos de cualquier sistema de tratamiento anaerobio. Para determinar dicha actividad, se mide la producción de metano en una cantidad de lodo determinada bajo condiciones óptimas, agregando un exceso de AGV's (o algún otro sustrato orgánico), a un pH neutro y una temperatura próxima a la del sistema a gran escala. Se aplican dos alimentaciones de AGV's por cada prueba. Normalmente la AME será más grande durante la segunda alimentación debido a que el lodo se debe adaptar durante la primera alimentación [2].

Para cuantificar el metano en estos ensayos, este es separado del biogás, a través de una solución al 5% de hidróxido de sodio (NaOH), según la reacción:  $\text{OH}^- + \text{CO}_2 \rightarrow \text{HCO}_3^-$ . De esta manera, se acumula solo el  $\text{CH}_4$  en la parte superior de la botella, desplazando el líquido contenido hacia el recipiente colector. El nivel desplazado de la solución de NaOH es equivalente a la cantidad de metano generado en la prueba [2].

La obtención del biogás (% $\text{CH}_4$ :55–70%,  $\text{CO}_2$ :30–45% y trazas de otros gases), consta de cuatro procesos fundamentales los cuales son: hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis [4].

#### 3.1) Hidrólisis

Según este modelo, la primera fase es la hidrólisis de partículas y moléculas complejas que son hidrolizadas, mediante reacciones de oxidación-reducción, por enzimas extracelulares producidas por los organismos fermentativos. Como resultado se producen compuestos solubles, que serán metabolizados por las bacterias anaerobias en el interior de las células [4].

#### 3.2) Acidogénesis o etapa fermentativa

Durante esta etapa tiene lugar la fermentación de las moléculas orgánicas solubles en compuestos que puedan ser utilizados directamente por las bacterias metanogénicas (acético, fórmico,  $\text{H}_2$ ) y compuestos orgánicos de cadenas más reducidas como los AGV's (ácido acético, ácido propiónico y ácido butírico), y etanol principalmente, que tienen que ser oxidados por bacterias acetogénicas en la siguiente etapa del proceso [5].

### 3.3) Acetogénesis

Mientras que algunos productos de la fermentación pueden ser metabolizados directamente por los organismos metanogénicos ( $H_2$  y acético), otros (etanol, AGV's y algunos compuestos aromáticos) deben ser transformados en productos más sencillos, como acetato ( $CH_3COO^-$ ) e  $H_2$ . Esto se logra a través de las bacterias acetogénicas, en especial las llamadas homoacetogénicas que mantienen bajas presiones parciales de  $H_2$  y, por tanto, permiten la actividad de las bacterias acidogénicas y acetogénicas.

A esta altura del proceso, la mayoría de las bacterias anaeróbicas han extraído todo el alimento del sustrato y, como resultado de su metabolismo, eliminan sus propios productos de desecho (ácidos grasos volátiles sencillos) de sus células, que van a utilizarse en la etapa siguiente [5].

### 3.4) Metanogénesis

Los microorganismos metanogénicos pueden ser considerados como los más importantes dentro del consorcio de microorganismos anaerobios, ya que son los responsables de la formación de metano y de la eliminación del medio de los productos de los grupos anteriores, siendo, además, los que dan nombre al proceso general de biometanización.

Los microorganismos metanogénicos completan el proceso de digestión anaeróbica mediante la formación de metano a partir de sustratos mono-carbonados o con dos átomos de carbono unidos por un enlace covalente: acetato,  $H_2/CO_2$ , formato, metanol y algunas metilaminas [6].

### 3.5) Digestión Anaeróbica del suero de leche

Tradicionalmente, el suero de leche fermentado contiene entre 7-10% de sólidos totales, 3.5-4.9% de lactosa, aproximadamente un 0.5% de ácido láctico, 2.7-3.8% de compuestos nitrogenados, 0.6-0.75% de cenizas, el contenido de grasa varía de 0.3-1.0%. Además de las proteínas de la leche desnatada y lactosa, también contiene proteínas y fosfolípidos derivados de la membrana de los glóbulos de grasa de la leche [7].

Así, la principal limitación para tratar el suero de quesería radica en su gran facilidad de acidificar, principalmente cuando se utilizan velocidades de carga orgánica elevadas, donde la fase acidogénica y la metanogénica se extienden hacia la parte superior del reactor, ocasionando

la inestabilidad del sistema [7]. Esa inestabilidad del proceso metanogénico durante el tratamiento anaerobio del suero de queso puede ser ocasionada por la gran cantidad de compuestos ácidos generados por la fermentación de la lactosa. La presencia y acumulación de estos ácidos producen un descenso en el pH, promoviendo el crecimiento de bacterias acetogénicas e inhibiendo la actividad metanogénica [8].

### 3.6) Modelo de Cálculo AME

A partir de la pendiente promedio durante el período de actividad, se puede obtener la tasa (R) en mlCH<sub>4</sub>/l. Este valor puede ser convertido a la actividad metanogénica específica (AME) como sigue [2]:

$$AME [gDQO_{CH_4}/(gSSV*d)] = (R*24)/(FC*V*SSV) \quad Ec.(1)$$

Donde:

R= tasa de producción en mlCH<sub>4</sub>/h

24= h/d

FC=502.94, factor de conversión de 1gDQO/l a mlCH<sub>4</sub>húmedo, según temperatura de ensayo y presión atmosférica reducida del sitio donde se realiza el ensayo

V= volumen efectivo líquido en el digester en litros

SSV=concentración del lodo en gSSV/l [2]

Las unidades de la AME indican la capacidad de conversión de la masa de DQO a volumen de metano (gDQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>), esto por cantidad de masa de SSV presente en el digester.

## IV. Metodología

### 4.1) Montajes experimentales de AME

Para la evaluación de la AME, se usó un sistema de desplazamiento de solución al 5% de NaOH que consta de probetas de vidrio (Brand) de 250ml y digestores (frasco Schott 500ml) conectados a través de mangueras en U. Los digestores se ubicaron en un nivel superior, para evitar la succión del NaOH por presiones negativas hacia los digestores montados. El sistema mencionado estuvo al interior de una incubadora (Thermo Scientific Heratherm IGS 100), para control de temperatura a 32°C.

Cada prueba de AME, se llevó a cabo con una réplica en digestores tipo batch con un volumen de trabajo de 500ml y un espacio de cabeza de 100ml. En cada prueba se realizaron dos alimentaciones. La primera alimentación, consistió en adicionar volúmenes de cada sustrato para alcanzar los niveles de concentración deseados en cada digestor. Para la segunda alimentación, se adicionó la mitad del volumen indicado en la primera alimentación, esto para no sobre-concentrar la carga total de los digestores. Lo anterior, esperando que en el periodo de la primera alimentación (24h), no se desdoblara toda la carga alimentada [2].

Un volumen del lodo correspondiente a una concentración promedio de 1.37g/l de sólidos suspendidos volátiles (SSV), se usó como inóculo con agua destilada burbujeada por 6h con biogás del reactor UASB mencionado, para garantizar condiciones anaerobias en el volumen líquido de cada digestor. De esta manera, se evaluaron diferentes sustratos y concentraciones que se detallaran más adelante en la metodología. Para el montaje de las pruebas se contó con las instalaciones, equipos y recursos del Laboratorio de Aguas de la sede Colanta Lácteos, que dispuso de todos los elementos requeridos.

### 4.2) Lodo y Sustratos

El lodo anaerobio empleado en los experimentos, se obtuvo del reactor UASB de 870m<sup>3</sup> (Tepsa, 2008), del sistema de tratamiento de aguas residuales de la sede Colanta Lácteos en San Pedro de los Milagros, Antioquia.

El ácido acético grado analítico, fue obtenido como sustrato estándar de la casa fabricante Merck KGaA, Darmstadt-Germany. El suero pasteurizado, fue obtenido de los silos de almacenamiento del área de pulverización de la planta Colanta en San Pedro de los Milagros.

#### **4.3) Evaluación de AME para suero y comparación con Ac. Acético**

La evaluación de los sustratos se realizó con diferentes niveles de concentración de sustrato y dos sustratos diferentes, distribuidas en un total de 11 pruebas de AME. En cada prueba se realizó un duplicado y se tuvo en cuenta un blanco para el cálculo correcto de la AME. Las pruebas AME1, AME2, AME3, AME4 y AME7, se realizaron usando suero como sustrato a una concentración inicial en el digestor de 2480mg/l en DQO. La AME5 también usó suero como sustrato, pero a una concentración de 5000mg/l. La AME6 usó una concentración de 1000mg/l de DQO. Para las AME8, AME9, AME10 y AME11, se empleó ácido acético como sustrato a una concentración inicial de 2480mg/l en DQO.

Para determinar la concentración de DQO en el suero, se desarrolló el método de la micro DQO contemplado en el Standard Methods [9], realizando previamente una dilución adecuada de la muestra de sustrato inicial. El ácido acético, se preparó en una concentración al 5% en peso, y seguidamente, se determinó la equivalencia teórica del volumen requerido de esta solución para obtener los mg/l en DQO deseados en el digestor.

Al inicio y final de cada alimentación, se tomaron alícuotas de cada digestor y se determinaron los parámetros de pH, AGV's y DQO disueltas. Los digestores se sometieron a régimen estático y las lecturas del nivel de la columna de solución de NaOH, se registraron periódicamente a través del montaje, de acuerdo a la duración de la prueba. Se calcularon los resultados de AME de acuerdo a la ecuación 1 (Ec.(1))

#### **4.4) Métodos analíticos y análisis estadístico**

Para el proceder de las pruebas y la medición de parámetros, se tuvo como referencias guías del Standard Methods [9]. La medición de DQO se realizó por lecturas fotométrica (Espectrofotómetro PHARO 300, Merck KGaA, Darmstadt-Germany). La medición de pH por

lectura potenciométrica (pHmetro HQ40d, (Hach) [9], y la determinación de AGV's, se hizo según lo expuesto por Jim Field [2].

Las comparaciones estadísticas entre los valores de AME se realizaron con el programa SPSS. Las comparaciones por ANOVA se realizaron teniendo en cuenta un  $\alpha=0.05$  y utilizando la prueba de Tukey como prueba posthoc cuando se encontraron diferencias significativas. También se realizaron comparaciones estadísticas con la prueba T teniendo en cuenta un  $\alpha=0.05$ . Para la realización de los análisis de regresión se utilizó el software Statgraphics.

## V. Resultados y Discusión

Los parámetros evaluados durante las pruebas de AME, se presentan a continuación. La figura 1 registra las lecturas de los volúmenes de CH<sub>4</sub> producido frente a los tiempos contemplados para la primera y segunda alimentación, correspondientes a las pruebas AME 1 a 4. Para las primeras alimentaciones efectuadas con 2480mg/l de suero en dichas pruebas, se evidenció una menor tasa de generación de metano con relación a la segunda alimentación. Esto obedece a que, al iniciar la prueba, hay una etapa de adaptación que enfrentan las bacterias anaerobias al experimentar el desdoblamiento de las estructuras químicas encontradas en el sustrato del suero.

En contraparte, luego del proceso de adaptación sucedido, viene la segunda alimentación donde la descomposición de las estructuras citadas, se hace con mayor relación frente al tiempo, es así que para la determinación de la AME, se tomaron las tasas de generación de metano de esta segunda alimentación. Adicionalmente, para cada prueba se definió un digestor blanco, que establece cual contenido orgánico de los sólidos del lodo, puede ser transformado a metano.

El comportamiento de aclimatación (poca producción de metano) en la primera etapa es claro en todas las pruebas. En general, se observa una mayor producción luego de la segunda alimentación comparado con los digestores blanco y la primera alimentación como se mencionó. La figura 1D muestra que en este montaje uno de las réplicas del sustrato, comenzó a una lectura de metano ligeramente menor que el blanco, sin embargo, el comportamiento luego de la segunda alimentación es igual generándose más metano que en el digestor blanco. Así, se obtuvieron valores de AME1:0.61, AME2:0.58, AME3:0.63, y AME4:0.64, consolidando un valor promedio de AME:0.62 gDQO<sub>CH4</sub>/(gSSV\*d), para la concentración de 2480 mg/l.

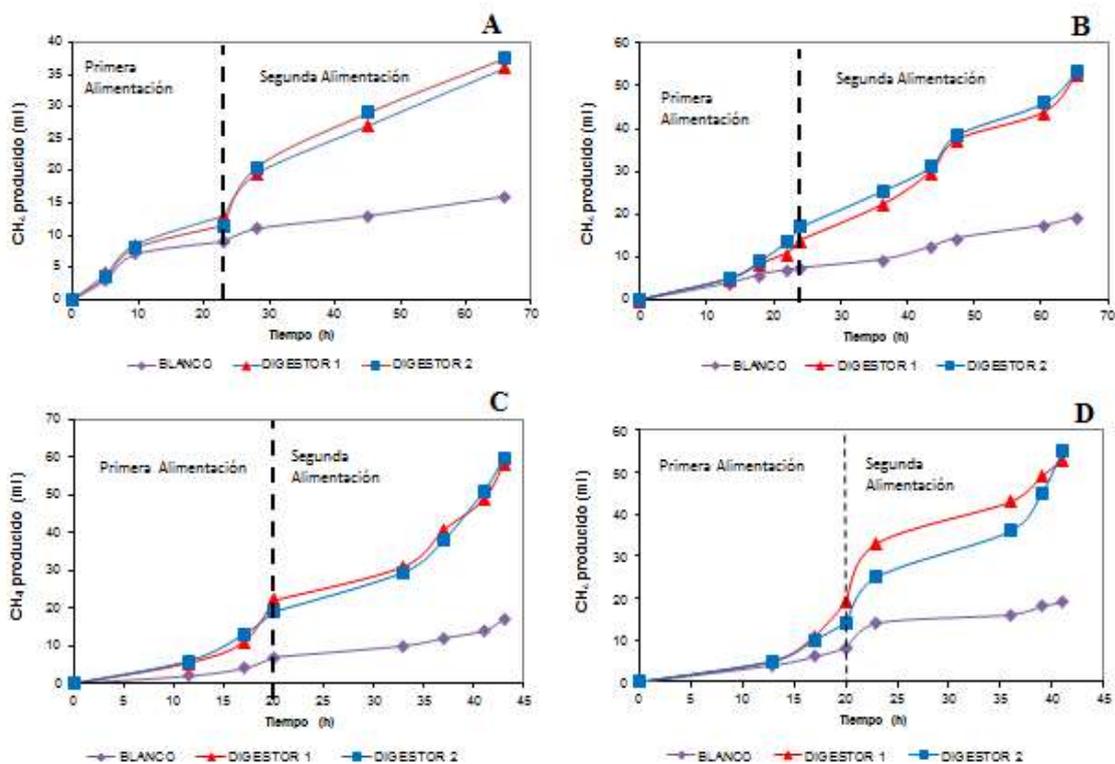
### 5.1) Comparación de medias entre montajes de AME1 a AME4

La figura 2 muestra un análisis estadístico con el programa SPSS que se realizó para establecer si había diferencias entre los valores estimados de los montajes AME1 a AME4. De esta manera, se aplicó la prueba ANOVA de una vía para comparar el valor alpha ( $\alpha=0.05$ ) con el valor p, obtenido. Como el valor  $p=0.831 > \alpha=0.05$ , se concluye que no hay diferencias significativas entre los valores obtenidos de AME en los diferentes montajes a la concentración

inicial de 2480mg/l de suero. De este modo, se confirma que los montajes AME a una misma concentración son replicables y generan siempre un resultado estadísticamente igual. Además, genera confianza en la fiabilidad de la metodología implementada para las pruebas AME.

**Figura 1**

*Metano producido para digestores con concentración inicial de suero de 2480mg/l, la línea punteada separa la primera y segunda alimentación A:AME1, B:AME2, C:AME3, D:AME4.*



**Figura 2**

*Resultados prueba ANOVA para los montajes desde AME1 hasta AME4*

**ANOVA**

AME

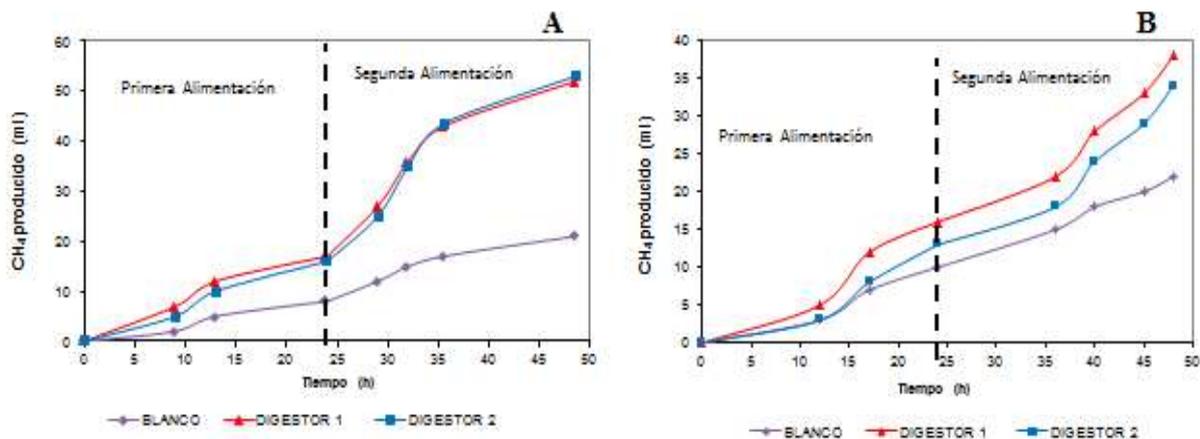
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,004	3	,001	,291	,831
Within Groups	,017	4	,004		
Total	,020	7			

## 5.2) Comparación de la AME a diferentes concentraciones de suero

Contemplando otros niveles de concentración alimentados de suero, la figura 3 ilustra el comportamiento de los digestores cuando se alimentaron inicialmente con cargas de suero de 1000mg/l (AME6) y 5000mg/l (AME5) en DQO. Así, los valores promedio obtenidos para las concentraciones de 1000 y 5000mg/l fueron AME6:0.63 y AME5:0.48 gDQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/(gSSV\*d), respectivamente. En el caso de la figura 3B, que muestra la producción de metano cuando la concentración de suero fue de 5000mg/l, se ve que la actividad aumentó muy poco (fenómeno evidenciado en una pendiente menos pronunciada) durante la segunda alimentación, probablemente debido al nivel de sobre-concentración del sustrato en el digestor, comparada al digestor con concentración inicial de 1000mg/l. Para este último digestor, la tasa de conversión de DQO a metano mostró una mayor relación, es decir, la degradación de la materia orgánica suministrada, se hizo de una manera más progresiva al evidenciar la AME más alta frente a los otros niveles de concentración ensayados.

**Figura 3**

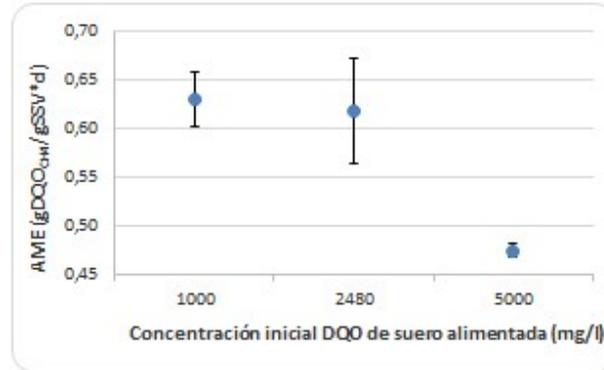
Metano producido, con concentraciones iniciales de suero de A:AME6=1000mg/l y B:AME5=5000mg/l. La línea punteada separa la primera y segunda alimentación del sustrato.



En la figura 4, se representan las magnitudes promedio para los resultados de AME correspondientes a las diferentes concentraciones de suero. Se notó un mayor margen de error para el nivel de 2480mg/l, inducido por ser el consolidado de 4 pruebas independientes donde se consideraron todos los valores obtenidos. Es de apreciar, que la concentración de 5000mg/l inicial de suero, presentó un error pequeño, acompañado de la baja magnitud para la AME en este nivel.

**Figura 4**

*AME frente al nivel de concentración inicial de suero alimentado*

**5.3) Análisis de Regresión**

Se usó el software Statgraphics para estimar la curva que relacione la prueba AME frente a la concentración de suero, de esta manera se aplicó análisis de regresión polinomial de segundo grado. Se obtuvo un coeficiente de correlación  $R^2=0.63$  cuya ecuación se referencia en la figura 5. Como recomendación para mejorar la correlación, es determinante realizar el montaje de otras AME a concentraciones que se encuentren en el rango (500-4000) mg/l en DQO de suero. Esto ayudaría a disminuir la incertidumbre en los resultados obtenidos, y mejoraría el modelo polinomial propuesto.

**Figura 5**

*Resultados regresión polinomial usando resultados AME1 a AME7*

R-cuadrada = 63,2593 por ciento  
 R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 56,5792 por ciento  
 Error estándar del est. = 0,0444563  
 Error absoluto medio = 0,0314286  
 Estadístico Durbin-Watson = 2,46559 (P=0,7118)  
 Autocorrelación de residuos lag 1 = -0,30092

**El StatAdvisor**

La salida muestra los resultados de ajustar un modelo polinomial de segundo orden para describir la relación entre AME (gDQO-CH<sub>4</sub>/(gSSV\*d)) y Conc. Suero (mg/l). La ecuación del modelo ajustado es

$$\text{AME (gDQO-CH}_4\text{/(gSSV*d))} = 0,603931 + 0,0000390331 * \text{Conc. Suero (mg/l)} - 1,29639\text{E-}8 * \text{Conc. Suero (mg/l)}^2$$

Puesto que el valor-P en la tabla ANOVA es menor que 0,05, existe una relación estadísticamente significativa entre AME (gDQO-CH<sub>4</sub>/(gSSV\*d)) y Conc. Suero (mg/l) con un nivel de confianza del 95%.

En la figura 6, se presenta los resultados estadísticos para las pruebas AME a las diferentes concentraciones de sustrato, usando el programa SPSS. Se aplicó la prueba ANOVA de una vía y se obtuvo un valor  $p=0.012 < \alpha=0.05$ , de esta manera se concluye que diferentes

concentraciones iniciales pueden generar valores de AME estadísticamente diferentes. Según los resultados de la prueba de Tukey, el nivel de concentración inicial de 5000mg/l (AME6), no es estadísticamente igual al resto de valores obtenidos para las otras pruebas, siendo menor. Luego, la concentración inicial de 5000mg/l en DQO, influyó negativamente en el desdoblamiento del sustrato para la producción de CH<sub>4</sub>.

**Figura 6**

*Resultados prueba ANOVA para los montajes a diferentes concentraciones de suero*

ANOVA					
AME	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,035	2	,018	7,491	,012
Within Groups	,021	9	,002		
Total	,056	11			

AME			
Tukey HSD <sup>a,b</sup>			
ConcentracionSuero	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
5000,00	2	,4750	
2480,00	8		,6175
1000,00	2		,6300
Sig.		1,000	,953

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.  
 a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2,667.  
 b. The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.

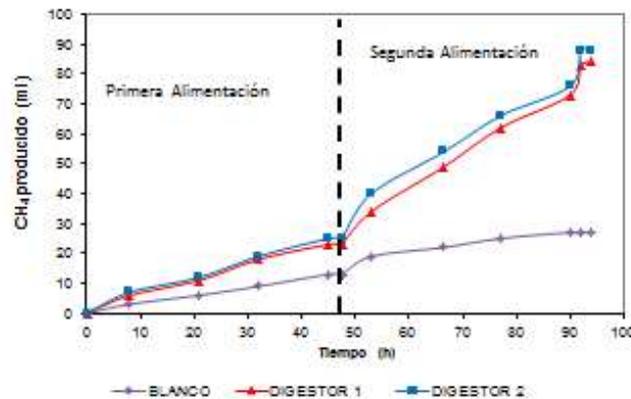
**5.4) Máxima producción de metano a partir del suero**

Para observar la máxima producción de metano que se puede obtener en estas pruebas a partir de suero, se realizó la prueba denominada AME7. La máxima producción de metano se produjo en cerca de 48h después de la alimentación tanto en la primera como en la segunda alimentación, tal como se presenta en la figura 7, donde para un nivel de concentración inicial de 2480mg/l de suero, es notable una disminución de la pendiente próxima al tiempo mencionado. Es relevante considerar que, durante las pruebas, la capacidad de desdoblamiento por parte de las bacterias está limitada por la concentración de moléculas complejas contenidas en el sustrato alimentado, que requieren otros mecanismos para fragmentarse a cadenas más simples. Así, un mayor tiempo de residencia en los digestores, mostró una mayor degradación de la carga inicial.

El rendimiento que se obtuvo para la segunda alimentación, fue de 104.8mlCH<sub>4</sub>/gDQOdegradado, para una concentración de 1.79gSSV/l en el digestor.

**Figura 7**

AME7, Producción máxima de  $CH_4$  para digestores con concentración inicial de suero de 2480mg/l, la línea punteada separa la primera y segunda alimentación del sustrato.



En la figura 8, se comparan las magnitudes de la AME de los dos sustratos evaluados en este trabajo. En consideración, la degradación de la materia orgánica aportada por los sustratos se hace por etapas, mientras que en las fases de hidrólisis-acidogénesis los microorganismos involucrados suelen ser facultativos, para la fase acetogénica los microorganismos son estrictos, y con tasas máximas de crecimiento del orden de 5 veces menores a las acidogénicas. Lo anterior significa que, si las bacterias metanogénicas tienen algún problema para reproducirse y consumir los ácidos, estos últimos se acumularán, empeorando las condiciones para las bacterias metanogénicas, responsables de la producción de metano.

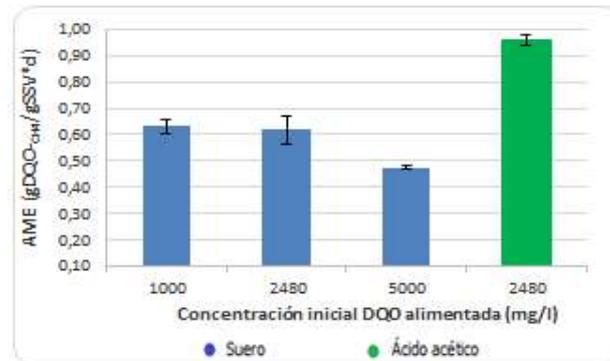
Así, el sustrato de ácido acético, al presentar una cadena simple de 2 carbonos en su estructura, experimenta más favorabilidad para su conversión a  $CO_2$  y  $CH_4$ , y es usado como un sustrato de referencia en pruebas como la AME para indicar que tanto afecta otro sustrato la capacidad metanogénica del lodo.

En esta medida, las AME utilizando ácido acético a una concentración inicial de 2480mg/l en DQO, fueron de 0.94, 0.98, 0.98 y 0.93  $gDQO_{CH_4}/(gSSV*d)$  para los montajes AME8 hasta AME11, respectivamente, y se relaciona un valor promedio de 0.96  $gDQO_{CH_4}/(gSSV*d)$ . Al comparar esta magnitud con los valores promedio de AME usando suero (AME6:0.63, AME1-4:0.62 Y AME5:0.48  $gDQO_{CH_4}/(gSSV*d)$ ), para las concentraciones de 1000, 2480 y 5000mg/l, respectivamente; se encontraron disminuciones en valores de 34, 36 y 50%, correspondientemente.

Dado que, las tasas de conversión de materia orgánica en metano, representados en la AME para el suero son menores, es de aseverar empíricamente que el uso del suero como sustrato sí afecta como tal este parámetro (AME).

**Figura 8**

*Magnitudes AME en los sustratos evaluados*



Continuando con el análisis de datos con ayuda del programa SPSS, en la figura 9, se comparó las medias de los valores de AME, para los sustratos evaluados. Cuando la concentración de sustrato era de 2480mg/l (AME1-4 y AME8-11), usando la prueba t de dos colas, el valor  $p=6.44E^{-10} < \alpha=0.05$ , que indicó que existen diferencias significativas para la AME cuando se usa un sustrato diferente, y es mucho menor en el caso del suero que en el caso del ácido acético. Como se comentó anteriormente, la cadena orgánica simple del ácido acético, facilita el desdoblamiento por parte de la población bacteriana para la producción de metano.

**Figura 9**

*Resultados prueba t para comparar la AME de los montajes con suero y con ácido acético a las mismas concentraciones.*

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
AME	Equal variances assumed	1,744	,208	-14,734	14	6,4446E-10	-,34125	,02316	-,39092	-,29158
	Equal variances not assumed			-14,734	12,433	,000	-,34125	,02316	-,39152	-,29098

### 5.5) pH, DQO y AGV's durante los montajes AME

En la Figura 10, se referencia el consolidado de parámetros evaluados para la primera alimentación según el sustrato (AME1-7: suero pasteurizado y AME8-11: ácido acético). Los valores de pH finales cuando se usó suero, bajaron significativamente indicando acidificación y pobre adaptación a este sustrato por parte de la población bacteriana en el primer periodo de alimentación. Cuando se usó suero para los montajes, las magnitudes finales de DQO y AGV's, presentaron diferencias menores comparadas a sus correspondientes valores iniciales, confirmando así que la degradación se hace más compleja en las etapas anaerobias definidas para

este sustrato. En contraste, los registros para el sustrato ácido acético, indicaron mayor asimilación y degradación al mostrar diferencias más amplias en los dos últimos parámetros mencionados.

**Figura 10**

*Parámetros de seguimiento pruebas AME, primera alimentación*

Identificación de la prueba	pH		DQO (mg/l)		AGV's (mg/l)	
	inicial	final	inicial	final	inicial	final
AME1	6,81	6,32	2879	2267	957	705
AME2	6,96	6,74	2946	2390	1050	702
AME3	6,85	6,98	2578	1950	996	642
AME4	7,14	5,6	2725	2192	966	699
AME5	7,04	5,46	7623	5403	1974	498
AME6	7,14	5,68	1446	916	396	228
AME7	N.D	N.D	2593	1419	N.D	N.D
AME8	8,37	8,36	2365	1534	1319	642
AME9	8,50	7,87	2515	1652	1228	684
AME10	6,24	6,17	2586	1617	1450	684
AME11	8,50	7,87	2402	1602	1458	658

Finalmente, en la figura 11, se consideran los parámetros de seguimiento en el desarrollo de la segunda alimentación. Para el sustrato suero, persiste evidencia de condición ácida, para el final de este periodo; el mismo patrón de diferencias bajas para las DQO y AGV's finales frente a las iniciales. La prueba AME7, indicó una mayor remoción en DQO, inducida por mayor tiempo de digestión, lo que es esperable por los tiempos más prolongados de degradación que se dieron en esta prueba. En contraparte, las concentraciones finales para el ácido acético, corroboraron un valor más alto de remoción frente a lo alimentado inicialmente. La condición térmica (32°C), la ausencia de oxígeno y la alta carga de sustrato en el montaje de 5000mg/l en DQO, probablemente, pudo generar una rápida fermentación de los azúcares contenidos en esta carga orgánica alta, causando una rápida producción de ácido, y a su vez, un descenso del pH a rangos por debajo de 5.0, que enmarcan la acidificación.

**Figura 11**

*Parámetros de seguimiento pruebas AME, segunda alimentación*

Identificación de la prueba	pH		DQO (mg/l)		AGV's (mg/l)	
	inicial	final	inicial	final	inicial	final
AME1	6,73	6,74	2136	1702	543	351
AME2	7,42	6,01	2009	1742	483	327
AME3	7,25	5,08	2175	1845	456	297
AME4	7,02	4,81	2307	1930	510	312
AME5	7,06	4,01	5096	3306	1230	912
AME6	7,14	7,61	900	456	180	69
AME7	N.D	N.D	2216	1523	N.D	N.D
AME8	8,62	8,37	1688	1038	603	319
AME9	7,25	8,50	1440	921	876	228
AME10	7,25	5,08	1915	1246	1050	450
AME11	7,25	8,50	1955	1201	630	458

## VI. Conclusiones

Se halló evidencia de la alteración de la degradación de la materia orgánica por acción bacteriana contenida en un lodo anaerobio cuando se usa suero como sustrato. Esto se soporta en la disminución de la AME de un lodo en 36% respecto a un sustrato de referencia como el ácido acético, preparados en el mismo nivel de concentración inicial.

Los niveles de concentración de suero a los que se probaron los digestores, arrojaron que para valores de concentración baja y media (1000 y 2480mg/l de DQO), el efecto adverso de este tipo de sustrato no es tan marcado en la AME como el de una concentración alta de 5000mg/l. La AME en este último caso fue de 0.48 gDQO<sub>CH<sub>4</sub></sub>/(gSSV\*d) comparado con valores de AME cercanos a 0,62 gDQO-CH<sub>4</sub>/(gSSV\*d) cuando se usan concentraciones menores.

Cuando se usa ácido acético como sustrato en el proceso de digestión anaerobia, el cambio de pH es menor y la remoción de DQO mayor, mientras que al usar suero hay mayor acidificación y menor remoción. Aún más, el efecto es más marcado cuando las concentraciones de suero son más altas.

La inestabilidad del proceso metanogénico durante las pruebas en digestores anaerobios con suero de queso, puede ser ocasionada por la gran cantidad de compuestos ácidos generados por la fermentación de la lactosa. Así, la presencia y acumulación de estos ácidos producen un descenso en el pH, promoviendo el crecimiento de bacterias acetogénicas e inhibiendo la actividad metanogénica.

## VII. Referencias

- [1] C. Chernicharo, “Reactores anaeróbios”, en Principio do tratamento biológico de águas residuárias, 1 ed., Brasil: Universidad Federal de Minas Gerais, 1997, Vol. 5, Cap. 3.
- [2] J. Field, “Medición de parámetros”, en Manual de Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodos – UASB, Universidad Agrícola de Wageningen Holanda, Colombia: Universidad del Valle - Santiago de Cali, 1987, pp. C1-C53.
- [3] O. Arango Bedoya and L. Sanches E Sousa, “Treatment of dairy industry wastewater using UASB anaerobic system”, *Revista Facultad de Ciencias Agropecuarias*, Vol7 No2, pp 24-31, 2009, [online], Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1692-35612009000200004&lang=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612009000200004&lang=es).
- [4] E.A. Reyes, “Generación de biogás mediante el proceso de digestión anaerobia, a partir del aprovechamiento de sustrato orgánico”, *Revista Científica de FAREM-Esteli. Medio ambiente, tecnología y desarrollo humano*, Año 6, No 24, pp. 60-81, 2017, [En línea]. Disponible en: <https://www.camjol.info/index.php/FAREM/article/view/5552/5248>.
- [5] M.T. Varnero Moreno, “Fundamentos de la fermentación metanogénica” en Manual de Biogás, Chile: Ministerio de Energía – Santiago de Chile, 2011, pp. 21 – 22.
- [6] J.Q. Yan, K.V. Lo, P.H. Liao, “Anaerobic digestion of cheese whey using an upflow anaerobic sludge blanket reactor: III sludge and substrate profiles”. *Revista Biomass*. Vol. 21, pp. 257-271, 1990, [En línea]. Disponible en: [https://www.sciencedirect-com.udea.lookproxy.com/science/article/pii/014445659090076V](https://www.sciencedirect.com/udea.lookproxy.com/science/article/pii/014445659090076V).
- [7] Z. Libudzisz and L. Stepniak, “Fermented Milks Buttermilk”, *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2 ed, 2002, pp. 489-495, <https://www.sciencedirect-com.udea.lookproxy.com/science/article/pii/B9780123744074001837>.
- [8] G. Ranalli, V. Andreoni, P. Bonfanti, S. Corradini and C. Sordini, “Anaerobic digestion of cheese whey in a two stages reactor”. *Revista American Society of Agricultural Engineers*. Vol. 7, pp. 347-356, 1995.
- [9] A.D. Eaton, L.S. Clesceri, E.W. Rice, A.E. Greenberg and A.M.H. Franson, Standard Methods for Examination of Water & Wastewater. 21 ed, Editorial Awwa, 2005