

Evaluación de un digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento de lactosuero de la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”



Miguel Antonio Casanova Acosta

**Universidad de Valle
Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente
Posgrado en Ingeniería Sanitaria y Ambiental
Santiago de Cali, Colombia
2017**

**Evaluación de un digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento de
lactosuero de la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”**

Miguel Antonio Casanova Acosta

Jenny Alexandra Rodríguez Victoria Ph. D.

Directora

**Universidad de Valle
Escuela de Ingeniería de Recursos Naturales y del Ambiente
Posgrado en Ingeniería Sanitaria y Ambiental
Santiago de Cali, Colombia
2017**

Agradecimientos

A Dios; por darme la sabiduría y la paciencia para poder emprender y cumplir este sueño.

A mi madre, por ser la compañera que Dios me ha dado para seguir adelante con las metas y retos que se me presentan en mi vida.

Le agradezco a mi directora de tesis, Ph. D. Jenny Alexandra Rodríguez, quien con su constancia y conocimiento me impulsó al cumplimiento de éste trabajo.

Me gustaría agradecer a mi papá Miguel Ángel Casanova y mi tío Julio Cesar Casanova, quienes me abrieron las puertas la empresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*” para realizar el montaje experimental.

Gratitud con la Institución Educativa “*José María Hernández*” y el laboratorio de Agua del Centro de Lope del Servicio Nacional de Aprendizaje SENA, por prestar sus instalaciones para realizar las pruebas fisicoquímicas de esta investigación.

Agradezco al Ingeniero Jaime Caicedo y al Ph. D. Fernando Casanova quienes con sus conocimientos aportaron a la culminación de este trabajo.

Quiero agradecer a la Dra. Gabriela Chamorro, Dr. Jaime Ortega y al Ing. Mario Erazo, compañeros del Hospital Civil de Ipiales quienes en el curso de humanización me guiaron y me dieron fortaleza para terminar la redacción de ésta tesis.

A mis compañeros del Posgrado de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, en especial a la M. Sc. Diana Morales por sus consejos, apoyo y conocimiento.

Por ultimo agradezco a todos mis amigos y familiares que estuvieron conmigo en la realización de este sueño.

“Las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir desborda el alma”

Julio Cortázar.

RESUMEN

La industria de lácteos genera gran cantidad de vertimientos como el lactosuero que causan impactos ambientales negativos sobre el recurso hídrico. La digestión anaerobia es una alternativa viable para el tratamiento de los efluentes lácteos. Teniendo en cuenta que estos efluentes tienen una tendencia rápida a acidificarse, la separación de las fases acidogénica y metanogénica y la adición de una solución alcalinizante resulta ser efectiva para contrarrestar los posibles eventos de acidificación y la falla del sistema. En este trabajo de profundización se pretendió evaluar el comportamiento de un digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento de lactosuero de la microempresa “Lácteos La Delicia La Frontera” ubicada en el Municipio de Pupiales, Nariño. Se encontró que el reactor alcanzó las condiciones de estabilidad y capacidad máxima con una COV promedio de 7,22 kg/m³*d, TRH promedio de 15,6 h en el RA y de 25,2 h en RM, logrando una eficiencia máxima de reducción en términos de DQO y de SST de 67,5% y 54% respectivamente.

Contenido

RESUMEN	4
Introducción.....	12
1. Objetivos	14
1.1. Objetivo General.....	14
1.2. Objetivos específicos	14
2. Revisión de literatura.....	15
2.2. Digestión anaerobia	19
2.2.1. Factores que afectan la digestión anaerobia	24
2.2.2. Digestión Anaerobia en fases separadas	27
2.3. Experiencias en el tratamiento anaerobio del lactosuero	30
2.4. Tratamiento de lactosuero mediante digestión anaerobia de fases separadas	33
2.5. Consideraciones finales.....	34
3.1. Ubicación del Proyecto	35
3.2. Descripción del proceso productivo de la empresa “Lácteos La Delicia La Frontera”.....	35
3.5. Inóculo	41
3.6. Arranque del sistema	42
3.6.1. Aclimatación del lodo.....	43
3.6.2. Inoculación de los reactores	44
3.6.3. Fase de arranque.....	44
3.7. Análisis estadístico	46
4. Análisis y discusión de resultados.....	48
4.1. Características fisicoquímicas del lactosuero producido en la microempresa “LácteosLa Delicia La Frontera”.....	48

4.2. Condiciones operacionales del digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento de lactosuero.....	53
4.2.1. Fase de arranque.....	53
4.2.2. Arranque del reactor acidogénico	55
4.2.3. Arranque del Sistema Anaerobio de Fases Separadas (SAFS)	59
4.3. Eficiencias de reducción de materia orgánica en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos Suspendidos Totales (SST).....	67
5. Conclusiones.....	73
6. Recomendaciones	75
7. Bibliografía.....	76
APÉNDICES	86

Índice de Tablas

Tabla 1. Características del Lactosuero	17
Tabla 2. Composición del lactosuero ácido y dulce	18
Tabla 3. Experiencias en el tratamiento de lactosuero por digestión anaerobia	32
Tabla 4. COV promedio aplicadas en el arranque del RA.....	45
Tabla 5. COV utilizadas en el arranque del sistema anaerobio de fases separadas.....	46
Tabla 6. Variables fisicoquímicas determinadas en el arranque del sistema anaerobio de fases separadas.....	46
Tabla 7. Resumen estadístico de las características Fisicoquímicas de lactosuero de “Lácteos La Delicia La Frontera”	48
Tabla 8. Resumen estadístico de la relación DQO:N:P	51
Tabla 9. Aportes del lactosuero en el agua residual generada en la microempresa.....	53
Tabla 10. Análisis estadístico de COV alimentada al RA.....	55
Tabla 11. Análisis estadístico de AGVs en RA.....	56
Tabla 12. Análisis Estadístico de la COV alimentadas al RA en el arranque del SAFS ...	60
Tabla 13. Variación de COV alimentadas al RM en el arranque del SAFS	60
Tabla 14. Variación del $I\alpha$ para las etapas de arranque del reactor anaerobio de fases separadas	65
Tabla 15. Variación del Índice Buffer	66

Índice de Figuras

<i>Figura 1.</i> Fases de la digestión anaerobia	23
<i>Figura 2.</i> Esquema del sistema de fases separadas	29
<i>Figura 3.</i> Ubicación del estudio	35
<i>Figura 4.</i> Detalle de las marmitas de pasteurización. (a) Marmita de calentamiento (b) marmita de enfriamiento	36
<i>Figura 5.</i> Recipiente del proceso de hilado de cuajada con paleta de agitación	37
<i>Figura 6.</i> Diagrama de bloques del proceso de producción de quesos en “Lácteos La Delicia La Frontera”	37
<i>Figura 7.</i> Configuración del sistema utilizado en el estudio.....	38
<i>Figura 8.</i> Detalle de tanque de homogenización.....	39
<i>Figura 9.</i> Reactor Acidogénico	39
<i>Figura 10.</i> Equipo de microgoteo empleado para la adición de solución de bicarbonato de sodio.....	40
<i>Figura 11.</i> Reactor Metanogénico	40
<i>Figura 12.</i> Preparación previa de agua residual	41
<i>Figura 13.</i> Fotografía del lodo aclimatado.....	43
<i>Figura 14.</i> Esquema de una gráfica de cajas y bigotes.....	47
<i>Figura 15.</i> Distribución normal de la DQO	48
<i>Figura 16.</i> Distribución normal de NAT y Fósforo Total	50
<i>Figura 17.</i> Distribución normal de pH.....	51
<i>Figura 18.</i> Distribución normal de Alcalinidad Total y Bicarbonática	52
<i>Figura 19.</i> Invernadero para el montaje del reactor anaerobio de fases separadas	54
<i>Figura 20.</i> Distribución normal de la temperatura ambiente	55
<i>Figura 21.</i> Comportamiento de AGV durante el arranque del RA	56
<i>Figura 22.</i> Comportamiento de DQO y AGVs en el RA.....	58
<i>Figura 23.</i> Comportamiento del pH en el Reactor Acidogénico	59
<i>Figura 24.</i> COV alimentadas al RA y al RM en el arranque del SAFS	60

<i>Figura 25. Comportamiento de AGVS en el arranque del SAFS</i>	<i>61</i>
<i>Figura 26. Comportamiento del $I\alpha$ en el arranque del SAFS</i>	<i>63</i>
<i>Figura 27. Comportamientos del Índice de buffer en el SAFS.....</i>	<i>63</i>
<i>Figura 28. Variación de pH en el arranque del SAFS</i>	<i>67</i>
<i>Figura 29. Comportamiento de DQO en el arranque del SAFS</i>	<i>68</i>
<i>Figura 30. Eficiencia de reducción de DQO en el arranque del SAFS</i>	<i>69</i>
<i>Figura 31. Comportamiento de los SST en el arranque del SAFS.....</i>	<i>71</i>
<i>Figura 32. Eficiencia de reducción de SST en el arranque del SAFS</i>	<i>72</i>

Índice de Apéndices

Apéndice 1. Datos Características Fisicoquímicas de lactosuero microempresa" Lácteos La Delicia La Frontera".....	86
Apéndice 2. Datos de COV, Temperatura y pH medidos durante el Arranque del Reactor Acidogénico.....	87
Apéndice 3. Datos de Índice Buffer e Índice Alfa ($I\alpha$) medidos durante el arranque del SAFS	89
Apéndice 4. Datos de pH medidos durante el arranque del SAFS	94
Apéndice 5 . AGVs medidos durante el arranque del SAFS.....	97
Apéndice 6. Datos de COV, DQO y Eficiencia de Reducción medidos durante el arranque del SAFS	98
Apéndice 7. Datos de Sólidos Suspendidos Totales medidos durante el arranque del SAFS	99

Índice de Abreviaturas

AGVs: Ácidos Grasos Volátiles

BSR: Bacterias Sulfato Reductoras

COV: Carga Orgánica Volumétrica

DQO: Demanda Química de Oxígeno

DBO₅: Demanda Biológica de Oxígeno

FAFA: Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente

FAFD: Filtro Anaerobio de Flujo Descendente

HAc: Ácido Acético

LAR: Lactosuero más Agua Residual

NTK: Nitrógeno Total Kjeldahl

NAT: Nitrógeno Amoniacal Total

RCM: Reactor Completamente Mezclado

RA: Reactor Acidogénico

RM: Reactor Metanogénico

SST: Sólidos Suspendidos Totales

SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles

TRH: Tiempo de Retención Hidráulico

UASB: Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente

Introducción

La industria alimentaria de lácteos comprende actividades desde la producción de leche en las fincas hasta la comercialización de diferentes derivados lácteos como quesos, yogurt, cremas y mantequilla. Su producción varía según los hábitos alimentarios, las tecnologías disponibles para la elaboración y las situaciones culturales y sociales (Seba, 2013; FAO, 2013). Colombia es el cuarto productor de leche en América Latina, llegando a producir 6.500 millones de litros anuales. En el departamento de Nariño, la producción de leche se caracteriza por ser de tipo minifundista y tener bajos niveles de tecnificación que afectan la calidad de la leche y dificultan la transferencia y adopción de tecnología lo que disminuye la competitividad de este sector económico (Argoti et al., 2014).

Debido a la diversidad en los procesos de producción, la industria láctea es una de las industrias que más vertimientos genera a nivel mundial. Dichos vertimientos presentan diferentes características dependiendo del producto obtenido, del manejo de la planta productora, el clima y las condiciones de limpieza y operación de las instalaciones (Prazeres et al., 2012). En general, los vertimientos se caracterizan por tener bajo contenido de sólidos suspendidos, presentan color y olor fuerte a ácido butírico, alta cantidad de materia orgánica en términos de DQO y alto contenido de grasas y aceites (Calpa y López, 2008; Karadag et al., 2015).

El lactosuero es un líquido claro de color amarillo verdoso, que contiene la mayoría de los componentes solubles y agua presentes en la leche. Este subproducto representa entre el 85 y el 95% del volumen de la leche y retiene cerca del 55% de sus nutrientes (Chatzipaschali y Stamatis, 2012). El uso principal del lactosuero es en la alimentación de cerdos. Sin embargo, esta demanda es insuficiente para abarcar la alta producción, generándose un exceso de este residuo, el cual por la variación de su composición dificulta su disposición. En el mundo, aproximadamente el 47% del lactosuero es descargado sin ningún tratamiento (Kavacik y Topaloglu, 2010) afectando negativamente al ambiente (Prazeres et al., 2012).

La empresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”, es una microempresa productora de quesos tipo campesino y doble crema. Esta empresa empezó su producción en el año 2008 y en la actualidad está procesando 2.000 L/d., de los cuales se producen 300 kg de queso y la cantidad restante es lactosuero. Este subproducto es considerado un residuo y la disposición usual es entregar una parte a criaderos de cerdos y el restante descargarlo en el sistema de alcantarillado municipal sin ningún tratamiento. La falta de capacitación de los microempresarios y la escasa relación con la academia, hace que se desconozca el potencial productivo y energético del lactosuero, generando su desaprovechamiento, pérdidas económicas por la subutilización del subproducto y generando un problema ambiental.

Lo anterior sugiere buscar alternativas de aprovechamiento productivo para este subproducto y permitir su adecuada disposición, de manera que los impactos generados al ambiente sean minimizados. Dentro de las alternativas de tratamiento, se encuentra la digestión anaerobia, la cual permite obtener metano como subproducto el cual puede ser aprovechado como combustible (Demirer et al., 2000). Aunque el lactosuero presenta limitaciones para ser tratado por la vía anaerobia debido a su baja alcalinidad y la tendencia rápida a acidificarse, la separación de las fases de la digestión anaerobia, donde se consigue tener las condiciones ambientales para el crecimiento óptimo de los microorganismos acidogénicos y metanogénicos, podría ser una alternativa de solución para el tratamiento del lactosuero (Venetsaneas et al., 2009).

Por lo anterior y en la búsqueda de dar solución a una problemática ambiental, haciendo uso de herramientas simples y eficaces acordes con la realidad regional, en esta investigación se pretende evaluar la digestión anaerobia de fases separadas, como alternativa de tratamiento del lactosuero producido en la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”.

1. Objetivos

1.1. Objetivo General

Evaluar un digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento del lactosuero de la microempresa “Lácteos La Delicia La Frontera”

1.2. Objetivos específicos

- Establecer las características fisicoquímicas del lactosuero producido en la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”
- Determinar las condiciones operacionales del digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento de lactosuero
- Determinar las eficiencias de reducción de materia orgánica en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos Suspendidos Totales (SST)

2. Revisión de literatura

2.1. La industria láctea

La industria láctea en América Latina tiene un gran potencial de crecimiento y una demanda mundial, es un sector que tiene como materia prima la leche, la cual se somete a diversos procesos para obtener derivados como queso, yogurt, crema y mantequillas (Seba, 2013). La diversidad de productos lácteos varía considerablemente de región a región, según los hábitos alimentarios, las tecnologías de elaboración, la demanda de mercado y las circunstancias sociales y culturales (FAO, 2013). Según datos reportados por la FAO (2015), la producción total de leche a nivel mundial correspondiente al año 2015 fue de 805 millones de toneladas, lo que representó un crecimiento del 2,31% con respecto al año precedente.

Colombia es el cuarto productor de leche en América Latina con un volumen aproximado de 6.500 millones de litros anuales, superado solo por Brasil, México y Argentina. La leche producida en el país tiene porcentajes de proteína y grasa superiores a los de importantes productores mundiales como Nueva Zelanda, Alemania, Suiza, Canadá y Estados Unidos (PROEXPORT, 2011). En el departamento de Nariño, la cadena productiva láctea es una actividad muy dinámica y comprende regiones altamente productoras de leche como son los municipios de Pasto, Guachucal, Cumbal, Tuquerres e Ipiales (Argoti et al., 2014). La producción de leche en esta región se caracteriza por ser de tipo minifundista con un promedio de 3,9 litros por vaca al día, lo cual está por debajo del promedio nacional (Mejía, 2012). Además, existen factores que debilitan la tecnificación de la cadena láctea del departamento, que se relacionan con las competencias laborales, manejo técnico, red de frío, realización de prácticas artesanales como el ordeño manual, poco desarrollo en los sistemas de recolección y acopio de leche, problemas de almacenamiento que afectan la calidad y dificultades para la transferencia y adopción de tecnología que disminuyen la capacidad competitiva de este sector económico (Argoti et al., 2014).

Debido a la diversidad en los procesos de producción, la industria láctea es una de las industrias que más vertimientos genera a nivel mundial. En Europa una industria típica

genera aproximadamente 500 m³ diarios de efluentes residuales (Demirel et al., 2005). Los efluentes lácteos tienen diferentes características dependiendo del producto obtenido (queso, yogurt, leche, helados), del manejo, clima, condiciones de operación y el tipo de limpieza de las instalaciones (Prazeres et al., 2012). Además, estos vertimientos se caracterizan por su bajo contenido de sólidos suspendidos, excepto las partículas de cuajo que pueden encontrarse en el agua residual de la producción de queso. Los vertimientos presentan color, olor fuerte a ácido butírico originado por la descomposición de la caseína, con alta cantidad de materia orgánica en términos de DQO que varía entre 10.000 y 95.000 mg/L (Dareioti y Kornaros, 2015; Prazeres et al., 2012), alto contenido de grasas y aceites que oscilan entre 14.000 a 24.500 mg/L (Calpa y Lopez, 2008; Karadag et al., 2015).

El lactosuero es un líquido que se obtiene en el proceso de fabricación de quesos al separar la cuajada (caseína) y la grasa. Este líquido es el principal componente de los vertimientos de la industria láctea (Bretón, 2014). Es un líquido rico en proteínas, lactosa y sales minerales; la presencia de estos componentes hace que el lactosuero tenga un alto contenido de materia orgánica, por encima de 70.000 mg DQO/L (Demirer et al., 2000; Prazeres et al., 2012) generando serios problemas en los tratamientos convencionales de agua residual municipal y problemas ambientales en las fuentes hídricas (Demirel et al., 2005).

2.1.1. Caracterización del lactosuero

El lactosuero es un líquido claro de color amarillo verdoso, debido al pigmento de la lactoflavina o vitamina B2 y contiene todos los componentes solubles de la leche, excepto la caseína y un poco menos de grasa. Este subproducto se obtiene después del proceso de coagulación de la caseína a través de la acción de un ácido mineral u orgánico (coagulante). Tiene una densidad de 1,023 g/cm³ y representa alrededor del 90% del peso de la leche utilizada en la elaboración del queso (Seba, 2013).

La composición del lactosuero varía dependiendo de las características de la leche y del proceso productivo empleado para la elaboración de quesos. De manera general, el lactosuero contiene 4,9 % de lactosa, 0,9% de proteína cruda, 0,6% de ceniza, 0,3% de

grasa, 0,2% de ácido láctico y 93,1% de agua (Seba, 2013). Las características fisicoquímicas del lactosuero reportadas por diversos autores se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Características del Lactosuero

DQO (mg/L)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)	pH	NTK (mg/L)	Fósforo Total (mg/L)	Referencia
93.210	-	-	6,1	810	228	(Dareioti y Kornaros, 2015)
57.500	-	-	6,1	1.120	203	(Rico et al., 2015)
68.600	4.350	-	4,9	1.120	500	(Traversi et al., 2013)
50.000- 80.000	63.000- 70.000	-	<5	-	-	(Chatzipaschali y Stamatis, 2012)
60.500	8.690	8.090	6,23	370	289	(Venetsaneas et al., 2009)
76.000	8.600	-	7,2	1.300	215	(Arango y Sanchez, 2009)
72.100	9.000	8.000	6,3	900	300	(Dareioti et al., 2009)
60.000	-	1500	4,4	-	-	(Gannoun et al., 2008)
68.814	-	-	-	1.462	379	(Demirel et al., 2005)
61.000	1.780	1.569	-	980	510	(Demirel et al., 2005)
61.250	5.077	4.900	4,6	2.500	533	(Omil et al., 2003)
66.000	-	2.000	4-6	650	650	(Omil et al., 2003)
55.250	9.380	8.280	3,92	-	-	(Demirer et al., 2000)

SST: Sólidos Suspendidos Totales, SSV: Sólidos Suspendidos Volátiles, NTK: Nitrógeno Total Kjeldahl

Existen diferentes tipos de lactosuero, dependiendo principalmente del procedimiento utilizado para separar la cuajada: 1) el lactosuero dulce con pH de 5,8 a 6,6 unidades, que se obtiene de la coagulación por una enzima llamada renina, la cual separa la caseína de la fase líquida de la leche a pH 6,5 unidades; y 2) el lactosuero ácido con pH menor a 5 unidades, que resulta del proceso de fermentación o adición de ácidos orgánicos o ácidos minerales, para coagular la caseína como en la elaboración de quesos frescos. La diferencia entre los dos lactosueros es el contenido mineral, la acidez y la composición de la fracción de proteína (Parra, 2010; Seba, 2013; Yadav et al., 2015). En la Tabla 2 se presentan las características fisicoquímicas de los dos tipos de lactosuero.

Tabla 2. Composición del lactosuero ácido y dulce

Componente	Suero Dulce (mg/L)	Suero Ácido (mg/L)
Sólidos Totales	63,0-70,0	63,0-70,0
Lactosa	46,0-52,0	44,0-46,0
Proteínas	6,0-10,0	6,0-8,0
Grasas	5,0	0,4

Fuente: Chatzipaschali y Stamatis (2012); Yadav et al. (2015)

A nivel mundial, el volumen de lactosuero se ha incrementado debido al aumento en la producción en la industria de quesos. Para producir 1 kg de queso se necesitan 10 kg de leche, originando 9 kg de lactosuero. La producción a nivel mundial de lactosuero se estima entre 180 a 190 millones de toneladas al año. Los mayores productores de lactosuero son la Unión Europea y Estados Unidos, que producen alrededor del 70% de la producción mundial (Yadav et al., 2015).

En Colombia, el 37% de la producción de leche es procesada en derivados lácteos como diferentes tipos de quesos (Torres, 2010). Por tanto, la producción de lactosuero es de alrededor de 1,92 a 2,17 millones de toneladas anuales. La industria láctea colombiana es representada en un 88% por la microempresa, que se caracteriza por aplicar procesos artesanales de producción, en contraste con la gran empresa que está constituida por muy pocas industrias de talla mundial con alta tecnología (Torres, 2010). Las microempresas al no contar con la suficiente tecnología para sus procesos de producción, tampoco poseen la tecnología para tratar los residuos como el lactosuero y por esto, los vierten directamente en los alcantarillados municipales y las fuentes de agua, causando impactos ambientales severos en este recurso (Bezerra et al., 2007).

2.1.2. Manejo del lactosuero

Existen diferentes formas de tratar el lactosuero y pueden ser clasificadas en tres grandes grupos (Mawson, 1994): 1) Uso directo, donde el lactosuero se usa en muy pocas cantidades, la aplicación más común es la de alimento para animales y en la fabricación de bebidas; 2) Estabilización directa, que incluye procesos químicos y físicos para acondicionar el lactosuero y hacer más estable la degradación biológica, entre las tecnologías se incluyen la recuperación de proteínas por ultrafiltración o desnaturalización con calor, concentración por ósmosis inversa y la evaporización y cristalización de la lactosa, y 3) Procesos de conversión del lactosuero, en donde este se transforma mediante microorganismos o por reacciones químicas a otros productos, como diferentes tipos de alcoholes (principalmente etanol), acetona, ácidos orgánicos aminoácidos y vitaminas (Chatzipaschali y Stamatis, 2012).

Una alternativa que se puede considerar dentro del grupo de los procesos de conversión, involucran las técnicas de valorización mediante procesos biológicos, entre las que se destaca la digestión anaerobia, cuyos costos son relativamente bajos y la generación de metano, que puede ser usado como recurso energético, se convierte en una alternativa atractiva para las pequeñas y medianas empresas (Prazeres et al., 2010; Carvalho et al., 2013).

2.2. Digestión anaerobia

La digestión anaerobia es un proceso de fermentación microbiana en ausencia de oxígeno, que produce una mezcla de gases (principalmente metano y dióxido de carbono) conocida como biogás y una suspensión acuosa o “lodos” que contiene los microorganismos responsables de la degradación de la materia orgánica (Acosta y Obaya, 2005). Este proceso utiliza un consorcio de microorganismos simbióticos e interdependientes, que son capaces de degradar y estabilizar diferentes tipos de materiales orgánicos (Metcalf y Eddy, 1991; Parra, 2010).

En la digestión anaerobia, el 90% de la energía contenida en la materia orgánica es convertida en biogás, formado principalmente por metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2); el 10% restante es asimilado por las células. Este proceso se lleva a cabo en ambientes naturales como pantanos, sedimentos de lagos y mares, en aguas termales y el tracto digestivo de los rumiantes (Maharaj, 1999; Díaz-Báez, 2002).

La tecnología de digestión anaerobia tiene las siguientes ventajas, desde el punto de vista operacional y de mantenimiento (Chernicharo, 2007):

- Existe una baja producción de lodos, de 3 a 5 veces menor que los procesos aerobios
- Bajo consumo de energía, lo que implica bajo costo operacional
- Bajos costos de construcción y bajos requerimientos de área
- Producción de metano, que es un combustible con alto poder calorífico
- Tolerancia a altas cargas orgánicas
- Se puede aplicar a pequeña y gran escala
- Bajo consumo de nutrientes

Existen algunas limitaciones que se pueden presentar al momento de implementar la tecnología de digestión anaerobia (Malina y Pohland, 1992; Chernicharo, 2007):

- Los microorganismos anaerobios son muy susceptibles a un gran número de compuestos
- El proceso de arranque puede ser lento y dispendioso
- Se necesita de pos-tratamiento para dar cumplimiento a las reglamentaciones de vertimientos
- Posible generación de malos olores
- Sensibilidad a cambios bruscos de temperatura y pH

La digestión anaerobia ocurre en cuatro etapas, con la participación de diversos grupos de microorganismos anaerobios facultativos y anaerobios estrictos, los cuales utilizan en forma secuencial los productos metabólicos generados por cada grupo (Díaz-Baez, 2002). En el proceso intervienen cinco grupos de microorganismos (Lettinga et al., 1996; Chernicharo, 2007) como se describe a continuación:

- 1) El proceso comienza con la hidrólisis de polisacáridos, proteínas y lípidos por la acción de enzimas extracelulares producidas por bacterias hidrolíticas. Estas enzimas transforman los reactivos en productos de bajo peso molecular, como azúcares, aminoácidos y ácidos grasos, los cuales son transportados a través de la membrana celular. La hidrólisis de polímeros ocurre lentamente en condiciones anaerobias y puede ser afectada por factores como: la temperatura del reactor, el tiempo de residencia del sustrato en el reactor, el tamaño de partícula, pH, etc (Wang, 1994).
- 2) Los compuestos de bajo peso molecular a través de las bacterias acidogénicas son fermentados a ácidos orgánicos de bajo número de carbonos (ácido acético, fórmico, propiónico y butírico), etanol, hidrógeno, dióxido de carbono y células. El hidrógeno producido es un elemento regulador del proceso; dependiendo de la concentración de hidrógeno y si su presión parcial es menor que 10^{-4} , el producto final será ácido acético, de lo contrario se obtienen los otros ácidos grasos (Caicedo 2006). Algunas bacterias fermentativas e hidrolíticas representativas son las que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Peptostreptococcus*, *Micrococcus*, *Propionbacterium* y bacterias del ácido láctico (Metcalf y Eddy, 1991; Díaz-Baez, 2002).
- 3) Los ácidos orgánicos son transformados por las bacterias acetogénicas en acetato, dióxido de carbono e hidrógeno, que son componentes necesarios para las arqueas metanogénicas. El hidrógeno puede ser consumido por las arqueas metanogénicas de manera que debe existir un equilibrio entre los microorganismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno y metanogénicos hidrogenófilos (Chernicharo, 2007). Dentro del grupo de los microorganismos acetogénicos se encuentran las bacterias homoacetogénicas, las cuales son anaerobias obligadas y utilizan el CO_2 para producir acetato. Los electrones para la reducción del CO_2 provienen del H_2 y de una variedad de compuestos como azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes, aminoácidos y ciertas bases nitrogenadas. Entre los microorganismos acetogénicos se encuentran

bacterias de los grupos *Syntrophobacter wolini*, *Syntrhopomonas wolfei* y *Syntrophusbus welli* (Díaz-Baez, 2002).

- 4) En la fase final del proceso de degradación anaerobia, el acetato es convertido a metano y CO₂, o se reduce el CO₂ a metano mediante microorganismos metanogénicos que pertenecen al grupo *Archaea*, los cuales presentan características diferentes a los del grupo *Bacteria*, principalmente en la composición química de algunas estructuras celulares. Las arqueas metanogénicas se dividen en dos grupos principales: los que forman metano a partir de ácido acético o metanol y los que producen metano a partir de hidrógeno y dióxido de carbono. A los microorganismos que usan acetato se les denomina metanogénicos acetoclásticos y a los que usan el hidrógeno se les llama metanogénicos hidrogenofílicos. Los microorganismos del género *Metanosarcina* y *Metanosaeta* son representativos de los microorganismos metanogénicos (Díaz-Baez, 2002; Demirel y Yenigun, 2002). Los microorganismos metanogénicos acetoclásticos son responsables del 60% a 70% de la producción de metano y el restante se produce por medio de los metanogénicos hidrogenofílicos. Los dos tipos de microorganismos son importantes para mantener el buen desarrollo del proceso anaerobio, ya que ellos son responsables de la función esencial de consumir el hidrógeno producido en fases previas, manteniendo la presión parcial de hidrógeno baja (Chernicharo, 2007).

Adicionalmente, en la digestión anaerobia intervienen las bacterias sulfato reductoras (BSR) que son microorganismos anaerobios estrictos, encargados de la degradación de la materia orgánica. Una característica de los medios donde las BSR desarrollan una alta actividad metabólica, es la presencia de olores desagradables producidos por el H₂S. Estas bacterias compiten con las arqueas metanogénicas por sustratos comunes como formiato e hidrógeno; compiten con las bacterias acetogénicas por componentes como propionato y butirato. Esto no significa que la metanogénesis y la sulfato reducción sean excluyentes, pues pueden ocurrir simultáneamente cuando el metano se genera a partir del metanol y aminas metiladas, sustratos por los cuales las BSR tienen poca afinidad (Díaz-Baez, 2002). Entre los géneros representativos de este grupo de bacterias se encuentran: *Desulfobulbus*,

Desulfomonas, *Desulfovibrio* y *Desulfobacter* (Díaz-Baez, 2002). En la Figura 1 se presenta un esquema de las fases representativas de la digestión anaerobia.

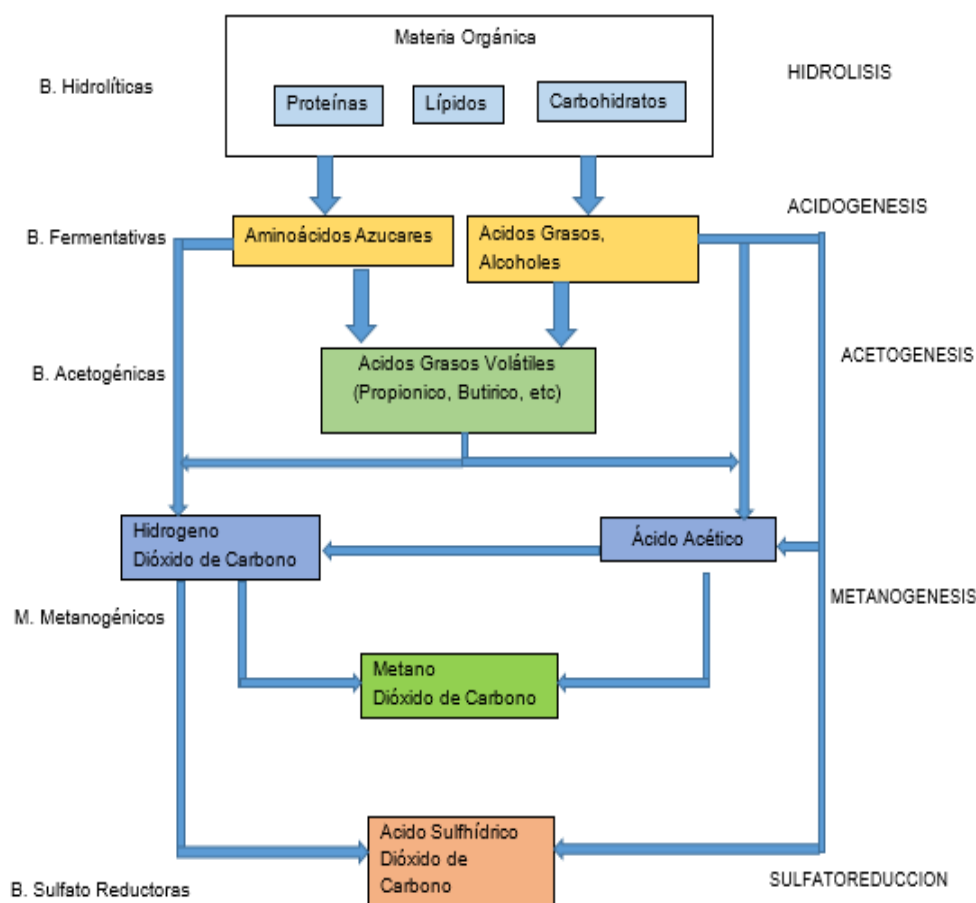


Figura 1. Fases de la digestión anaerobia

Fuente (Maharaj, 1999; Besel, 2007)

Las poblaciones de microorganismos anaerobios se caracterizan por tener diferentes velocidades de crecimiento y distinta sensibilidad a cada compuesto intermedio como inhibidor. Esto implica que cada etapa presenta diferentes velocidades de reacción según la composición del sustrato. Además, se requiere un equilibrio en las concentraciones de productos intermedios de cada etapa, como los ácidos grasos volátiles (AGVs), ya que si éstos se acumulan podrían causar una disminución drástica del pH y una desestabilización del proceso (Flotats, 2010).

Se debe considerar que la velocidad global del proceso está limitada por la velocidad de la etapa más lenta; para sustratos solubles, la fase limitante suele ser la metanogénesis y la

estrategia que permite aumentar la velocidad consiste en adoptar diseños que permitan una elevada concentración de microorganismos acetogénicos y metanogénicos en el reactor, con tiempos de proceso del orden de horas o días. Para residuos en los que la materia orgánica se encuentra en forma de partículas, la fase limitante es la hidrólisis, proceso enzimático cuya velocidad depende de la superficie de las partículas. Usualmente, esta limitación hace que los tiempos de proceso sean del orden de semanas (Flotats, 2010).

2.2.1. Factores que afectan la digestión anaerobia

La digestión anaerobia es susceptible a factores ambientales y operacionales por lo que se requiere un estricto control de dichos parámetros. El éxito en el proceso depende del equilibrio del sistema ecológico. El estudio de estos parámetros se enfoca principalmente, en los microorganismos metanogénicos, que son altamente vulnerables a cambios en las condiciones ambientales (Chernicharo, 2007, Flotats, 2010).

Los parámetros ambientales se refieren a condiciones que deben mantenerse o asegurarse para el desarrollo del proceso, a continuación se describen los más relevantes:

Nutrientes: Para un buen crecimiento de los microorganismos se debe tener los nutrientes necesarios, los cuales si no están presentes en el sustrato, deben compensarse agregando pequeñas cargas de nutrientes al sistema. Pueden dividirse en dos grupos: los macronutrientes (nitrógeno, fósforo y azufre), que se requieren en mayor proporción y los micronutrientes (Chernicharo, 2007). El nitrógeno en forma de amonio y el nitrógeno orgánico, son las principales formas usadas por los microorganismos. Los requerimientos de nutrientes de acuerdo con el contenido de DQO presente en el agua residual son (Lettinga et al., 1996): para biomasa con bajo coeficiente de crecimiento microbiano ($Y=0,05$ gSSV/gDQO) la relación es $DQO:N:P = 1.000:5:1$ y para biomasa con alto coeficiente de crecimiento ($Y=0,15$ gSSV/gDQO) la relación es $DQO:N:P = 350:5:1$ (vanHaandel y Lettinga, 1994 ; Chernicharo, 2007).

Los microorganismos necesitan además de elementos como el Fósforo específicamente como ortofosfato inorgánico, el cual es incorporado a las células por medio de enzimas

llamadas fosfatasas. Además usan el sulfuro como requerimiento de azufre, el cual es necesario para la síntesis de proteínas y se requiere en iguales cantidades que el Fósforo (Chernicharo, 2007).

Los requerimientos de micronutrientes son difíciles de determinar. Elementos como hierro, cobalto, níquel y molibdeno son requeridos para el crecimiento y constitución de las células microbianas metanogénicas (Chernicharo, 2007).

Temperatura: La temperatura es uno de los factores más importantes en la digestión anaerobia. Los microorganismos no son capaces de controlar su temperatura interna y por tanto, su temperatura será determinada por las condiciones del medio. Se pueden definir 3 rangos para crecimiento de microorganismos metanogénicos: psicrófilico (4°C a 15 °C), mesófilico (20°C a 40 °C) y termófilico (45 °C a 70 °C) (Chernicharo, 2007). La estructura de los microorganismos y su actividad microbiana son diferentes para cada rango de temperatura. Un cambio de temperatura entre el rango mesófilico y termófilico se ve representado por una disminución en la producción de biogás, incluso con cambios pequeños de temperatura (Chae et al., 2008).

Debido a que los microorganismos son sensibles a cambios bruscos de temperatura, se debe mantener una temperatura uniforme en el reactor. De esta forma se evita un desbalance entre las poblaciones de microorganismos metanogénicos, que puede conllevar a una falla en el proceso (Chernicharo, 2007).

pH: El pH puede afectar de dos formas al tratamiento anaerobio: 1) de manera directa, en la actividad enzimática de las bacterias y 2) de manera indirecta por medio de la toxicidad de algunos componentes (Chernicharo, 2007).

El pH óptimo para el crecimiento de microorganismos metanogénicos se encuentra entre 6,6 a 7,4 unidades, mientras que para microorganismos hidrolíticos y acidogénicos ha sido reportado entre 5,5 y 6,5 und. (Fang y Yu, 2000; Kim et al., 2003), razón por la cual algunos diseñadores prefieren la separación de fases (Ward et al., 2008).

Alcalinidad bicarbonática y capacidad tampón: La capacidad tampón se refiere con frecuencia a la alcalinidad bicarbonática del sistema anaerobio. Esta se representa por el equilibrio del dióxido de carbono y los iones bicarbonato, que proporcionan resistencia a

cambios significativos y rápidos en el pH. Esta capacidad es proporcional a la concentración de bicarbonato (Ward et al., 2008).

La relación entre la alcalinidad y los ácidos grasos volátiles se refleja en la capacidad que tiene el sistema para neutralizar los ácidos y de mantener el pH, en caso de una acumulación (Chernicharo, 2007).

En los reactores anaerobios, el monitoreo de la alcalinidad bicarbonática, es más importante que el seguimiento del pH. Esto se explica porque el pH esta dado en escala logarítmica, es decir, que un cambio pequeño de pH, implica el consumo de una gran cantidad de alcalinidad, reduciendo así la capacidad de tampón del medio (Chernicharo, 2007; Flotats, 2010).

Desde el punto de vista operacional, se debe mantener una alta alcalinidad bicarbonática en el sistema, para lograr tener una buena capacidad buffer que tampona el pH frente a una acumulación excesiva de AGVs. La adición de sustancias que suplementen la alcalinidad bicarbonática, como el hidróxido de sodio, el bicarbonato de sodio y la cal, se debe evaluar en términos de aplicabilidad y economía. El nivel mínimo aceptable de alcalinidad bicarbonática depende de la concentración del agua residual y el potencial que esta tiene para acidificarse (Chernicharo, 2007).

Sustancias Tóxicas: en la literatura se reportan variaciones considerables sobre los niveles de inhibición y toxicidad de muchas sustancias. Estas variaciones se presentan debido a la complejidad del proceso, donde mecanismos como la aclimatación y la sinergia de los microorganismos, puede afectar el fenómeno de la inhibición (Chen et al., 2008).

Se han propuesto varios mecanismos de inhibición del amoníaco en los microorganismos metanogénicos, como cambios en el pH interno de las células y reacciones con algunas enzimas (Whittmann et al., 1995). El ion de amonio (NH_4^+) y el amoníaco libre (NH_3) son las principales formas inhibidoras si se presentan en altas concentraciones. Se reportan estudios en donde se muestra que concentraciones de amonio libre por encima de 150 mg/L son tóxicos para las microorganismos metanogénicos, mientras que el máximo límite de concentración para el ion amonio es de aproximadamente 3.000 mg/L (Chernicharo, 2007).

La toxicidad del sulfuro es un problema potencial en la digestión anaerobia, principalmente por la reducción de sulfatos y compuestos que contienen azufre, y también por la degradación de materiales ricos en proteínas. La sulfato-reducción conlleva a la formación de sulfuro de hidrógeno (H_2S) que causa problema de malos olores en el proceso (Chernicharo, 2007). Se debe tener en cuenta la concentración de H_2S en el diseño de los reactores anaerobios. De acuerdo con la literatura los reactores de alta tasa (como el UASB o los filtros anaerobios) pueden soportar altas concentraciones de sulfuro (aprox. 170 mg/L) (Speece, 1986). El sulfuro en forma de H_2S llega a ser muy tóxico con concentraciones por encima de 200 mg/L.

Algunos elementos como el cromo, níquel, zinc, cobre, arsénico y compuestos como los cromatos y los cianuros, son considerados altamente tóxicos. En particular los metales pesados tienen la característica de no ser biodegradables y de acumularse hasta concentraciones tóxicas (Sterritt y Lester, 1980). El efecto tóxico de los metales pesados se atribuye a la interrupción de algunas enzimas (Chen et al., 2008).

2.2.2. Digestión Anaerobia en fases separadas

El proceso de fases separadas pretende la separación física de las etapas acidogénica y metanogénica de la digestión anaerobia. Los primeros en proponer la separación de fases fueron Pohland y Ghosh (1971), mediante la implementación de dos reactores. En el reactor acidogénico se desarrolla la hidrólisis y la acidificación, ya que se tienen las condiciones propicias para esta fase como bajos pH y tiempos de retención hidráulicos cortos (Aslanzadeh et al., 2014). Este reactor se caracteriza por tener menor tamaño y una alta concentración de hidrógeno y ácidos propiónico y butírico. El lodo presente en el reactor acidogénico es de tipo floculento. Existe la necesidad de evacuar el exceso de lodo con una frecuencia relativamente alta, debido a su acumulación y al hecho de que solo una fracción de materia orgánica presente es atrapada por los flocs y posteriormente hidrolizada (Arroyave, 1996).

El efluente del reactor acidogénico se lleva al reactor metanogénico, donde se llevan a cabo procesos de acetogénesis-metanogénesis. Este reactor recibe un afluente de características

relativamente más estables, de manera que puede ser manipulado para dosificarlo en condiciones más adecuadas para la metanogénesis (Arroyave, 1996).

Entre las ventajas que ofrece la separación de fases están (Arroyave, 1996; Ince, 1998a; Selvam et al., 2010):

- Existe mayor estabilidad del proceso, debido a que cada grupo de microorganismos tienen condiciones ambientales y operacionales adecuadas para su crecimiento
- Es posible manejar los choques de carga, gracias a la resistencia de los organismos acidogénicos
- Existe una tolerancia mayor a cargas moderadas de tóxicos que pueden ser degradados por bacterias acidogénicas
- Se tienen mayores eficiencias de reducción de DQO y mayor producción de biogás, principalmente en el tratamiento de desechos fácilmente hidrolizables
- Remoción de compuestos indeseables como el Fósforo y los nitratos acidogénicos

Las limitaciones que presenta la digestión en fases separadas son las siguientes (Arroyave, 1996; Ince, 1998a):

- Mayores costos de inversión y operacionales (adicción de reactivos químicos y construcción de otra unidad de reacción)
- Alta acumulación de sólidos en el reactor acidogénico
- Efectos negativos en el reactor metanogénico producidos por la presencia de sólidos suspendidos en el efluente del reactor acidogénico

La digestión anaerobia en fases separadas ha sido investigada y aplicada a varios tipos de agua residual industrial, obteniendo resultados satisfactorios en términos de reducción de carga orgánica. Ng et al. (1999) aplicaron la digestión anaerobia en dos fases al agua residual de extracción de aceite de palma con DQO de 63.000 mg/L. En el estudio, se obtuvo una eficiencia de reducción de DQO del 90% aplicando Carga Orgánica Volumétrica (COV) de 11 kg DQO/m³*d y un Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) de 21 h en reactores completamente mezclados (RCM).

Dinsdale et al. (1997) estudiaron el tratamiento del agua residual de la producción de café instantáneo. Estos autores encontraron que en el Reactor Acidogénico (RA) en condiciones termofílicas, se obtuvo una acidificación de 37% y en el Reactor metanogénico (RM), que es del tipo UASB, se obtuvo una reducción de 77% de la DQO, con COV superiores a 16 kg DQO kg DQO/m³*d y un TRH en el RM de 12 h. En el estudio realizado por Wu et al. (2016) se evaluó la producción de metano del agua residual de la industria de alimentos, en un sistema de digestión anaerobia de fases separadas. Los autores utilizaron un RCM como RA y un UASB como RM obteniendo una producción de 348,5 mL CH₄/g SSV removidos.

En Colombia, se han realizado estudios de implementación de la digestión anaerobia en fases separadas, para el tratamiento de agua residual industrial con medianas y altas concentraciones de DQO. Son ejemplos de esta aplicación el tratamiento de agua residual de la cervecera, procesadoras avícolas, agua residual de extracción de yuca y aguas mieles del café (Arroyave, 1996). Este último cuenta con un sistema de tratamiento modular desarrollado por El Centro de Investigación Nacional del Café (CENICAFE), el cual se presenta en la Figura 2.

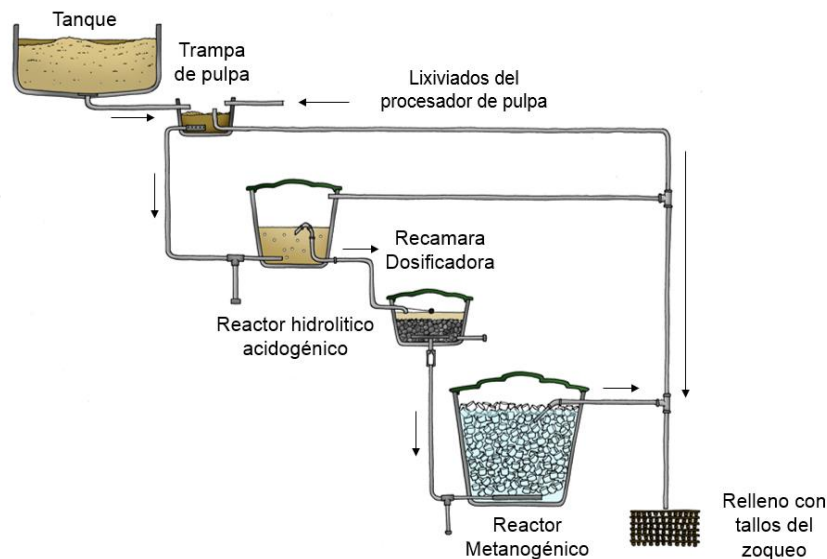


Figura 2. Esquema del sistema de fases separadas

Fuente: (Zambrano et al., 2006)

2.3. Experiencias en el tratamiento anaerobio del lactosuero

La digestión anaerobia es un proceso favorable para tratar los efluentes de la industria láctea y específicamente, el lactosuero (Demirer et al., 2000; Karadag et al., 2015). Para este sustrato el proceso presenta una alta eficiencia de reducción de carga orgánica; sin embargo, la baja alcalinidad bicarbonática del lactosuero, cerca de 50 meq/L (Prazeres et al., 2012), la rápida tendencia a la acidificación, dificultades en la granulación de lodo y la producción de polímeros viscosos que reducen la capacidad de sedimentación de los lodos, produciendo lavado de biomasa, limitan la aplicación de la digestión anaerobia (Chatzipaschali y Stamatis, 2012).

A pesar de las dificultades que se han observado en el proceso, la digestión anaerobia ha sido ampliamente estudiada, demostrando que su aplicación para tratamiento de lactosuero es posible y que además, se tiene una alta producción de biogás. Entre los reactores usados para tratar el lactosuero se tienen los reactores de biopelícula, que ofrecen ventajas como la capacidad de soportar altas COV, concentrar la biomasa en el medio de soporte y no requieren agitación mecánica (Rajinikanth et al., 2009; Karadag et al., 2015). Entre los reactores de biopelícula se destaca el filtro anaerobio, el cual es eficiente si el contenido de sólidos suspendidos es bajo (Demirel et al., 2005).

Los filtros anaerobios pueden ser operados con flujo ascendente, descendente o en forma horizontal, siendo el filtro de flujo ascendente el más ampliamente utilizado para el tratamiento de efluentes lácteos con cortos TRH y altas COV (Karadag et al., 2015). En la literatura diversos autores reportan eficiencias de reducción entre el 66 y 93%, aplicando cargas máximas de 10 kg DQO /m³*d y con TRH de 1 a 10 d (Ince et al., 1998a; Rodgers et al., 2004; Gannoun et al., 2008).

Rajinikanth et al. (2009) estudiaron el crecimiento de la biomasa en diferentes medios de soporte, concluyendo que el polietileno de baja densidad fue el que mejor adherencia de biomasa presentaba. Además, en esta investigación se logró reducir hasta el 80% de la carga orgánica del lactosuero, utilizando una COV máxima aplicada de 17 kg DQO /m³*d y un TRH de 1,6 d.

Najafpour et al. (2009) trataron lactosuero en un filtro anaerobio a una temperatura de 25°C y TRH de 0,25 d y una COV máxima de 60 kg DQO/m³*d, obteniendo una reducción del 99% de la carga orgánica contenida en el agua residual.

Patil et al. (2012) estudiaron el arranque y operación de dos filtros anaerobios en serie, para tratar lactosuero con una DQO de 10.000 mg/L, logrando eficiencias del 96%. En la investigación además se determinó que al disminuir el TRH en 1 d en los reactores, la eficiencia de reducción tuvo un descenso insignificante.

Omil et al. (2003), usaron un filtro anaerobio para tratar efluentes lácteos, alimentando cargas entre 5 y 6 kg DQO /m³d, removiendo mas del 90% de la carga orgánica inicial, sin observarse lavado de biomasa y degradando la grasa contenida en el agua residual. Además, la adición de hidróxido de sodio como alcalinizante logró mantener la capacidad tampón del sistema y estabilidad en el pH.

Viraraghavan y Kikkeri (1991) reportan que en experimentos realizados con filtros anaerobios a escala de laboratorio, se obtuvieron eficiencias de reducción de DQO entre el 78% al 92%, con TRH de 4 días. En el experimento también se demostró que no existe una variación significativa en la reducción de materia orgánica, por variaciones de temperatura entre 21°C a 30°C.

Ince (1998b) trabajó con un filtro anaerobio de flujo ascendente a escala piloto para tratar efluentes lácteos. Los resultados muestran que para un TRH de 20h y con una carga orgánica volumétrica de 6 kg DQO/m³*d, se obtienen eficiencias de reducción de DQO del 85% y de DBO₅ del 90%, con una producción de metano entre 0,32 a 0,34 m³/kg DQO reducida.

Los reactores UASB, son otro tipo de reactor utilizado exitosamente para tratar los efluentes lácteos y se han implementado a gran escala en varias industrias (Demirel et al., 2005).

Hernández (2005) estudió la factibilidad de disminuir la carga orgánica proveniente de un filtro anaerobio que trata agua residual con lactosuero, aplicando COV de 0,4, 0,6 y 4,3 g DQO/L*d, mediante el uso de un reactor UASB. Se obtuvo una eficiencia de reducción de 86% respecto a la máxima carga aplicada.

Gutiérrez et al. (1991) estudiaron el tratamiento del lactosuero de la producción de quesos en un reactor UASB a escala piloto. Con una COV de 31 kg DQO/m³*d y TRH de 1,7 h, se obtuvo una eficiencia de reducción de DQO cercana al 90% y una producción de biogás promedio de 0,32 L CH₄/g DQO reducida. Debido al riesgo de una rápida acidificación del lactosuero, el arranque del reactor siempre es un paso crítico. Los reactores UASB pueden utilizarse para el tratamiento del lactosuero con una previa acidificación (fases separadas), incluso con cargas orgánicas volumétricas altas (Chatzipaschali y Stamatis, 2012). En la investigación de Kalyuzhnyi et al. (1997) se obtuvieron eficiencias de reducción de DQO del 90%, con aplicación de COV entre 28,5 kg DQO/m³*d y 9,5 31 kg DQO/m³*d bajo condiciones mesofílicas (35°C) y psicofílicas (20-30 °C) respectivamente.

En la Tabla 3 se muestran experiencias de tratamiento de lactosuero con diferentes tipos de reactores y configuraciones, que han dado una alta eficiencia de reducción materia orgánica.

Tabla 3. Experiencias en el tratamiento de lactosuero por digestión anaerobia

Tipo de reactor	COV (kg DQO/m ³ *d)	TRH (días)	Temperatura (°C)	% Reducción DQO	Referencia
FAFA	-	4	30-21-12,5	78-92	(Viraraghavan y Kikkeri, 1991)
	1-4	1-5	35	72-90,2	(Gannoun et al., 2008)
	2,2-3,3	10-15	37	90	(Zayed y Winter, 2000)
	0-12	0,08-0,33	20-35	80	(Alves et al.,1998)
FAFD	10	7,5-11,3	-	85-91	(De Haast et al., 1985)
UASB	2,3-4,5	10-20	35	79-91	(Gavalá et al., 1999)
	28,5	5	35	95	(Kalyuzhnyi et al., 1997)
	5,96	5	33	98	(Yan et al.,1990)
	2-7,3	6	30	88-99	(Córdoba et al., 1995)
RCM+FAFA		4	-	95	(Yilmazer y Yenigun, 1999)

FAFA: Filtro Anaerobio de Flujo Ascendente, FAFD: Filtro Anaerobio de Flujo Descendente

2.4. Tratamiento de lactosuero mediante digestión anaerobia de fases separadas

Las investigaciones del tratamiento de lactosuero por digestión anaerobia en fases separadas incluyen la combinación de varios tipos de reactores. El reactor más utilizado es el UASB para las dos fases (acidogénica y metanogénica), además la combinación de un reactor completamente mezclado (RCM) con un filtro anaerobio de flujo ascendente (FAFA) para las fases acidogénica y metanogénica respectivamente. En éste sistema se alcanzaron reducciones de DQO del 95% con TRH de 4 d y a una temperatura de 35°C, además se obtuvo una producción de biogás de 0,55 m³/kg DQO removida (Yilmazer y Yenigün, 1999).

Venetsaneas et al. (2009) investigaron la producción de hidrógeno y metano a partir de lactosuero en un sistema anaerobio de fases separadas, compuesto de RCMs que con un TRH de 24h y con control de pH en 5,2 unidades, mediante solución de bicarbonato de sodio, se lograron eficiencias de reducción de DQO del 95,3%, demostrando que el lactosuero es un sustrato ideal para la producción de hidrógeno y metano.

Saddoud et al. (2007) estudiaron un sistema que consiste en un reactor completamente mezclado para la fase acidogénica, seguido de un reactor metanogénico acoplado con un sistema de filtración de membranas, para eliminar los sólidos presentes en el efluente. Las reducciones promedio de DQO, DBO₅ y SST fueron de 98,5%, 99% y 100% respectivamente, con una producción de biogás diaria 10 veces mayor que el volumen del reactor y con una pureza superior al 70%.

En la investigación realizada por Yang et al. (2003) se comparó el proceso de digestión anaerobia en una sola fase y dos fases, para agua residual de la producción de queso a escala de laboratorio, con carga orgánica volumétrica de 2,82 kg DQO/m³ d. Se reportó que la digestión anaerobia en dos fases presenta eficiencias de reducción de DQO del 97% y una producción de metano 116% más alta en comparación con los sistemas de digestión en una fase.

Según Ghaly (1996), la adición de un álcali para controlar el pH en la fase de metanogénesis, permiten un aumento en la producción de metano y una mayor reducción de la DQO. El experimento se llevó a cabo a una temperatura de 35 °C y con TRH de 20 d. El

experimento con control de pH alcanzó reducciones hasta de 36% de DQO mientras que en el experimento sin control solo alcanzó reducciones del 15,6%.

García et al. (1991) utilizaron en su investigación dos reactores UASB para el tratamiento de agua residual de la industria láctea en fases separadas. Se aplicaron cargas orgánicas volumétricas en el reactor acidogénico de 30 kg/m³d, con TRH de 0,45 d y en el reactor metanogénico de 15 kg/m³d, con TRH de 0,75d. Los autores sugieren que la recirculación del efluente del reactor metanogénico produce una dilución en el afluente, lo que permite la estabilización del sistema sin la necesidad de adición de químicos para el control del pH. Se alcanzaron eficiencias de reducción de DQO del 99%.

2.5. Consideraciones finales

De acuerdo con la revisión de literatura, los sistemas que se han utilizado con más frecuencia para el tratamiento del lactosuero, incluyen los filtros anaerobios y los reactores UASB. Debido al carácter ácido del lactosuero se presentan grandes inconvenientes en el manejo de estos sistemas. Para contrarrestar este inconveniente varios investigadores proponen la separación de fases, como alternativa para la solución de los problemas de estabilidad.

La digestión anaerobia en fases separadas ofrece ventajas como: mayor estabilidad del proceso al tener condiciones ambientales independientes para los microorganismos acidogénicos y metanogénicos, mayor tolerancia a COV altas, obteniendo a su vez mayores eficiencias de reducción de DQO y además no requiere de una alta inversión económica para su implementación. Lo anterior indica que el tratamiento del lactosuero por medio de este tipo de sistema es conveniente y está al alcance, desde el punto de vista técnico y económico, para las microempresas.

Se escogió por tanto un sistema de fases separadas que utilizó un RCM y un FAFA para tratar de manera eficiente el agua residual de la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”. Los resultados y el análisis de la evaluación del sistema anaerobio de fases separadas propuestas se presentan en este documento.

3.1. Ubicación del Proyecto

3.2. Descripción del proceso productivo de la empresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”

El proceso de producción de quesos comienza con la recepción de la leche cruda, en la plataforma de recepción. En este sitio las cantinas de transporte de leche, son descargadas en un tanque de almacenamiento abierto de 880 L de capacidad. Este tanque cuenta con un sistema de filtración, para retener los sólidos gruesos que la leche pudo adquirir durante el transporte. La leche en el tanque de recepción es bombeada a una marmita, que está compuesta por un sistema de chaqueta de calentamiento, en la cual se calienta el agua y ésta a su vez, calienta la leche hasta 74°C. La temperatura es controlada manualmente por los operarios. Cuando la leche alcanza la temperatura de 74°C, es llevada por bombeo a otra marmita de igual capacidad y con chaqueta de enfriamiento. La leche se enfría hasta una temperatura de 35°C. El anterior proceso se conoce como pasteurización. En la Figura 4 se muestran las marmitas.



(a)



(b)

Figura 4. Detalle de las marmitas de pasteurización. (a) Marmita de calentamiento (b) marmita de enfriamiento

Luego de la pasteurización, la leche es conducida a 2 tanques con capacidad de 800 L donde se aplica coagulante o el denominado cuajo (renina) en proporción de 1,2 % en volumen. Este proceso es denominado coagulación. Como producto de la coagulación se obtienen dos corrientes, la fracción de cuajada, que comprende entre el 10% y el 20% de la leche de entrada, y el lactosuero. Una fracción de cuajada es separada del lactosuero mediante uso de tamices de tela, se le adiciona sal en proporción de 1,5% en peso y se lleva a proceso de molido para producir el queso campesino.

Por otra parte, la fracción restante de cuajada se lleva a un proceso denominado hilado, que consiste en calentar la cuajada a una temperatura entre 80°C y 90°C y en agitarla, mediante paletas, hasta obtener una masa homogénea y seca. De esta manera, se obtiene el queso tipo doble crema. Las fracciones que se llevan para producción de queso campesino y tipo doble crema, dependen de los pedidos que la microempresa tenga. En la Figura 5 se presenta una imagen de los recipientes del proceso de hilado.



Figura 5. Recipiente del proceso de hilado de cuajada con paleta de agitación

Los dos tipos de quesos son llevados al área de moldeo y empaque, en donde se obtienen los quesos en diferentes presentaciones. Se producen quesos tipo campesino en presentaciones de 125g, 450g, 500g y queso doble crema en presentaciones de 2.500g. Los quesos son almacenados en un cuarto frío hasta su despacho. El diagrama de Bloques del proceso se presenta en la Figura 6.

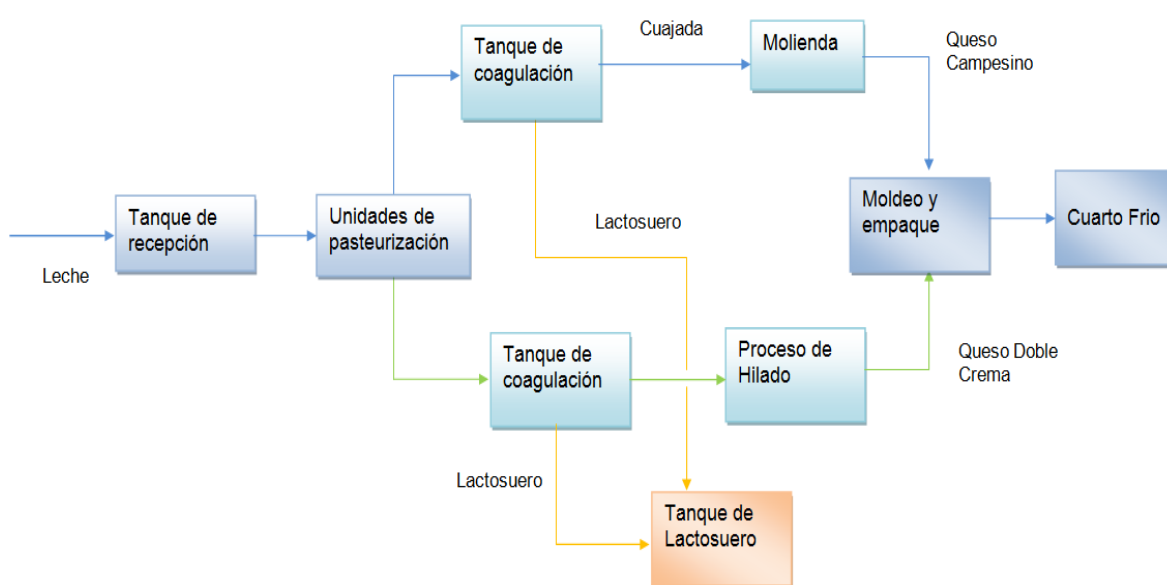


Figura 6. Diagrama de bloques del proceso de producción de quesos en “Lácteos La Delicia La Frontera”

3.3. Descripción de la unidad experimental

El sistema evaluado se basó en la digestión anaerobia de fases separadas: una fase para la acidogénesis y otra para la acetogénesis y metanogénesis. Como el lactosuero presenta baja

alcalinidad y tendencia rápida a acidificarse, la separación de las fases de la digestión anaerobia permitió garantizar, de una mejor forma, las condiciones ambientales para el crecimiento óptimo de los microorganismos acidogénicos y metanogénicos por separado, evitando los problemas de estabilidad y control operacional que pudiera presentar el sistema.

En la Figura 7 se presenta la configuración del sistema utilizado en el estudio. El sistema se compone de un tanque de homogenización, un reactor acidogénico (RA), un tanque para la preparación de solución de bicarbonato de sodio y un reactor metanogénico (RM).



Figura 7. Configuración del sistema utilizado en el estudio

1. Tanque de homogenización, 2. Bomba sumergible de impulsión lactosuero, 3. Válvula de control de flujo, 4 Reactor Acidogénico, 5. Tanque de adición de NaHCO_3 , 6 Sistema de goteo adición de NaHCO_3 . 7. Reactor Metanogénico

Tanque de homogenización: este recipiente tiene un volumen de 50 L (ver Figura 8), está provisto por una bomba sumergible, que impulsa de manera continua el lactosuero hacia el sistema de tratamiento. El recipiente funciona como un tanque de homogenización de caudal, ya que en la fabricación de quesos se presentan 4 eventos máximos de caudal al día, 2 en la mañana y 2 en la tarde. Los caudales máximos son causados por el lavado de cantinas e instalaciones después de la recepción de leche y por la evacuación de lactosuero después del proceso de coagulación.



Figura 8. Detalle de tanque de homogenización

Reactor acidogénico-RA: para el reactor acidogénico se acondicionó un tanque plástico de 20 L de forma cilíndrica y con tapa. El reactor tiene la entrada de líquido por la parte inferior para obtener un flujo ascendente, la cual está provista de una válvula para controlar la velocidad ascensional que permita un menor arrastre de biomasa. El RA tiene por objetivo garantizar las condiciones óptimas de operación, que permitan la máxima conversión de la materia orgánica a ácidos orgánicos (AGVs), que son necesarios para los microorganismos acetogénicos, los cuales a su vez producen los metabolitos para las arqueas metanogénicas, logrando una conversión de DQO como AGVs entre el 10% y el 40% (Kasapgil et. al., 1995; Ince et. al., 1998a; Rojas, 1999). El RA y la válvula de control de flujo se muestran en la Figura 9.



(a)



(b)

Figura 9. Reactor Acidogénico

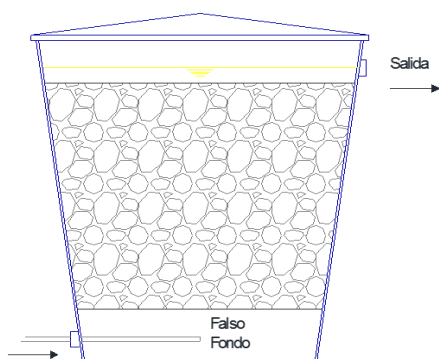
(a) Detalle del RA; (b) Válvula control de flujo entrada RA

Tanque de adición de bicarbonato: Este tanque tiene un volumen de 12L y en él, se adiciona la solución alcalinizante necesaria para brindar alcalinidad bicarbonática al afluente del RM. La adición del NaHCO_3 se realiza de manera continua por medio del equipo de micro goteo presentado en la Figura 10.



Figura 10. Equipo de microgoteo empleado para la adición de solución de bicarbonato de sodio

Reactor metanogénico-RM: El reactor está compuesto por un tanque plástico de 40L de forma cilíndrica, con tapa y medio de soporte en el que se adhiere la biomasa y se amplía el área de contacto entre la biomasa y el sustrato. El RM contiene como medio de soporte anillos de PVC, de 0,5 pulgadas de diámetro y una longitud que varía entre los 2 y 4 cm (ver Figura 11b). La entrada se hace por el falso fondo dispuesto en la parte inferior del reactor, para tener flujo ascendente como se muestra en la Figura 11a.



(a)



(b)

Figura 11. Reactor Metanogénico
(a) Esquema del RM; (b) Detalle del medio de soporte

3.4. Agua residual

El agua residual objeto de estudio es el lactosuero producido por la empresa mezclado con el agua de lavado de cantinas e instalaciones, el cual fue almacenado en un tanque de 2.000L. El lactosuero se tamizó previamente con una tela para retirar residuos de queso, como se muestra en la Figura 12. El lactosuero se refrigeró en un cuarto frío a una temperatura de 4°C hasta su caracterización y posterior alimentación del sistema de tratamiento. El almacenamiento en cuarto frío se hizo para conservar las propiedades fisicoquímicas y evitar la degradación del lactosuero.

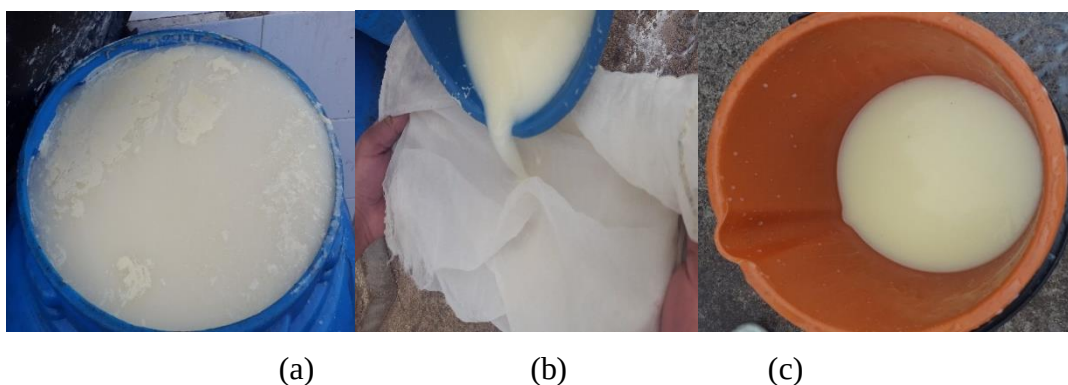


Figura 12. Preparación previa de agua residual

(a) lactosuero sin filtrar, (b) operación de filtrado, (c) lactosuero filtrado

Para conocer la composición del lactosuero, se realizaron 5 caracterizaciones con el objetivo de identificar las propiedades fisicoquímicas y determinar las condiciones de operación iniciales del estudio. A cada muestra se le midió pH, DQO, SST, NAT, P, Alcalinidad total y bicarbonática según los procedimientos del Standard Methods (2005).

3.5. Inóculo

Se utilizó como inóculo lodo proveniente de un filtro anaerobio de flujo ascendente (FAFA) de la planta de enfriamiento de leche ALIVAL LTDA, ubicada en el municipio de Cumbal Nariño. El reactor FAFA trata agua residual con características similares al lactosuero, ya que el sustrato que utiliza es el agua residual proveniente del lavado de cantinas e instalaciones de la enfriadora de leche, las cuales son actividades comunes en el

proceso de producción de quesos en “*Lácteos La Delicia La Frontera*”, lo que sugiere una mayor adaptación para tratar el lactosuero producido por la microempresa.

3.6. Arranque del sistema

Inicialmente, se contempló realizar el arranque según las recomendaciones de varios autores (Kasapgil et. al., 1995; Ince et al., 1998a) que involucraban realizar la inoculación y aclimatación del lodo en una primera fase y después el arranque del sistema, sin embargo se decidió posteriormente ajustarla de acuerdo con las necesidades y condiciones en las que se encontraba la microempresa. Entre las condiciones se destacan las siguientes:

- La baja disponibilidad presupuestal de la microempresa, para la realización de muestreos.
- El difícil acceso y disponibilidad de laboratorios en la región (Servicio Nacional de Aprendizaje SENA e Institución Educativa José María Hernández), lo que dificultaba la realización de algunos análisis para el seguimiento del comportamiento del sistema en las etapas de arranque.
- El sistema sería manejado por operarios con bajo grado de escolaridad, ya que la microempresa no cuenta con suficientes recursos para contratar los servicios profesionales.

Las anteriores circunstancias motivaron que la evaluación del sistema anaerobio, se realizara de una manera práctica y económica para lograr que el sistema propuesto sea aceptado, entendido y visto como una alternativa viable por parte del microempresario. La propuesta metodológica para la evaluación del sistema anaerobio, se desarrolló en tres fases: la aclimatación del lodo, la inoculación y el arranque de los reactores. La última fase permitirá determinar las condiciones óptimas de operación y la eficiencia alcanzada.

La evaluación del digester anaerobio de fases separadas se realizó en el periodo de arranque del sistema donde aún no existe como tal un estado estable. Además el análisis estadístico se realizó por etapas de acuerdo con COV alimentada, que cambiaba de acuerdo al comportamiento de parámetros de control como producción de AGVs, Índice de Buffer e Índice Alfa.

3.6.1. Aclimatación del lodo

Para la aclimatación, el lodo se puso en contacto con una mezcla de agua residual de la planta de enfriamiento de leche ALIVAL y del agua residual objeto de estudio (lactosuero+agua de lavado-LAR). La cantidad de LAR en la mezcla se incrementó gradualmente hasta llegar al 100%. Se dejaron en contacto 12L de lodo del FAFA, con 8L de la mezcla de agua residual de ALIVAL y LAR, por un periodo de 7 días, esto correspondió a una relación porcentual LODO: MEZCLA AGUA RESIDUAL de 60:40. Durante este periodo se midió el pH diariamente y se agregó bicarbonato de sodio para aumentar la capacidad tampón del sistema, cuando el pH disminuía por debajo de 5,5 unidades. Se aclimataron en total 24 L del lodo. En la Figura 13 se presenta el lodo aclimatado. El incremento del porcentaje de LAR en la mezcla se realizó cada 8 d, tiempo en el que se había reducido aproximadamente el 50% de la DQO, esto resultó en un periodo de aclimatación de 40 d.



Figura 13. Fotografía del lodo aclimatado

En la fase de aclimatación se presentaron problemas de disminución rápida de pH al aumentar la cantidad del LAR, encontrando que este sustrato es fácilmente acidificable (Ranalli et al., 1995; Fernández, 2007). Para contrarrestar el efecto de la acidificación se necesitó de una mayor cantidad de bicarbonato de sodio que recuperara la capacidad tampón del sistema. Una vez terminada la fase de aclimatación del lodo, se realizó el montaje de los reactores del sistema de digestión anaerobia de fases separadas y se continuó con la inoculación los reactores.

3.6.2. Inoculación de los reactores

Después de aclimatado el lodo, el primer paso para el arranque fue la inoculación con un volumen de lodo equivalente al 30% del volumen útil de cada reactor. Para inocular el RA se utilizaron 6L de lodo y se completó con 14L de LAR. La mezcla de lodo y LAR se mantuvo en contacto por un periodo de 2d.

El RM se inoculó con 12L de lodo aclimatado previamente. La inoculación se realizó agregando capas de medio de soporte e inóculo de forma alterna, es decir que se agregó una capa de 4L de lodo, seguido de una capa de medio de soporte, hasta completar el 30% de volumen útil del reactor (12L). Posteriormente, se agregó lactosuero. La mezcla se dejó en batch por un periodo de 1 semana, de acuerdo con lo recomendado por Zambrano et al. (1999) para garantizar mayor adherencia de biomasa en el medio de soporte.

3.6.3. Fase de arranque

La estrategia de arranque del sistema consistió inicialmente, en arrancar el RA y una vez alcanzada su máxima capacidad, se dio inicio al arranque del sistema global. Este consistió en incrementar gradualmente la COV, en valores adecuados para que los microorganismos encargados de la etapa acetogénica y metanogénica de la digestión anaerobia, pudieran transformar adecuadamente los subproductos de la etapa acidogénica.

Reactor acidogénico

La estrategia de arranque consistió en iniciar la operación del RA con el equivalente a un 50% de la carga orgánica considerada como de diseño, para luego hacer aumentos progresivos de acuerdo con el criterio de producción de AGVs, hasta alcanzar el 100%, aplicando en promedio 4 valores de COV. Se realizó el seguimiento de la DQO afluente y efluente y de la producción de AGVs, para analizar el comportamiento y lograr la máxima acidificación del RA. El criterio del aumento en un 50% de la producción de AGVs fue utilizado para el incremento de la carga orgánica. Se manejó este criterio de acuerdo con lo recomendado por Ince et al. (1998a), quienes encontraron que un incremento en la

producción de AGVs cercana al 50% en el RA, brinda una cantidad de ácidos necesaria para los microorganismos acetogénicos. Previo a la alimentación del RA se realizaron mediciones de DQO del agua residual utilizada, para establecer el valor de la COV promedio. En la tabla 4 se presentan las COV aplicadas en el arranque del RA.

Tabla 4. COV promedio aplicadas en el arranque del RA

TRH PROMEDIO* (h)	DQO promedio (kg/m ³)	COV promedio (kg/m ³ *d)
15,6	9,05	13,46
	9,53	14,40
	11,61	17,97
	18,04	27,78

El TRH fue seleccionado de acuerdo con las recomendaciones realizadas por autores como Kasapgil et al. (1995) e Ince et al. (1998a), quienes en sus investigaciones encontraron que la mayor tasa de crecimiento de los microorganismos acidogénicos y la máxima producción de AGVs se presenta entre 12 y 16h de TRH, tratando efluentes de industrias lácteas.

Sistema Global

Una vez alcanzada la máxima capacidad del RA, se procedió al arranque global del sistema. Para esto se establecieron unos valores de COV a aplicar en el RM, partiendo del efluente del RA. La estrategia de arranque fue similar a la utilizada en el RA, alimentando el RM con el efluente del tanque de adición de solución alcalinizante, que reúne el efluente del RA y la solución de bicarbonato de sodio. El TRH en el RM fue de 1,05d, lo cual está acorde con lo recomendado por diversos autores para el tratamiento de agua residual de la industria láctea (Lin et al., 1986; Van Lier et al., 1994; Ince et al., 1998a).

Para garantizar la capacidad tampón en el RM se utilizó bicarbonato de sodio con una concentración de 9 g/L. En la Tabla 5 se muestran las COV aplicadas para el arranque del sistema anaerobio.

Tabla 5. COV utilizadas en el arranque del sistema anaerobio de fases separadas

DQO promedio (kg/m ³)	COV promedio (kg/m ³ *d)
2,00	4,40
2,92	6,43
3,27	7,20
3,42	7,53

Para el análisis del arranque se realizó el seguimiento de las variables fisicoquímicas presentadas en Tabla 6. Los análisis fisicoquímicos fueron determinados siguiendo las metodologías del Standard Methods (2005).

Tabla 6. Variables fisicoquímicas determinadas en el arranque del sistema anaerobio de fases separadas

Variable	Unidades	Frecuencia	Lugar seguimiento de variables			
			Entrada RA	Salida RA	Entrada RM	Salida RM
pH	Unidades	Diaria	Si	Si	Si	Si
DQO	mg/L	1 veces/semana	Si	No	No	Si
SST	mg/L	1 veces/semana	Si	No	No	Si
Alcalinidad total	mg/L CaCO ₃	Diaria	No	No	No	Si
Alcalinidad bicarbonática	mg/L CaCO ₃	Diaria	No	No	No	Si
Ácidos Grasos Volátiles	mg/L Ácido Acético	3 veces/semana	No	Si	No	Si
Temperatura	°C	Diaria	En el sitio dispuesto para el sistema anaerobio			

3.7. Análisis estadístico

Para el manejo de los datos obtenidos en el sistema de digestión de fases separadas, se utilizaron las herramientas de la estadística descriptiva. Se tomaron medidas de tendencia central, de dispersión y de posición. Las medidas de posición sirven para evaluar gráficamente la distribución de los datos, mediante el uso de diagramas de cajas y bigotes (boxplot). El procesamiento de los datos se realizó con ayuda del software estadístico STATA 11 y Microsoft Excel.

Las medidas de tendencia central son parámetros en los cuales se disponen los datos de la distribución y se toman como el centro de la misma. Se midieron la media y la mediana.

Las medidas de dispersión son parámetros que indican cuanto se alejan o que tan dispersos de la medida central, están los datos de la distribución (Wackerly et al., 1998; Freund et al., 2000). Se midió la variable desviación estándar.

Las medidas de posición sirven para indicar la proporción de individuos o de datos que hay antes y después de un determinado valor, como los percentiles y cuartiles, estos parámetros se representan por medio de diagramas de cajas y bigotes (Wackerly et al., 1998; Freund et al., 2000). En la Figura 13 se presenta un gráfico de este tipo.

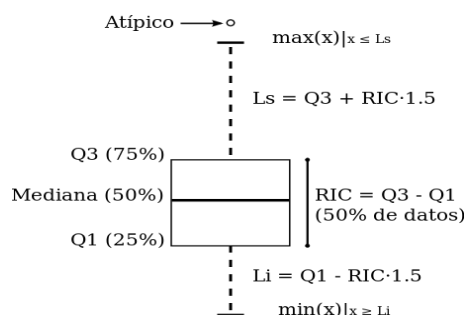


Figura 14. Esquema de una gráfica de cajas y bigotes
Fuente (Wackerly et al., 1998)

En el diagrama de la Figura 14 se observan los cuartiles, representados por Q_i , la mediana, el rango intercuartílico ($Q3-Q1$) y los límites inferior y superior. Valores por fuera de estos límites son valores considerados atípicos (Wackerly et al., 1998).

4. Análisis y discusión de resultados

4.1. Características fisicoquímicas del lactosuero producido en la microempresa “Lácteos La Delicia La Frontera”

Para determinar las características fisicoquímicas del lactosuero generado en la microempresa Lácteos La Delicia La Frontera, se tomaron cinco (5) muestras puntuales. El muestreo se realizó durante una semana tomando una muestra de lactosuero diaria. Las muestras se analizaron en el laboratorio del Servicio Nacional de Aprendizaje SENA (En el Anexo1 se presentan los resultados). Mediante el análisis estadístico, se pretende garantizar que las variables medidas sean representativas del agua residual del proceso. En la Tabla 7 se presentan los valores estadísticos más representativos.

Tabla 7. Resumen estadístico de las características Fisicoquímicas de lactosuero de “Lácteos La Delicia La Frontera”

	DQO (mg/L)	NAT (mg/L)	Fósforo (mg/L)	pH	Alcalinidad Total (mg/L)	Alcalinidad Bicarbonática (mg/L)
Promedio	46.415,8	328,6	41,8		741,3	133,06
Desviación Estándar	765,3	27,7	4,8	0,28	23,74	14,14

Para la variable DQO, se encontró que el 75% de los datos están por debajo de 46.933 mg/L y que la distribución de los datos está más concentrada en valores por encima del valor de la mediana como se observa en la Figura 15. Además, los datos superiores a este valor poseen una menor dispersión por lo que se puede inferir que la muestra es mucho más homogénea con valores superiores a 46.711 mg /L y que no se presentan datos atípicos.

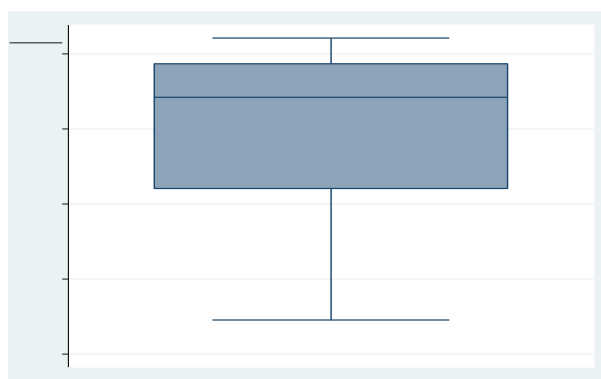


Figura 15. Distribución normal de la DQO

La mediana representa la simetricidad de la distribución, por lo que se puede concluir que para la variable DQO del lactosuero es más representativa que el promedio de los datos encontrados.

Comparando los resultados con lo reportado por la literatura (Omil et al., 2003, Venetsaneas et al., 2009) donde se reportan valores entre 50.000 y 70.000 mg/L, se puede apreciar que la DQO es menor. La disminución en el valor de DQO se presenta porque en la empresa no existe separación de los efluentes del lavado de cantinas e instalaciones, los cuales se mezclan con el lactosuero y diluyen el agua residual estudiada. A pesar de esto, los valores encontrados indican un compuesto concentrado en términos de DQO y una alta biodegradabilidad haciéndolo un sustrato factible para el tratamiento anaerobio (Rico et al., 2015).

El alto contenido de materia orgánica biodegradable en el lactosuero, representados por lactosa, lactato, carbohidratos, proteínas y grasas, hace que este sustrato sea apto para someterlo a un tratamiento biológico como el anaerobio (Guerrero-Rodríguez et al., 2012). Sin embargo, las proteínas pueden tender a precipitar si el pH es demasiado bajo, dificultando su degradación, mientras que los lípidos son considerados como un problema debido a su acumulación y difícil degradación (Coelho et al., 2007). Adicionalmente, el lactosuero es un residuo poco alcalino, con tendencia a acidificarse rápidamente a causa de la fermentación de la lactosa en ácido láctico y butírico, causando inestabilidad en el sistema (Arango y Sanchez, 2009; Bretón, 2014). Lo anterior sugiere que se deben buscar alternativas para contrarestar la acidificación.

Para el Nitrógeno Amoniacal Total (NAT) y Fósforo Total (Figura 16) se observa una distribución normal de los datos, ya que el 50% de los datos se encuentra entre 311 y 345 mg/L para el NAT y entre 39 mg/L y 45 mg/L para el Fósforo. Este comportamiento de los datos en términos estadísticos, genera mayor confiabilidad en la representatividad de las muestras. Los datos se ven representados por los valores promedio, los cuales son similares a los valores reportados en la literatura que oscilan entre 60 y 419 mg/L para el NAT (Gelegenis et al., 2007; Debowsky et al., 2014). Para el caso del Fósforo los valores encontrados en esta investigación son menores a los reportados por Rico et al. (2015) y Gelegenis et al. (2007), que varían entre 203 y 300 mg/L.

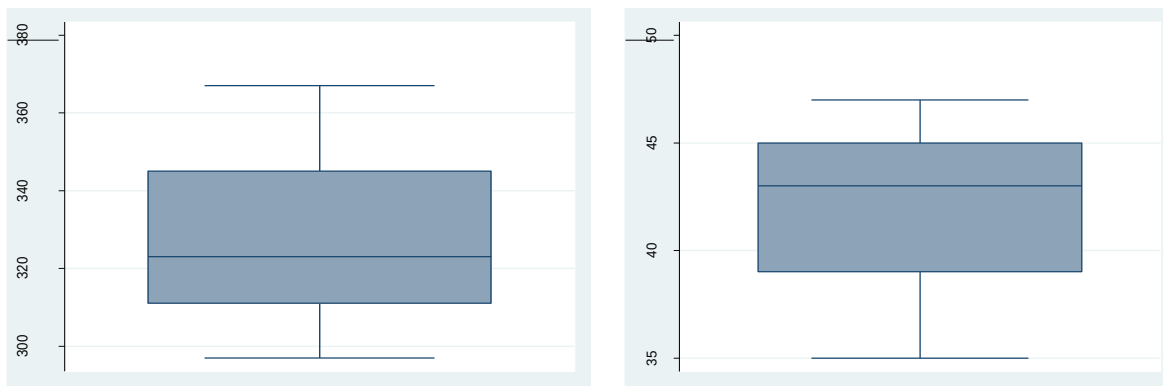


Figura 16. Distribución normal de NAT y Fósforo Total

El nitrógeno y el fósforo son nutrientes necesarios para favorecer el crecimiento de los microorganismos involucrados en la digestión anaerobia (Chernicharo, 2007). El aporte de NAT y fósforo en el lactosuero proviene de varios tipos de compuestos, tales como carbohidratos, proteínas y lípidos (Coelho et al., 2007). El NAT proviene de las proteínas presentes en el lactosuero, especialmente de la caseína que conforma un 70% del total, con una concentración entre 6 a 8 g/L (García et al., 2002; Dareioti y Kornaros, 2015). La leche contiene una baja concentración de grasas del orden de 4 a 5 g/L (Dareioti y Kornaros, 2015) proporcionada por tres clases de sustancias: lípidos neutros, sustancias lipoídicas y lípidos polares o fosfolípidos (Alais, 2003), las cuales son la principal fuente de fósforo que representan alrededor del 1% del total; de esta forma la transferencia de fósforo al lactosuero ocurre en una proporción menor, de ahí los bajos valores reportados.

Según el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, MADR (2012), en la región cuatro, donde está incluido el departamento de Nariño, el porcentaje promedio de grasa en la leche es de 3,66%, corroborando el bajo contenido de fósforo.

Para establecer si el lactosuero cuenta con una disponibilidad de nutrientes que permita el adecuado desarrollo de los procesos biológicos de tratamiento (en este caso procesos anaerobios), se estableció la relación DQO:N:P, para los datos del muestreo realizado, tal como se presenta en la Tabla 2. La relación se calcula buscando un factor común, que divida las valores de DQO y nitrógeno, que en este caso es la concentración de fósforo. El NAT es la fracción del nitrógeno orgánico que los microorganismos pueden asimilar como

nutriente para su crecimiento (Chernicharo, 2007), razón por la cual se toma este valor para el cálculo de los requerimientos de nutrientes de los procesos biológicos anaerobios.

Tabla 8. Resumen estadístico de la relación DQO:N:P

	DQO:N:P	
	Obtenido	Recomendado ¹
Promedio	1.123,3:7,9:1	1.000:5:1
Desviación Estándar	142,5:0,6:1	

¹van Haandel y Lettinga (1994); Rojas (1999); Chernicharo (2007)

Se observa que el 50% de los datos oscila entre 1.038:7,7:1 y 1.182,1:8,5:1 y al comparar con la relación teórica de nutrientes DQO: N: P = 1000:5:1 (Chernicharo, 2007), se puede inferir que el lactosuero presenta una mayor cantidad de nutrientes que los requeridos teóricamente y por lo tanto, el lactosuero no necesita adición de los mismos para el crecimiento óptimo de los microorganismos anaerobios.

En la Figura 17 se puede apreciar que para la variable de pH, el 75% de los datos están por debajo de 5,67 unidades. Los valores presentados son típicos del lactosuero denominado dulce, el cual se obtiene por la coagulación enzimática de sus proteínas con la utilización de renina (Seba 2013). Además, estos valores son similares a los reportados por Kalyuzhnyi et al. (1997), Karadag et al. (2014) y Karadag et al. (2015).

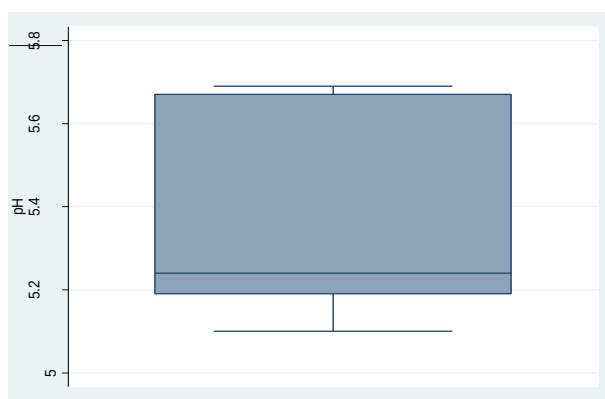


Figura 17. Distribución normal de pH

La gran cantidad de compuestos ácidos, tales como el ácido butírico, formados por la fermentación de la lactosa presente en el lactosuero y el acelerado crecimiento de bacterias acetogénicas que producen hidrógeno por la oxidación de compuestos orgánicos reducidos (Rojas, 1999), hace que se presente un descenso en el pH hasta valores entre 4,5 y 5,0

unidades (Chernicharo, 2007; Seba, 2013). Esta facilidad que tiene el lactosuero de acidificarse, es la principal limitación para la aplicación de la digestión anaerobia, por tanto se deben buscar alternativas para detener la tendencia ácida del lactosuero.

Teniendo en cuenta que la alcalinidad bicarbonática representa la capacidad tampón del lactosuero, y al observar su distribución, a partir de los datos del Apéndice 1 y la Figura 18, se puede inferir que los datos son simétricos y su representación está dada por el valor promedio. La alcalinidad bicarbonática es parte de la alcalinidad total que se utiliza para neutralizar AGVs formados en las etapas de la digestión anaerobia y mantener el pH dentro de lo recomendado para la multiplicación de los microorganismos metanogénicos (Rojas, 1999; Chernicharo, 2007). Se recomienda que por lo menos el 60% de la alcalinidad total debe estar en forma de alcalinidad bicarbonática (Rozzi, 1986).

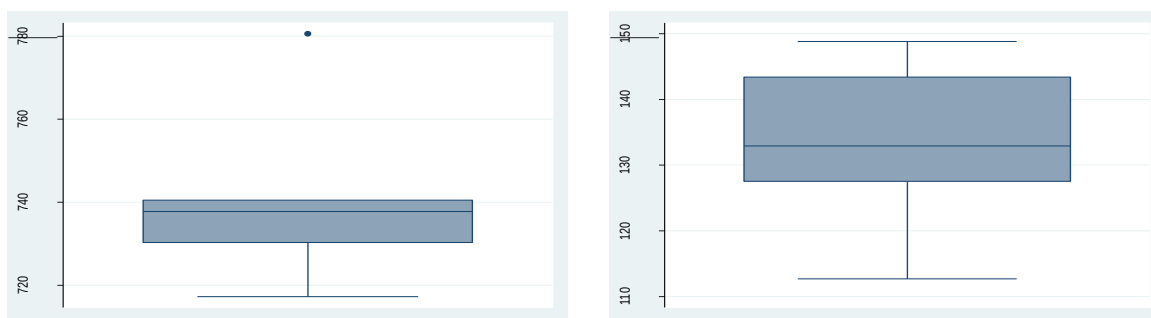


Figura 18. Distribución normal de Alcalinidad Total y Bicarbonática

Para el lactosuero solo el 17% de la alcalinidad total está en forma de alcalinidad bicarbonática, la cual es muy baja en comparación con el valor recomendado y no es suficiente para proporcionar la capacidad tampón al sistema, por lo que se concluye que éste sustrato necesita la adición de capacidad tampón por medio de sustancias químicas.

De acuerdo con los resultados de la caracterización, se puede concluir que el lactosuero de la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”, es un agua residual que cumple con los requerimientos necesarios de contenido de materia orgánica y de nutrientes como el nitrógeno y el fósforo, para tratarlo por medio de digestión anaerobia. Para que la digestión anaerobia se desarrolle de manera adecuada, se deben garantizar condiciones fisicoquímicas de las etapas acidogénica y metanogénica; como estrategia para suplir estas condiciones, se propone la separación física de dichas fases (Arroyave, 1996; Ince, 1998a). Adicionalmente, se debe garantizar la capacidad tampón del sistema en el afluente de la

fase metanogénica, mediante la adición de sustancias químicas alcalinizantes como el bicarbonato de sodio, que suple las deficiencias de alcalinidad bicarbonática que tiene el lactosuero.

El caudal diario producido en la microempresa de lactosuero es de 1800 L/d. los aportes de agua residual resultado del lavado de cantinas e instalaciones se calculó de acuerdo con los lavados que se realizan diariamente en la microempresa. Los resultados de medición de caudal de agua residual y el aporte de cada componente del agua residual se muestran en la Tabla 9.

Tabla 9. Aportes del lactosuero en el agua residual generada en la microempresa

Área	Caudal promedio (L/min)	Tiempo Lavado (min)	Frecuencia (veces/d)	Caudal (L/d)	Aporte Agua Residual (%)
Lavado de cantinas	4,8	30	2	288	10,0
Instalaciones	30	15	2	900	31,1
Lactosuero				1700	58,9
TOTAL LITROS DE AGUA RESIDUAL GENERADA AL DIA				2888	100

Las muestras se tomaron de un tanque de homogenización de agua residual que tiene la microempresa, donde se mezcla las aguas de lavado y el lactosuero. El tanque de homogenización es evacuado diariamente al finalizar la jornada, momento en el que se tomó la muestra puntual.

4.2. Condiciones operacionales del digestor anaerobio de fases separadas para el tratamiento de lactosuero

Para determinar las condiciones operacionales del reactor anaerobio de fases separadas, se realizó una fase de aclimatación del lodo utilizado para inocular los reactores y una fase de arranque del sistema.

4.2.1. Fase de arranque

La temperatura es uno de los factores físicos más importantes que afectan el crecimiento microbiano, considerando que los microorganismos no pueden controlar su temperatura

interna, sino que depende de la temperatura externa. Dos rangos óptimos han sido asociados con la digestión anaerobia: mesofílico (30 a 35°C) y termofílico (40 a 50°C); sin embargo se ha evidenciado crecimiento de algunos microorganismos metanogénicos a temperaturas entre 4 y 15°C (Lettinga et al., 2001; Chernicharo, 2007).

Debido a esto, antes de iniciar el arranque, se realizó un estudio de la variación de la temperatura ambiente, registrando temperaturas desde los 6°C a los 18 °C (variación de 12°C). Este tipo de variación puede causar problemas en la tasa de crecimiento de los microorganismos metanogénicos e incrementar considerablemente el tiempo de arranque en el reactor (Lettinga et al., 2001). Para disminuir la variación de la temperatura se construyó un invernadero alrededor del sistema de tratamiento, tal como se muestra en la Figura 19.



Figura 19. Invernadero para el montaje del reactor anaerobio de fases separadas

Mediante la construcción de ésta barrera, se logró disminuir la variación de la temperatura ambiente, la cual presentó una distribución normal y el 50% de los datos medidos estuvieron entre 11 y 15 °C (ver Figura 20) con una desviación estándar de 2,2. A pesar de aumentar el valor mínimo de temperatura, ésta osciló dentro del rango psicrófilico (4 a 15°C), donde las reacciones químicas y biológicas se desarrollan de manera más lenta que en los rangos mesofílico o termofílico (Lettinga et al., 2001), implicando mayor tiempo de adaptación y crecimiento de los microorganismos en la fase de arranque.

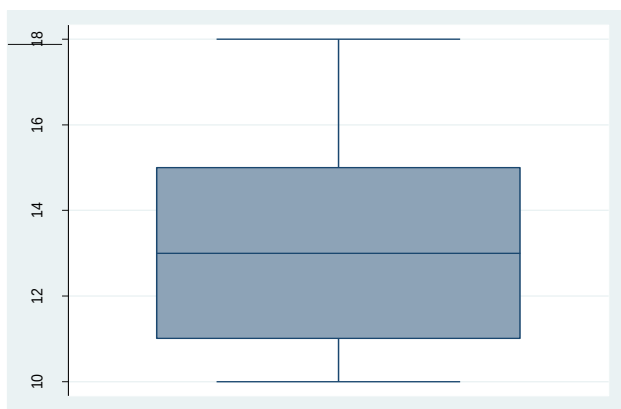


Figura 20. Distribución normal de la temperatura ambiente

4.2.2. Arranque del reactor acidogénico

El arranque del RA se llevó a cabo en cuatro Etapas, condicionadas por el aumento de carga y la respuesta de las variables de control. Las COV aplicadas y la DQO durante las cuatro etapas se presentan en la Tabla 10.

Tabla 10. Analisis estadistico de COV alimentada al RA

	ETAPA							
	I		II		III		IV	
	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)
Promedio	13,18	8.528,00	13,99	9.270,50	17,79	11.671,60	27,63	18.037,70
Desviación estándar	0,24	180,50	0,38	491,20	0,74	288,40	1,74	1.165,20

El objetivo del arranque del RA fue lograr la máxima producción de AGVs (Rojas, 1999). Teniendo en cuenta que el lactosuero contiene carbohidratos como la lactosa y algunas proteínas que son fácilmente biodegradables, se esperaba una conversión alta del sustrato en AGVs por parte de las bacterias acidogénicas (Kasapgil et al., 1996; Ince et al., 1998a). La variación de AGVs en cada una de las etapas se presenta en la Tabla 11 y en la Figura 21 se muestra el comportamiento de la producción de AGVs en función de COV.

Tabla 11. Análisis estadístico de AGVs en RA

	Concentración de AGVs (mg/L)			
	I	II	III	IV
Promedio	279,93	800,86	1.904,66	5.253,22
Desviación estándar	119,86	303,81	560,60	1.635,47

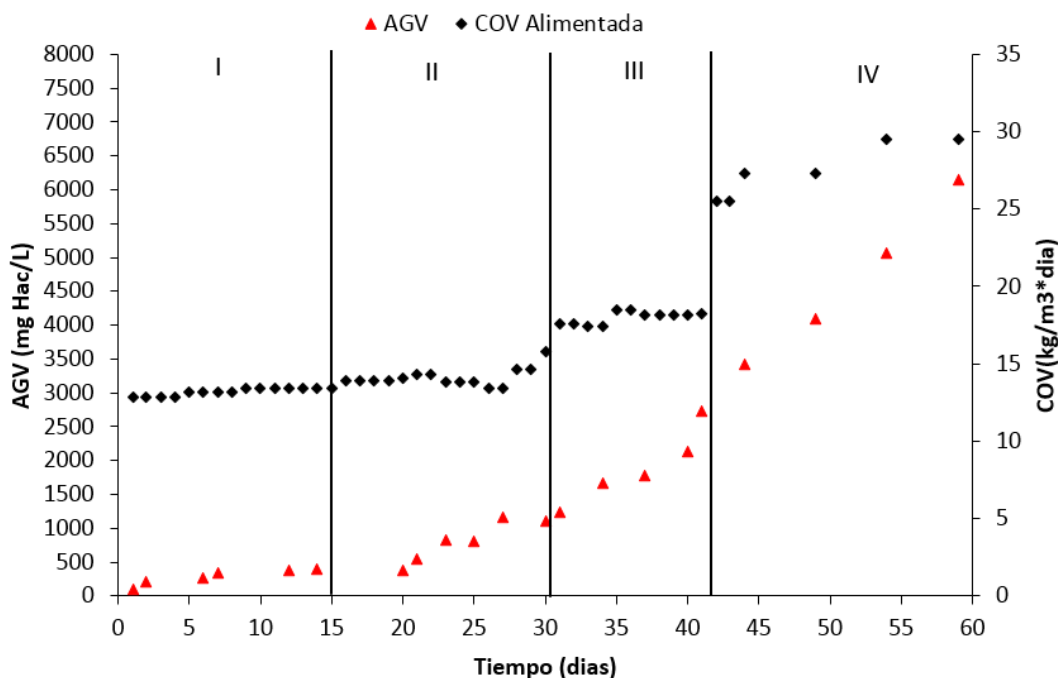


Figura 21. Comportamiento de AGV durante el arranque del RA

En términos generales, se presentó un comportamiento creciente en la producción de AGVs. Para la etapa I, la producción de AGVs presentó un crecimiento lento, debido principalmente a que no existía la cantidad suficiente de bacterias acidogénicas que convirtieran el sustrato en AGVs, como resultado del inicio del arranque donde las bacterias se están adaptando al nuevo entorno y condiciones ambientales. La variación de la producción de AGVs en esta etapa oscila entre 210,53 y 404,65 mg/L de HAc, con un valor promedio de 279,93 y una desviación estándar de 119,86 (ver Tabla 10). Después de un periodo de 15 días, la producción superó el 50% de los AGVs iniciales, indicando la capacidad del sistema para asimilar la COV aplicada.

Para la etapa II, el incremento de la COV se realiza de manera leve, variando entre 13,79 y 14,35 con un valor promedio de 13,99 kg/ m³* d. A pesar de este cambio, se puede apreciar que la producción de AGVs se acelera, alcanzando un valor de 1.162,11 mg/L de HAc en el día 27. Lo anterior indica que las bacterias acidogénicas han alcanzado la cantidad suficiente para metabolizar el sustrato existente y que en un periodo de 15 días, la producción de AGVs superó el 50% de los AGVs que se produjeron al inicio de la etapa II (día 15), lo cual es un criterio suficiente para realizar el aumento de COV.

La COV en las etapas III y IV tuvo un incremento significativo variando entre 17,58 y 18,27 con un promedio de 17,97kg/m³*d y entre 26,39 y 29,16 con un valor promedio de 27,77kg/m³*d respectivamente. La producción de AGVs en las etapas descritas, se incrementa de manera exponencial logrando alcanzar concentraciones por encima de 7.000 mg/L de HAc después del día 60.

Lo anterior demuestra que las COV manejadas en las etapas III y IV cumplen a cabalidad con el objetivo de lograr la máxima producción de AGVs. El comportamiento de la producción de AGVs fue similar al presentado en el estudio realizado por Ince et al. (1998a) e indica que las bacterias acidogénicas lograron alcanzar la población necesaria para convertir carbohidratos, proteínas y lípidos en AGVs, y que las condiciones ambientales del RA son favorables para su crecimiento, favoreciendo la hidrólisis de sustratos complejos (Wu et al., 2015).

Al comparar el comportamiento de la DQO en el afluente y efluente del RA, se puede observar en la Figura 22, que en las dos primeras etapas la variación de DQO es pequeña al igual que la producción de AGVs; en las etapas siguientes la DQO se incrementa y luego tiende a estabilizarse, a diferencia de la producción de AGVs que tiende a aumentar. El comportamiento de la DQO en el RA obedece a que ésta se relaciona con la COV alimentada, y que AGVs hacen parte de la DQO que ingresa al reactor, esto explica porque no se observa como tal, una degradación de la materia orgánica presente en el RA, sino una redistribución de la misma en formas más simples como los AGVs, los cuales son el principal producto de la acidogénesis (Field, 1987; Maharaj, 1999).

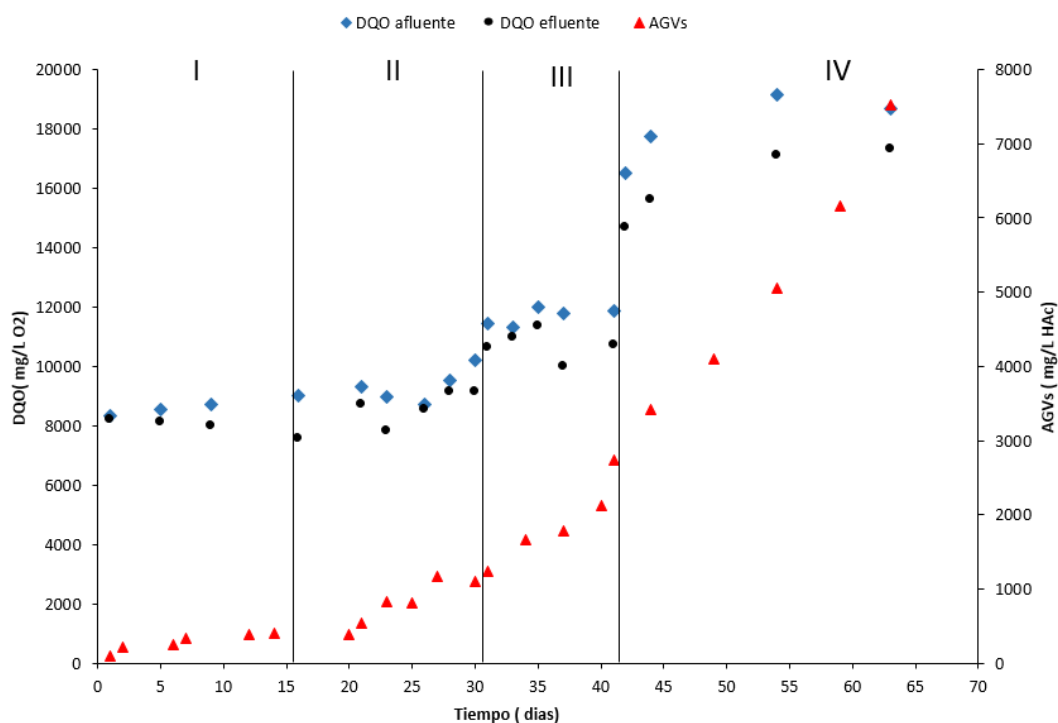


Figura 22. Comportamiento de DQO y AGVs en el RA

El comportamiento del pH en el efluente del RA presentado en la Figura 23, tiende a ser estable, con una variación del 50% de los datos entre 4,0 y 4,2 unidades. Los valores bajos de pH en el efluente se relacionan con la producción de ácido láctico mediante la hidrólisis de azúcares (lactosa) contenidas en el agua residual, demostrando que se favoreció la actividad de las bacterias fermentativas (Bo et al., 2007). El comportamiento del pH fue similar al presentado en estudios realizados por Wang et al. (2014), Wu et al. (2015) y Wu et al. (2016), quienes trataron agua residual de la industria de frutas y verduras, industrias alimenticias y de cocinas, encontrando que a pH cercano a 4,0 se favorece la fermentación de azúcares en ácido láctico por medio de microorganismos del tipo *Lactobacillus*. Se esperaría que el pH disminuyera drásticamente con la producción excesiva de AGVs, sin embargo en esta investigación no se produjo disminución de pH por debajo de 4,0 unidades, ya que con pH cercanos a este valor, la actividad de los microorganismos acidogénicos comienzan a ser inhibida (Wang et al., 2014). Otra razón por la que no se presentó disminución de pH por debajo de 4,0 unidades es porque existe actividad de microorganismos consumidores de AGVs, los cuales evitan su acumulación (Karadag y Pohakka, 2010).

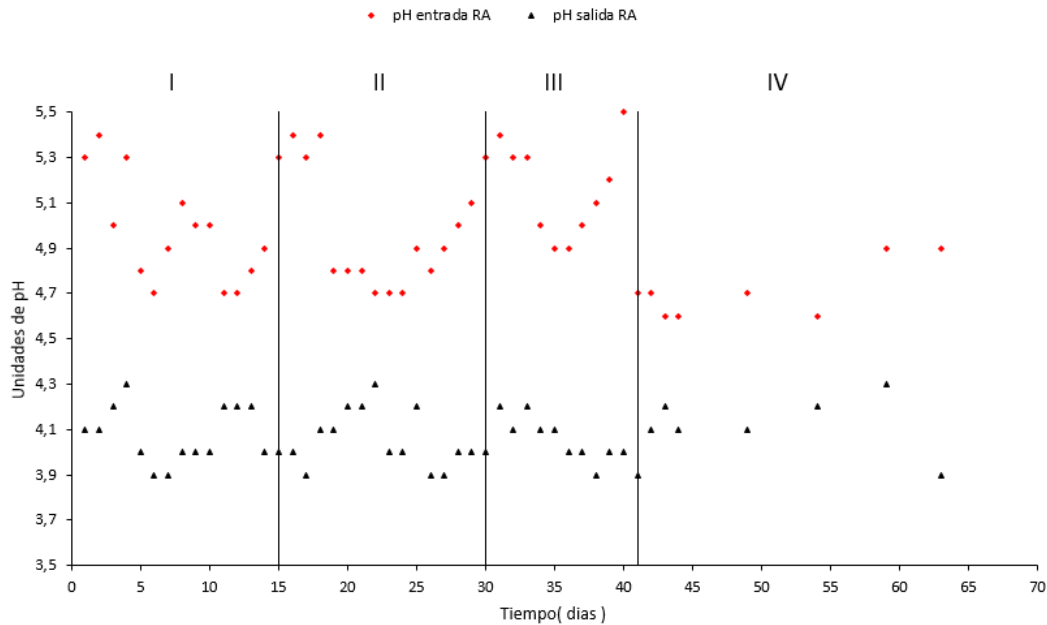


Figura 23. Comportamiento del pH en el Reactor Acidogénico

Las condiciones de acidificación presentadas en el RA dificultan el crecimiento de los microorganismos acetogénicos y metanogénicos, lo que sugiere que no se debe exceder con el valor de COV alimentada en la posterior etapa de arranque del sistema, así como suministrar capacidad tampón al afluente del RM. Según Rojas (1999), el umbral de toxicidad metanogénica de los AGVs no debe ser superior a 180 mg/L (3meq/L) y por tanto, se debe realizar el arranque del sistema con COV inferiores a las alimentadas en el RA.

Teniendo en cuenta el análisis de las variables que determinan el comportamiento que tuvo el RA durante el arranque como la producción de AGVs, se infiere que el reactor desarrolló la fase de hidrólisis y acidogénesis de manera óptima para las COV aplicadas.

4.2.3. Arranque del Sistema Anaerobio de Fases Separadas (SAFS)

El arranque del SAFS se realizó en 4 etapas, donde se alimentaron diferentes COV al RA, las cuales fueron incrementadas gradualmente teniendo en cuenta la estabilidad del sistema representada por variables de control como el Índice Buffer (IB) e Índice Alfa ($I\alpha$). La DQO

y la COV alimentadas al RA y al RM en el arranque del SAFS se muestran en las Tablas 12 y 13 respectivamente y en la Figura 24 se muestra su variación.

Tabla 12. Análisis Estadístico de la COV alimentadas al RA en el arranque del SAFS

	ETAPA							
	I		II		III		IV	
	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)	COV (kg/m ³ d)	DQO (mg/L)
Promedio	4,40	2.002,16	6,42	2.921,11	7,20	3.273,50	7,53	3.422,71
Desviación estándar	0,15	66,80	0,16	74,16	0,07	33,45	0,05	25,50

Tabla 13. Variación de COV alimentadas al RM en el arranque del SAFS

	COV (kg/m ³ d)			
	Etapa I	Etapa II	Etapa III	Etapa IV
Promedio	1,90	2,77	3,11	3,25
Desviación estándar	0,06	0,07	0,03	0,0006

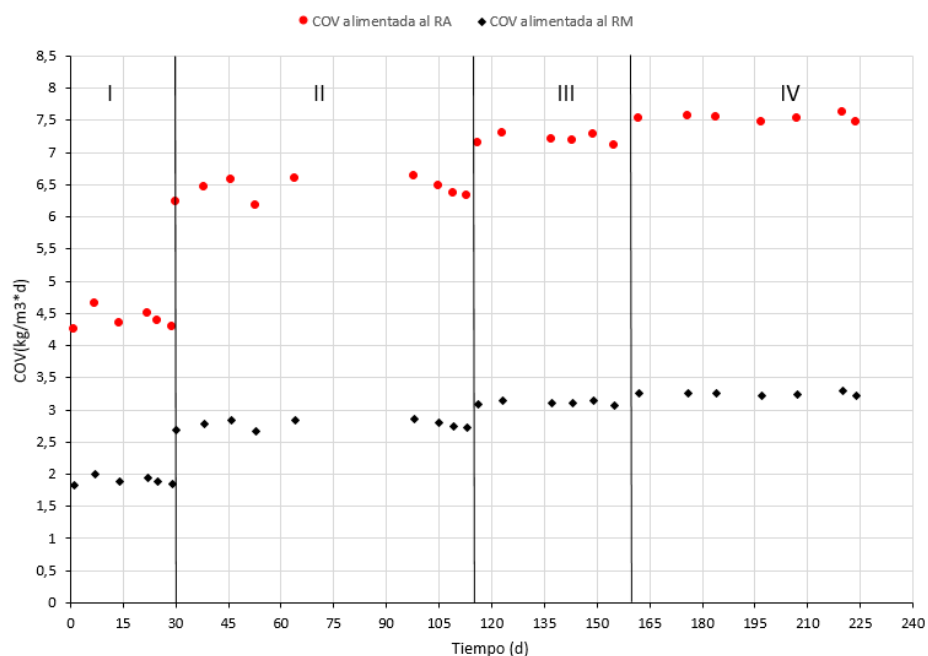


Figura 24. COV alimentadas al RA y al RM en el arranque del SAFS

Cabe resaltar que en la segunda etapa del arranque del SAFS, se dejaron de medir parámetros de control como AGVs, DQO y SST, debido a que los laboratorios que prestaban el servicio entraron en periodo de receso. Sin embargo, en este periodo se realizó seguimiento a las variables de alcalinidad y pH y se mantuvo la COV alimentada y la adición de solución alcalinizante, para asegurar que el SAFS no tuviera problemas de estabilidad.

Las COV aplicadas al SAFS fueron menores que las aplicadas durante el arranque del RA, para garantizar condiciones ambientales en el RM más favorables para que los procesos se desarrollaran adecuadamente, los cuales podrían presentar inhibición por las condiciones ambientales que presentaba el RA justo después de su arranque, relacionados con valores altos de AGVs y baja capacidad tampón.

El comportamiento de los AGVs efluentes en el RA y RM para el arranque del SAFS se presenta en la Figura 25a, donde se observa que en la etapa I se presentó en el RA una variación, aunque no significativa, entre 143,33 y 156,78 mg/L, comportamiento que se explica porque los microorganismos acidogénicos que estaban adaptados a unas COV mayores, deben adaptarse nuevamente a las COV alimentadas al sistema. Para las etapas siguientes (II, III y IV) la producción de AGVs en el RA se incrementa exponencialmente, demostrando que este reactor alcanzó las condiciones ideales para su operación. La distribución de los AGVs en el RA se presenta en la figura 25b.

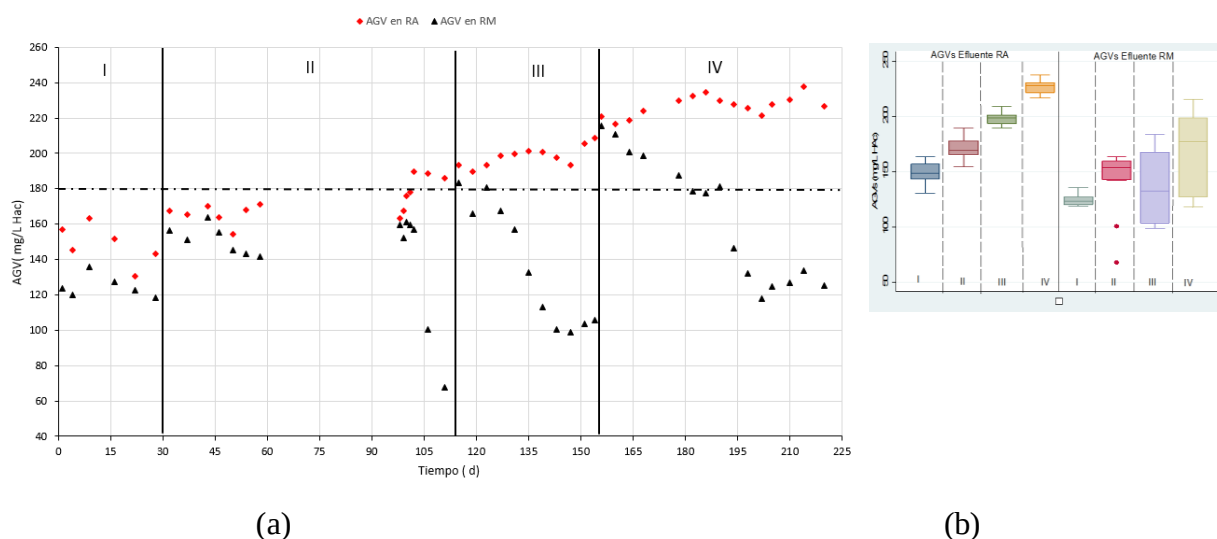
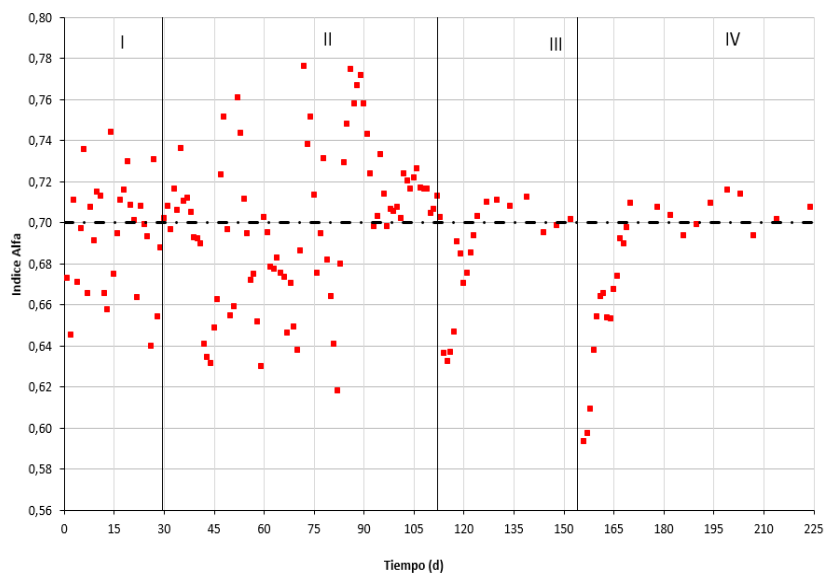


Figura 25. Comportamiento de AGVS en el arranque del SAFS

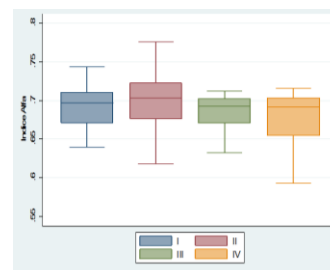
El comportamiento de los AGVs presentado en el RM en general es descendente, llegando hasta un valor mínimo de 118,60 mg/L. Para la etapa I y la primera parte de la etapa II, este comportamiento es poco notable debido a que aún no existía una cantidad suficiente de microorganismos capaces de transformar los AGVs producidos; mientras que para la segunda parte de la etapa II, etapa III y IV el descenso en la concentración de AGVs se hace más pronunciado. Este comportamiento es similar a lo encontrado en la investigación realizada por Ghaly (1996), quien reporta que es el resultado de la adaptación del inoculo, que para el caso del presente estudio, es indicativo de la adaptación de los microorganismos al lactosuero y que las condiciones ambientales en el RM fueron adecuadas.

En general, la concentración de AGVs en el efluente del RM fue baja en comparación con el estudio realizado por Fernández et al. (2015), en donde se reportan valores entre los 500 mg/L y 2.000 mg/L para el tratamiento de lactosuero en un sistema de fases separadas. Adicionalmente, la concentración de AGVs de ésta investigación se encuentra por debajo del umbral de toxicidad metanogénica de 180 mg/L, según lo reportado por Ahring et al. (1995) y Rojas (1999) con excepción de la primera parte de la etapa IV, donde los AGVs se incrementaron hasta un valor máximo de 215,6 mg/L y comenzaron a descender hasta lograr llegar al límite máximo de toxicidad en el día 182. Lo anterior demuestra que en las etapas III y IV, los microorganismos acetogénicos han alcanzado una población suficiente para consumir los AGVs producidos y que el control de pH mediante la adición de solución alcalinizante, resulta efectivo y mantiene la capacidad tampón del sistema. En el día 156, cuando los AGVs alcanzaron su máxima producción, provocando principios de acidificación, la alcalinidad bicarbonática se consumió para neutralizar el efecto de la acumulación de AGVs llegando hasta valores mínimos 587,4 mg/L de CaCO_3 . El comportamiento de la concentración de AGVs en el RM en las etapas III y IV, fue similar al comportamiento de los AGVs presentados en la investigación de Mockaitis et al. (2005), quienes estudiaron el efecto del control de la capacidad tampón mediante adición de alcalinizante en un sistema anaerobio de fases separadas para el tratamiento de lactosuero.

El IB y el $I\alpha$ son indicadores de la estabilidad del proceso anaerobio. Dichos índices sirven para tomar medidas correctivas frente a un posible evento de falla en el reactor (Speece, 1996), las Figuras 26 y 27 muestran su variación y distribución para las diferentes etapas del proceso de arranque del SAFS.



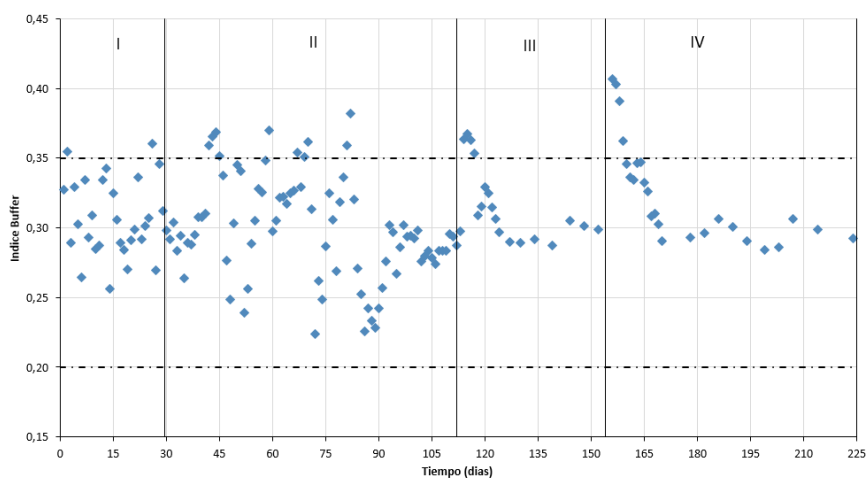
(a)



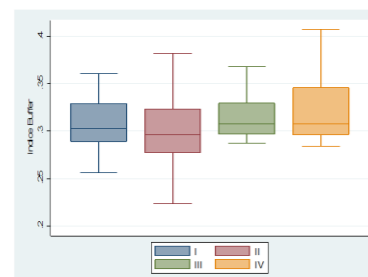
(b)

Figura 26. Comportamiento del $I\alpha$ en el arranque del SAFS

(a) comportamiento del $I\alpha$ en las etapas de arranque. (b) Distribución estadística del $I\alpha$



(a)



(b)

Figura 27. Comportamientos del Índice de buffer en el SAFS

(a) comportamiento del IB en las etapas de arranque. (b) Distribución estadística del IB

El $I\alpha$ corresponde a la relación entre alcalinidad bicarbonática y alcalinidad total, recomendándose valores por encima de 0,5 para el arranque y valores de 0,7 para condiciones de estabilidad (Jenkins et al, 1983). Observando la Figura 26a se infiere que los valores del $I\alpha$ registrados en todas las etapas de arranque fueron superiores a 0,59 garantizando alcalinidad bicarbonática suficiente para neutralizar el exceso de AGVs, en caso de presentarse eventos de aumento drástico de estos ácidos.

En las etapas I y II, se presenta una variación más amplia del $I\alpha$, dado que el 50% de los datos varía entre 0,67 y 0,71 con una desviación de 0,027 para la etapa I y para la etapa II entre 0,67 y 0,72 con desviación de 0,036. Este comportamiento se presenta porque la producción de AGVs en el sistema no fue grande y por tanto, no existió acumulación, lo que demuestra que existió actividad de las bacterias acetogénicas que consumieron los AGVs producidos. En la parte final de la etapa II (a partir del día 104) se comienza a estabilizar el sistema presentándose valores cercanos a los recomendados por la literatura.

Para las etapas III y IV, el análisis del comportamiento del $I\alpha$ se divide en dos partes: al inicio y al final de cada etapa. Al comienzo de cada etapa, se presentan caídas del $I\alpha$ hasta valores cercanos a 0,632 en el día 116 para la etapa III y 0,593 en el día 156 para la etapa IV, por lo que se deduce que existió un consumo de alcalinidad bicarbonática por parte del sistema para neutralizar la acumulación de AGVs que se presentaron por la actividad de las bacterias acidogénicas, que tienen velocidad de crecimiento superior a la de los microorganismos acetogénicos y metanogénicos. Este consumo de alcalinidad no llegó a valores por debajo de los recomendados, que generaran condiciones de inestabilidad de carácter irreversible. Para la parte final de cada una de las etapas, el $I\alpha$ tendió a estabilizarse en valores cercanos a 0,70, a partir de los días 123 y 168 respectivamente para cada etapa, demostrando que la alcalinidad bicarbonática suministrada al RM fue suficiente y por tanto, brindó las condiciones adecuadas para el desarrollo de la metanogénesis, resultado que es acorde con lo reportado por Mockaitis et al. (2005). La variación estadística del $I\alpha$ en cada una de las etapas se presenta en la tabla 14.

Tabla 14. Variación del $I\alpha$ para las etapas de arranque del reactor anaerobio de fases separadas

	Índice α					
	I	II	III		IV	
			I	F	I	F
Promedio	0,693	0,700	0,666	0,705	0,642	0,703
Desviación Estándar	0,027	0,036	0,024	0,006	0,642	0,027

La relación entre la alcalinidad debida a los AGVs y la alcalinidad total se denomina índice Buffer (IB). Este índice representa la capacidad tampón del agua residual y es un indicador de la estabilidad del proceso. Se recomienda que el IB varié entre 0,20 y 0,35; valores por encima de 0,35 indican que el reactor comienza un proceso de acidificación y valores por debajo de 0,2 indican que el reactor está siendo subalimentado (Ripley et al., 1986; Rojas, 1999, Molina, 2007).

Para la etapa I se presentan datos dentro del rango recomendado; el 50% de los datos varía entre 0,28 y 0,32, con una desviación de 0,027. Demostrando que el sistema tenía capacidad tampón suficiente para neutralizar los AGVs, que no se presentaron eventos de acidificación y que el sistema no estaba subalimentado.

Al realizar el cambio de COV en la etapa II, se observa que existe una mayor fluctuación de los valores del IB, variando entre 0,23 y 0,32 (el 50% de los datos), con una desviación de 0,036. Además, en esta etapa se presentaron varios eventos donde el IB alcanzó valores por encima de lo recomendado (días 52,72 y 86), sin embargo los incrementos en el IB fueron contrarrestados rápidamente por la capacidad tampón del sistema y por el consumo de AGVs por parte de los microorganismos acetogénicos. En la parte final de ésta etapa, los valores se encuentran dentro del rango recomendado evidenciando la estabilización del reactor.

En la etapa III, los valores del IB por encima de 0,35 en el día 115, indica que el RM comenzó a acidificarse, situación que disminuyó rápidamente en 3d, demostrando una vez más la capacidad del sistema para recuperarse rápidamente. En la parte inicial de esta etapa el 50% de los datos varía entre 0,31 y 0,36 con una desviación de 0,023. Al final de la etapa

se muestra una tendencia a estabilizarse con valores cercanos a 0,29 (el 50% de los datos varía entre 0,28 y 0,30), con una desviación de 0,007, la cual es mucho menor que la desviación de la parte inicial, evidenciando una vez más la suficiencia de capacidad tampón para neutralizar los AGVs.

Para la etapa IV se presentó un comportamiento similar al de la etapa III, con un evento de acidificación del RM al principio de la etapa en el día 156, el IB disminuyó rápidamente, llegando a estabilizarse en valores por debajo de 0,35 al cabo de 4d como se evidencia en la Figura 27a. Posterior a este evento, los valores oscilan entre 0,29 y 0,30 (el 50% de los datos). La variación de los datos del IB para cada una de las etapas se presenta en la tabla 15.

Tabla 15. Variación del Índice Buffer

	Índice Buffer					
	I	II	III		IV	
			I	F	I	F
Promedio	0,306	0,299	0,337	0,296	0,353	0,296
Desviación Estándar	0,027	0,036	0,023	0,007	0,031	0,008

A pesar del pequeño cambio en la COV de las etapas III y IV, el RM sufre un evento de pérdida de las condiciones de estabilidad, lo que evidencia que el RM es muy susceptible a cambios en la COV, situación que se debe tener en cuenta al momento de arrancar este tipo de reactores con COV más altas.

Con respecto al comportamiento del pH efluente del RM, se evidencia que el 50% de los datos oscila entre 6,5 y 6,7 unidades, lo cual es acorde con lo recomendado por Chernicharo (2007) para el desarrollo adecuado del proceso anaerobio. El pH también fue medido en el afluente del RA, variando entre 4,7 a 5,7 unidades (50% de los datos) y corrobora que el lactosuero es de tipo dulce (Seba, 2013). En el efluente del RA y antes de la adición de solución de bicarbonato, los valores oscilan entre 4,1 y 4,3 unidades evidenciando el proceso de acidificación del lactosuero en el RA. La variación del pH en el arranque del SAFS se muestra en la figura 28.

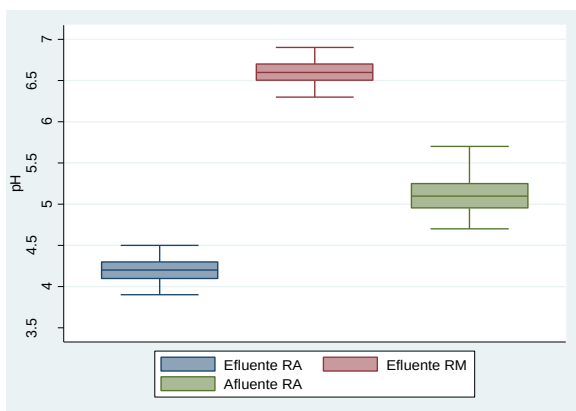
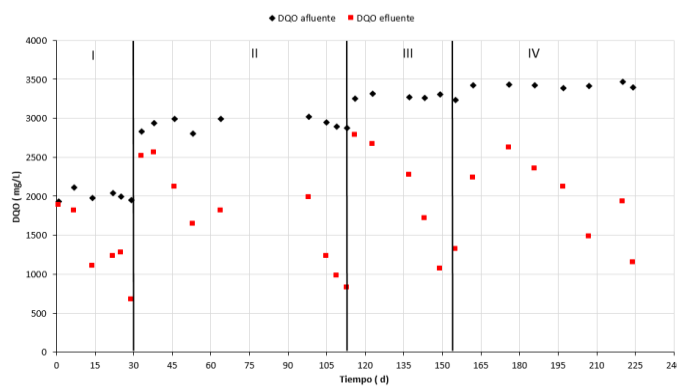


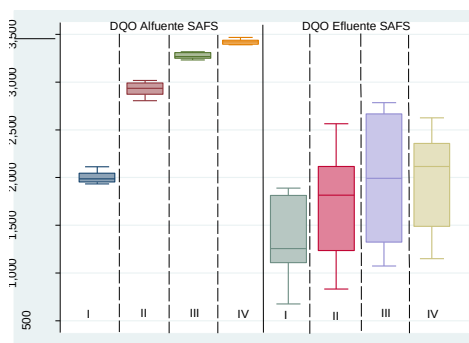
Figura 28. Variación de pH en el arranque del SAFS

4.3. Eficiencias de reducción de materia orgánica en términos de Demanda Química de Oxígeno (DQO) y Sólidos Suspendidos Totales (SST)

Las eficiencias de reducción en términos de DQO y SST, se determinan mediante el seguimiento de estas variables en las 4 etapas de arranque, teniendo en cuenta la estabilidad del sistema de acuerdo con el comportamiento de los índices $I\alpha$ e $I\beta$. En la Figura 29 se muestra el comportamiento de la DQO en el afluente y efluente del sistema, así como su distribución. La DQO en el afluente presenta en cada Etapa, un rango de variación menor en comparación con la DQO efluente. Este comportamiento obedece a que las condiciones de entrada son controladas y se relacionan de manera directa con la COV alimentada al sistema.



(a)



(b)

Figura 29. Comportamiento de DQO en el arranque del SAFS

(a) Comportamiento de DQO en el afluente y efluente del SAFS. (b) Distribución estadística de DQO

La DQO efluente presenta un rango más amplio de variación como la respuesta que tiene el sistema a los diferentes cambios en la COV y los eventos de pérdida de las condiciones de estabilidad presentados durante el arranque, en donde el valor de DQO afluente es cercano al de la DQO efluente, por el proceso de inhibición que se pudo haber presentado. Esto rápidamente fue controlado por la capacidad tampón suministrada al sistema. La menor DQO del efluente se obtuvo en la etapa I con un valor de 675 mg/L (día 29); el mayor valor fue de 2.754 mg/L en el día 116. En la etapa IV se observa que la DQO alcanza un valor máximo de 2.625 mg/L en el día 176, situación que se presenta por las condiciones de inestabilidad del sistema como consecuencia del cambio de COV. Adicionalmente, se considera que el sistema en ese punto del arranque era muy susceptible a cambios de COV, debido a que estaba alcanzando su capacidad máxima de tratamiento. Posterior a este evento, la DQO efluente vuelve a descender hasta alcanzar valores de 1.149 mg/L en el día 224.

Los valores de DQO efluente obtenidos en las cuatro etapas desciende hasta 932,25 mg/L. Comparando este valor con el valor máximo de DQO (450 mg/L) exigido para industrias lácteas en el Decreto 631 de 2015, se puede inferir que el sistema propuesto no cumple con el valor requerido, sugiriendo realizar un tratamiento adicional al lactosuero para dar cumplimiento con la normatividad.

Como se puede apreciar en la Figura 30, la eficiencia de reducción de DQO tiene un comportamiento en general ascendente desde el comienzo hasta el cambio de COV en cada etapa, con puntos donde los valores son bajos considerando los eventos de desestabilización de las etapas III y IV descritos anteriormente.

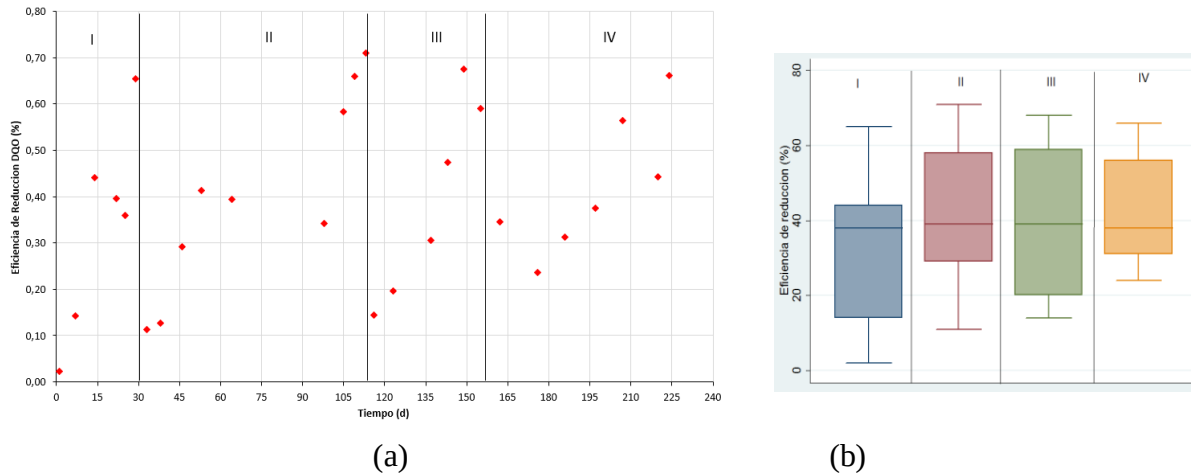


Figura 30. Eficiencia de reducción de DQO en el arranque del SAFS

Una evidencia de la adaptación de los microorganismos anaerobios a lo largo del arranque es el comportamiento de la eficiencia de reducción de DQO, que para el caso de la etapa I presenta valores iniciales entre 14% y 44%, logrando un aumento en 7d y después de 30d se alcanza una eficiencia de 65%, demostrando que el proceso se estaba desarrollando de manera adecuada y que los microorganismos se adaptaron a la COV suministrada.

Al realizar el cambio de COV en la etapa II, la eficiencia desciende a un valor mínimo de 11%, debido a que los microorganismos deben adaptarse a la nueva COV, proceso que tardó alrededor de 10d. Después de este periodo el sistema presentó eficiencias promedio de 40%, alcanzando un valor máximo de 71% en el día 113. La respuesta del sistema en esta etapa fue más lenta que con la carga anterior debido principalmente, a que los microorganismos metanogénicos tienen una velocidad de crecimiento menor en comparación con los demás microorganismos anaerobios, por tal razón la metanogénesis es la etapa limitante en el proceso de arranque.

En la etapa III el comportamiento fue similar al de las etapas anteriores, donde el 50% de los datos oscila entre 20% y 59% con un promedio de 39,8% y una desviación de 21,6, lo que corrobora que el proceso de arranque se llevó a cabo de una manera adecuada, se observa que los microorganismos tardan en promedio 30 d en adaptarse a la nueva COV, siendo este el día 149. Además, en esta etapa se alcanza la máxima estabilidad del sistema,

al no presentarse valores bajos de eficiencia a pesar del evento de acidificación ocurrido entre los días 115 y 117 (descrito en el análisis de los índices de estabilidad). Este comportamiento refleja que el sistema en esta etapa, ha alcanzado un grado de madurez relacionado con un crecimiento y cantidad de microorganismos suficientes para responder adecuadamente a la COV aplicada, este podría ser el primer indicio de que se estaba alcanzando el final del arranque.

Al realizar el cambio de COV de la etapa III a la IV, la eficiencia de reducción comenzó con un valor de 35%, lo cual corrobora que el sistema presenta una mayor adaptación que en las etapas previas, por la presencia de una mayor cantidad de microorganismos metanogénicos en el RM. Sin embargo, en el día 176, se presentó un descenso en la eficiencia de reducción, como respuesta al evento de principio de acidificación que experimenta el sistema, demostrando que en esta etapa, el sistema pierde capacidad de respuesta y por tanto, está en riesgo de perder estabilidad. La capacidad tampón que posee el sistema hace que no se afecten los procesos microbiológicos evitando una acidificación irreversible, esto se ve reflejado en el aumento de la eficiencia de reducción de DQO, al cabo de 10d hasta obtener una máxima reducción del 66% en el día 224.

Durante las cuatro etapas del arranque, los valores máximos de eficiencia superan el 67,5%, lo cual indica que los microorganismos metanogénicos alcanzaron una población suficiente para adaptarse a las COV alimentadas. En la etapa III el sistema alcanzó la eficiencia máxima que esta alrededor de 68% en el día 149, indicando que en esta etapa el sistema alcanzó su máxima capacidad.

El comportamiento de los SST en el periodo de arranque del SAFS se presenta en la Figura 31 al igual que su distribución estadística.

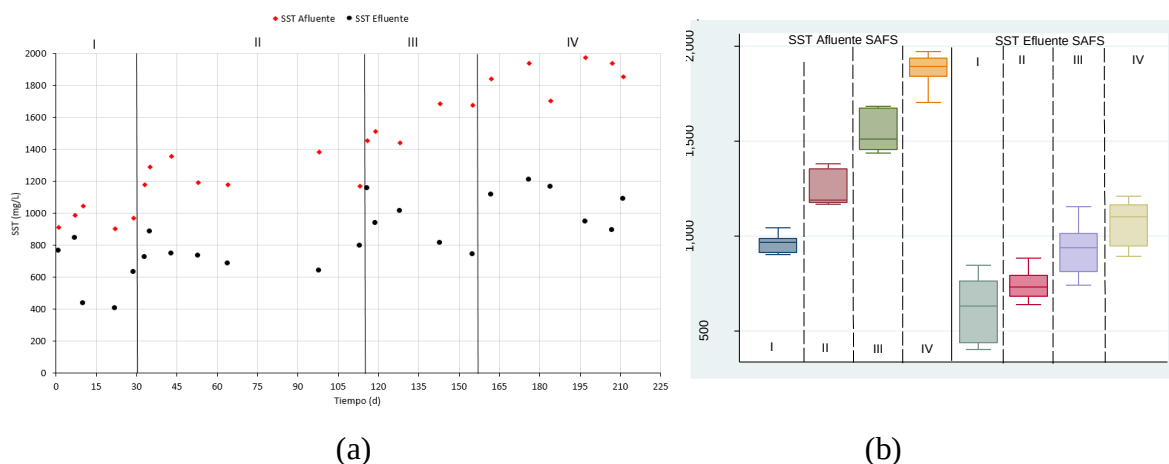


Figura 31. Comportamiento de los SST en el arranque del SAFS
 (a) Comportamiento de SST en el afluente y efluente del SAFS. (b) Distribución estadística de SST

En general, se presenta un amplio rango de variación para los SST en las etapas del estudio. Los SST del afluente tienen una tendencia a incrementarse en la medida que se realiza el aumento de la COV, mientras que los SST en el efluente presentan un comportamiento muy variable con tendencia a disminuir. Al igual que la DQO, los SST también son un parámetro de control en el Decreto 631 de 2015 y su máximo valor para industrias lácteas es de 150 mg/L, que comparado con el promedio mínimo obtenido de cada una de las etapas (669 mg/L), se evidencia el incumplimiento de la normatividad.

La eficiencia de reducción en términos de SST se muestra en la Figura 32, donde se observa que la eficiencia en cada etapa es ascendente y con un amplio rango de variación (ver Figura 32b). En la etapa I la eficiencia varía entre el 16 y 55% (50% de los datos) con un promedio de 35,6% y una desviación del 20,8. En la etapa II las eficiencias oscilan entre el 31% y 45% (50% de los datos) con un promedio de 40% y una desviación del 7,9%, alcanzando un máximo de 54% después de 63 días de iniciada la etapa (día 93 del arranque).

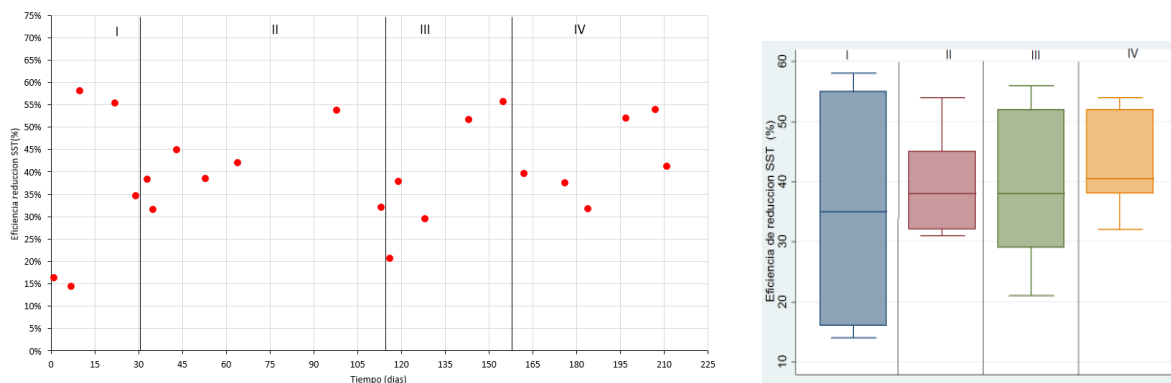


Figura 32. Eficiencia de reducción de SST en el arranque del SAFS

Para la etapa III el comportamiento ascendente de la eficiencia se observa más estable, oscilando entre 29 y 52% y alcanza un valor máximo de 56% en un periodo de 30d (del día 116 al 146 después de iniciado el arranque). Al igual que con la eficiencia de reducción de DQO, es en esta etapa donde se presenta la mejor tendencia estable del sistema y por tanto, es cuando el reactor alcanza las condiciones de estabilidad. En la etapa IV la eficiencia de reducción de SST sufrió un descenso hasta 32% en el día en que se presentó el episodio de inestabilidad y se recupera hasta alcanzar un valor máximo de 54%.

El objetivo principal de la etapa de arranque de un reactor es proveer las condiciones ambientales ideales, para que los microorganismos anaerobios y en especial los metanogénicos, tengan un adecuado crecimiento sin que se presenten eventos de inestabilidad que provoquen fallas en el reactor (Rojas, 1999). Por lo anterior y de acuerdo con el análisis de las variables de respuesta del SAFS, se puede inferir que el sistema alcanza la estabilidad máxima en la Etapa III ($COV = 7,22 \text{ kg/m}^3 \cdot \text{d}$), logrando una eficiencia máxima en términos de DQO y SST de 65,7% y 54% respectivamente.

5. Conclusiones

Objetivo 1

El lactosuero generado en la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”, presenta características fisicoquímicas como DQO y nutrientes como el Nitrógeno y el Fósforo que se ajustan a lo requerido para tratarlo por medio de digestión anaerobia.

La concentración de DQO del lactosuero de la microempresa “*Lácteos La Delicia La Frontera*”, es baja en comparación con las investigaciones revisadas. Esto se debe a que los efluentes de lavado de cantinas y lactosuero no se separan, diluyendo el agua residual; a pesar de esto se presenta un valor elevado de DQO y una alta biodegradabilidad, por su alto contenido de lactosa, proteínas, carbohidratos y grasas, demostrando que el agua residual estudiada es un sustrato factible para el tratamiento anaerobio.

Al comparar la relación necesaria de nutrientes como nitrógeno y fósforo con la presentada por el lactosuero de este estudio, se puede concluir que el lactosuero contiene la cantidad suficiente de nutrientes para desarrollar el proceso de digestión anaerobia.

Los parámetros de pH y alcalinidad bicarbonática demuestran que el lactosuero posee una baja capacidad tampón y por lo tanto, necesita de la adición de una solución alcalinizante como el bicarbonato de sodio para evitar la acidificación e inestabilidad del sistema.

La caracterización inicial del agua residual constituye el primer paso para seleccionar un sistema de tratamiento determinado; esto determinara la certeza de las condiciones iniciales y los controles necesarios para llevar a cabo un tratamiento exitoso.

Objetivo 2

La digestión anaerobia es un proceso que se desarrolla de manera más rápida a temperaturas superiores a 25 °C; en esta investigación se encontró que el proceso de adaptación y crecimiento de los microorganismos anaerobios, se puede desarrollar de manera más lenta a temperaturas que oscilan entre 11°C y 15°C.

La separación de fases propuesta en este estudio resulta beneficiosa para el proceso de digestión, ya que al arrancar previamente el RA, se desarrolla de manera adecuada las fases

de hidrólisis y acetogénesis, contribuyendo a la generación de metabolitos como los AGVs, necesarios para las siguientes fases de la digestión anaerobia.

La adición de solución alcalinizante de bicarbonato de sodio en el afluente del RM resultó efectiva para controlar los principios de acidificación presentados durante el arranque del SAFS y con esto, lograr que el crecimiento de los microorganismos metanogénicos se desarrolle de manera óptima.

El monitoreo de los índices $I\alpha$ e IB en agua residual fácilmente acidificables como el lactosuero, resultó ser de gran utilidad para tomar medidas preventivas ante los posibles eventos de acidificación del SAFS y mantener las condiciones de estabilidad necesarias para el adecuado desarrollo de los procesos de digestión anaerobia.

Objetivo 3

El proceso de arranque del SAFS para el tratamiento de lactosuero, se desarrolló de manera adecuada, alcanzando las condiciones máximas de operación con COV promedio de 7,22 kg/m³*d, logrando eficiencias de reducción de DQO y SST de 67,5% y 54% respectivamente.

El objetivo del proceso de arranque del SAFS para el tratamiento de lactosuero fue lograr las condiciones ambientales necesarias para que los microorganismos anaerobios involucrados tengan un crecimiento adecuado y puedan reducir la materia orgánica presente en el agua residual. En este estudio se alcanzaron eficiencias de reducción que no cumplen con los lineamientos normativos y por tanto, se debe buscar un tratamiento adicional para conseguir el cumplimiento de los parámetros del Decreto 631 de 2015

El desarrollo de la digestión anaerobia y específicamente de la metanogénesis, es la etapa crítica en un proceso de arranque, por lo que se debe tener en cuenta que los cambios de COV realizados se realicen de manera controlada para garantizar las condiciones de estabilidad.

6. Recomendaciones

En regiones de clima frío, donde la baja temperatura puede retardar el crecimiento de los microorganismos anaerobios, se recomienda la construcción de una barrera tal como un invernadero o el enterramiento del sistema de tratamiento, para disminuir la variación de la temperatura y acelerar los procesos de digestión anaerobia.

Se recomienda la construcción de humedal artificial como tratamiento complementario al sistema anaerobio de fases separadas, para dar cumplimiento de la normatividad de vertimientos vigentes.

Para evaluar el SAFS con COV más altas que las estudiadas en esta investigación, se recomienda realizar un estricto seguimiento a parámetros de control como los índices $I\alpha$ e IB y control de la producción de AGVs para evitar la desestabilización y falla del sistema.

7. Bibliografía

- Acosta, Y. L., & Obaya, M. C. (2005). La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I. *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar IDCA. Sobre los derivados de la Caña de Azúcar*. 1 (23), 35-48.
- Ahring, B. K., Sandberg, M., & Angelidaki, I. (1995). Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43(3), 559-565.
- Alais, C. (2003). *Ciencia de la Leche*. Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Alves, M. M., Pereira, M. A., Mota, M., Novais, J. M., & Colleran, E. (1998). Staged and non-staged anaerobic filters: microbial activity segregation, hydrodynamic behavior and performance. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 73, 99-108
- Arango, O. & Sanches, L. (2009). "Tratamiento de aguas residuales de la industria láctea en sistemas anaerobios tipo UASB. *Facultad de Ciencias Agropecuarias Universidad de Nariño*. 7(2), 25-31.
- Argoti, A., Belalcázar, N. & Narváez, W. (2014). Problemática económica y social de la cadena láctea en los contextos internacionales, nacionales y regionales. *Revista UNIMAR*, 32(1), 23-43.
- Arroyave, G. (1996). Factibilidad de depuración de aguas residuales del proceso de extracción de almidón de yuca utilizando un sistema de digestión anaerobia de fases separadas (tesis pregrado). Universidad del Valle, Valle del Cauca, Colombia.
- Aslanzadeh, S., Rajendran, K., & Taherzadeh, M. J. (2014). A comparative study between single-and two-stage anaerobic digestion processes: Effects of organic loading rate and hydraulic retention time. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 95, 181-188.
- Bretón, E. (2014). Modelamiento matemático de la producción de biogás a partir de lactosuero (tesis pregrado). Universidad Veracruzana, Xalapa, Mexico.
- Besel, S. A. (2007). Biomasa: Digestores anaerobios. *Instituto para la Diversificación y Ahorro de la Energía, IDAE* 1(1), 27-28.
- Bezerra Jr, R. A., Rodrigues, J. A., Ratusznei, S. M., Zaiat, M., & Foresti, E. (2007). Whey treatment by AnSBBR with circulation: effects of organic loading, shock loads, and alkalinity supplementation. *Applied biochemistry and biotechnology*, 143(3), 257-275.

- Bo, Z., Wei-min, C., & Pin-jing, H. E. (2007). Influence of lactic acid on the two-phase anaerobic digestion of kitchen wastes. *Journal of Environmental Sciences*, 19(2), 244-249.
- Calpa J. E., & López D.A. (2008). Formulación del plan de manejo ambiental para la planta de acopio Alimentos del Valle" ALIVAL SA" Pasto-Nariño (tesis especialización) San Juan de Pasto, Colombia.
- Carvalho, F., Prazeres, A. R., & Rivas, J. (2013). Cheese whey wastewater: characterization and treatment. *Science of the total Environment*, 445, 385-396.
- Caicedo, F. (2006). Diseño, construcción y arranque de un reactor UASB piloto para el tratamiento de lixiviados (tesis de especialización). Universidad Nacional de Colombia Sede Manizales, Caldas, Colombia.
- Chae, K. J., Jang, A. M., Yim, S. K., & Kim, I. S. (2008). The effects of digestion temperature and temperature shock on the biogas yields from the mesophilic anaerobic digestion of swine manure. *Bioresource Technology*, 99(1), 1-6.
- Chatzipaschali, A. A. & Stamatis, A. G. (2012). Biotechnological Utilization with a Focus on Anaerobic Treatment of Cheese Whey: Current Status and Prospects. *Energies*, 5, 3492-3525.
- Chen, Y., Cheng, J. J., & Creamer, K. S. (2008). Inhibition of anaerobic digestion process: a review. *Bioresource technology*, 99(10), 4044-4064.
- Chernicharo, C. A. (2007). *Anaerobic Reactors*. Minas Gerais, Brasil: IWA Publishing.
- Coelho, N., Rodríguez, A., Arroja, L. & Capela, I. (2007). Effect of non-feeding period length on the intermittent operation of UASB reactors treating Dairy effluents. *Biotechnology and Bioengineering*. 96, 244 – 249.
- Córdoba, P. R., Francese, A. P., & Siñeriz, F. (1995). Improved performance of a hybrid design over an anaerobic filter for the treatment of dairy industry wastewater at laboratory scale. *Journal of fermentation and bioengineering*, 79(3), 270-272.
- Dareioti, M.A., & Kornaros, M. (2015). Anaerobic mesophilic co-digestion of ensiled sorghum, cheese whey and liquid cow manure in a two-stage CSTR system: Effect of hydraulic retention time. *Bioresource technology*, 175, 553-562.
- Dareioti, M., Dokianakis, S., Stamatelatos, K., Zafiri, c. & Kornaros, M. (2009). Biogás production from anaerobic co-digestión of agroindustrial wastewaters under mesophilic condition in a two-stages process. *Desalination*, 248, 891-906.
- Dębowski, M., Korzeniewska, E., Filipkowska, Z., Zieliński, M., & Kwiatkowski, R. (2014). Possibility of hydrogen production during cheese whey fermentation

process by different strains of psychrophilic bacteria. *International journal of hydrogen energy*, 39(5), 1972-1978.

Demirel, B., & Yenigün, O. (2002). Two-phase anaerobic digestion processes: a review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77(7), 743-755.

Demirel, B., Yenigun, O., & Onay, T. T. (2005). Anaerobic treatment of dairy wastewaters: a review. *Process Biochemistry*, 40(8), 2583-2595.

Demirer, G. N., Duran, M., Güven, E., Ugurlu, Ö., Tezel, U., & Ergüder, T. H. (2000). Anaerobic treatability and biogas production potential studies of different agro-industrial wastewaters in Turkey. *Biodegradation*, 11(6), 401-405.

De Haast, J., Britz, T. J., Novello, J. C., & Verwey, E. W. (1985). Anaerobic digestion of deproteinated cheese whey. *Journal of dairy research*, 52(03), 457-467.

Díaz-Báez, M., Espitia, S., & Molina, F. (2002). *Digestión Anaerobia una aproximación a la Tecnología*. Bogotá, Colombia: Editorial Unibiblios.

Dinsdale, R. M., Hawkes, F. R., & Hawkes, D. L. (1997). Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion with thermophilic pre-acidification of instant-coffee-production wastewater. *Water Research*, 31(8), 1931-1938.

Fang, H. H., & Yu, H. Q. (2000). Effect of HRT on mesophilic acidogenesis of dairy wastewater. *Journal of environmental engineering*, 126(12), 1145-1148.

Fernández, P. (2007). Recuperación de agua y de agentes de limpieza industrial: diseño de un sistema integrado con membranas para la recuperación de detergentes de fase única. (Tesis doctoral). Universidad de Oviedo, Oviedo, España.

Fernández, C., Cuetos, M., Martínez, E., & Gómez, X. (2015). Thermophilic anaerobic digestion of cheese whey: Coupling H₂ and CH₄ production. *Biomass and Bioenergy*, 81, 55-62.

Field, J. (1987). *Arranque y operación de sistemas de flujo ascendente con manto de lodo-UASB: Manual del curso*. Universidad del Valle, CVC, Universidad Agrícola de Wageningen, Cali, Colombia

Flotats, X. (2010). Biogás y gestión de deyecciones ganaderas. *International Veterinary Information Service IVIS*, 22 (72), 23-28.

Freund, J. E., Miller, I., & Miller, M. (2000). *Estadística matemática con aplicaciones*. México DF; México: Pearson Education.

- Gannoun H, Khelifi E, Bouallagui H, Touhami & Hamdi M. (2008). Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in up-flow anaerobic filter. *Bioresource Technology*; 99:6105–11.
- García, R., Quintero, A. & Munguía, C. (2002). *Biotecnología alimentaria*. México: Limusa. 159-209.
- García, P. A., Rico, J. L., & Fdz-Polanco, F. (1991). Anaerobic treatment of cheese whey in a two-phase UASB reactor. *Environmental technology*, 12(4), 355-362.
- Gavala, H. N., Kopsinis, H., Skiadas, I. V., Stamatelatou, K., & Lyberatos, G. (1999). Treatment of dairy wastewater using an up flow anaerobic sludge blanket reactor. *Journal of agricultural engineering research*, 73(1), 59-63.
- Gelegenis, J., Georgakakis, D., Angelidaki, I., & Mavris, V. (2007). Optimization of biogas production by co-digesting whey with diluted poultry manure. *Renewable Energy*, 32(13), 2147-2160.
- Ghaly, A. E. (1996). A comparative study of anaerobic digestion of acid cheese whey and dairy manure in a two-stage reactor. *Bioresource technology*, 58(1), 61-72.
- Guerrero-Rodríguez, W. J., Castilla-Hernández, P., Cárdenas-Medina, K. N., Gómez-Aldapa, C. A., & Castro-Rosas, J. (2012). Degradación anaerobia de dos tipos de lactosuero en reactores UASB. *Tecnología Química Universidad de Hidalgo*, 32(1), 99-106.
- Gutiérrez, J. R., Encina, P. G., & Fdz-Polanco, F. (1991). Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB reactor. *Bioresource technology*, 37(3), 271-276.
- Hernández, H. (2005). Tratamiento de lactosuero hidrolizado por medio de un reactor UASB (tesis pregrado). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Pachuca de Soto, México.
- Ince, O. (1998a). Performance of a two-phase anaerobic digestion system when treating dairy wastewater. *Water Research*, 32, 2707-2713.
- Ince, O. (1998b). Potential energy production from anaerobic digestion of dairy wastewater. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 33, 1219-1228.
- Jenkins, S.R., Morgan, J.M., & Sawyer, C.L. (1983). Measuring anaerobic sludge digestion and growth by simple alkalimetric titration. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 55 (5), 448-453.

- 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
- Kasapgil B., Ince O., & Anderson G.K. (1995). Determination of operating conditions in an anaerobic acid-phase reactor treating dairy wastewaters. Proceedings of the 50th Industrial Waste Conference. Purdue University, Indiana, U.S.A
- Karadag, D., & Puhakka, J. A. (2010). Direction of glucose fermentation towards hydrogen or ethanol production through on-line pH control. *International Journal of Hydrogen Energy*, 35(19), 10245-10251.
- Karadag, D., Köroğlu, O. E., Ozkaya, B., & Cakmakci, M. (2015). A review on anaerobic biofilm reactors for the treatment of dairy industry wastewater. *Process Biochemistry*, 50(2), 262-271.
- Karadag, D., Köroğlu, O. E., Ozkaya, B., Cakmakci, M., Heaven, S., & Banks, C. (2014). A review on fermentative hydrogen production from dairy industry wastewater. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(11), 1627-1636.
- Kavacik, B., & Topaloglu, B. (2010). Biogas production from co-digestion of a mixture of cheese whey and dairy manure. *Biomass and bioenergy*, 34(9), 1321-1329.
- Kim, J., Park, C., Kim, T. H., Lee, M., Kim, S., Kim, S. W., & Lee, J. (2003). Effects of various pretreatments for enhanced anaerobic digestion with waste activated sludge. *Journal of bioscience and bioengineering*, 95(3), 271-275.
- Lettinga, G., Hulshoff, pol, L.W. & Zeeman, G. (1996). Biological Wastewater Treatment. Part I: Anaerobic Wastewater Treatment. Lecture Notes. Wageningen Agricultural University, edn January 1996.
- Lettinga, G., Rebac, S., & Zeeman, G. (2001). Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. *TRENDS in Biotechnology*, 19(9), 363-370.
- Lin, C. Y., Sato, K., Noike, T., & Matsumoto, J. (1986). Methanogenic digestion using mixed substrate of acetic, propionic and butyric acids. *Water Research*, 20(3), 385-394.
- Mawson, A.J. (1994). Bioconversions for whey utilization and waste abatement. *Bioresour. Technol.* 47, 195–203.
- Maharaj, I. J. (1999). Acid-phase anaerobic digestion of primary sludge: the role of hydraulic retention time (HRT), temperature and a starch-rich industrial wastewater (Doctoral dissertation, University of Manitoba).
- Malina, J., & Pohland F. (1992). *Design of anaerobic processes for treatment of industrial and municipal waste*. Washington, Estados Unidos: CRC Press.

- Mejía, F. (2012). Prospectiva de la Cadena Láctea del Departamento de Nariño al Horizonte del Año 2020. *Tendencias*, 13(1), 36-54.
- Metcalf & Eddy (1991). *Wastewater Engineering - Treatment, Disposal and Reuse*, ed. Revised by G. Tchobanoglous and F.L. Burton. McGraw-Hill, hc., St. Louis.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, MADR & Unidad de Seguimiento de Precios de la Leche - USP. (2012). *Boletín mensual octubre de 2012*. Bogotá: MADR. Recuperado de: http://www.cnl.org.co/index.php?option=com_remository&Itemid=&func=startdown&id=964
- Mockaitis, G., Ratusznei, S. M., Rodrigues, J. A., Zaiat, M., & Foresti, E. (2006). Anaerobic whey treatment by a stirred sequencing batch reactor (ASBR): effects of organic loading and supplemented alkalinity. *Journal of Environmental Management*, 79(2), 198-206.
- Molina, F. (2007). Comportamiento dinámico de digestores anaerobios (tesis doctoral) Universidad Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.
- Moreno, E.I. (2012). Plan de Desarrollo “Es Tiempo de Avanzar” Municipio de Pupiales. Recuperado de: <http://www.pupiales-narino.gov.co/apc-aa-files/34613733323762636639646166313433/plan-de-desarrollo-pupiales-2012-2015.pdf>.
- Najafpour, G. D., Tajallipour, M., Komeili, M., & Mohammadi, M. (2009). Kinetic model for an up-flow anaerobic packed bed bioreactor: dairy wastewater treatment. *African Journal of Biotechnology*, 8(15).
- Ng, W. J., Hu, J. Y., Ong, S. L., & Aziz, M. A. (1999). Effect of acidogenic stage on aerobic toxic organic removal. *Journal of environmental engineering*, 125(6), 495-500.
- Omil, F., Garrido, J. M., Arrojo, B., & Méndez, R. (2003). Anaerobic filter reactor performance for the treatment of complex dairy wastewater at industrial scale. *Water Research*, 37(17), 4099-4108.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2015). Perspectivas Alimentarias. Resúmenes Alimentarios. Boletín Mayo 2015. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/b-i4581s.pdf>.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2013). Situación de la lechería en América Latina y el Caribe en 2011. Recuperado de:

http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Dairy/Documents/Paper_Lecher%C3%ADa_AmLatina_2011.pdf.

- Parra, R. (2010). Digestión Anaerobia de Lactosuero: Efecto de Altas Cargas Puntuales *Revista Facultad Nacional de Agronomía* 63, 5385-5394.
- Patil, S., Ghasghse, N., Nashte, A., Kanase, S., & Powar, R. (2012). Anaerobic digestion treatment of cheese whey for production of methane in a two stage up-flow packed bed reactor. *International Journal of Advanced Science*, 1, 1-7.
- Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. (2012). Cheese whey management: a review. *Journal of Environmental Management*, 110, 48-68.
- Pohland, F. G., & Ghosh, S. (1971). Developments in anaerobic treatment processes. *Biotechnol BioengSymp* (Vol. 2, No. 85, p. 106).
- PROEXPORT Colombia (2011). Sector Lácteo en Colombia. Recuperado de: <http://portugalcolombia.Com/media/Perfil-Lácteo-Colombia.pdf>.
- Rajinikanth, R., Ganesh, R., Escudie, R., Mehrotra, I., Kumar, P., Thanikal, J. V., & Torrijos, M. (2009). High rate anaerobic filter with floating supports for the treatment of effluents from small-scale agro-food industries. *Desalination and Water Treatment*, 4(1-3), 183-190.
- Ranalli, G.; Andreoni, V; Bonfanti, P; Corradini, S & Sordini, C. (1995). Anaerobic digestion of cheese whey in a two stage reactor. *American Society of Agricultural Engineers*. Vol. 7, 347-356
- Rico, C., Muñoz, N., Fernández, J., & Rico, J. L. (2015). High-load anaerobic co-digestion of cheese whey and liquid fraction of dairy manure in a one-stage UASB process: limits in co-substrates ratio and organic loading rate. *Chemical Engineering Journal*, 262, 794-802.
- Ripley, L. E., Boyle, W. C., & Converse, J. C. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Journal (Water Pollution Control Federation)*, 406-411.
- Rodgers, M., Zhan, X. M., & Dolan, B. (2004). Mixing characteristics and whey wastewater treatment of a novel moving anaerobic biofilm reactor. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 39(8), 2183-2193.
- Rojas, O. (1999). Evaluación del comportamiento de tres sistemas de tratamiento anaerobia para la epuración de las aguas residuales del proceso de extracción de yuca (tesis maestría). Universidad del Valle, Cali, Colombia.

- Rozzi, A. (1986). Parámetros de operación y control de los procesos anaeróbicos. Tercer Seminario sobre depuración anaeróbica de aguas residuales, Valladolid, España.
- Saddoud, A., Hassaïri, I., & Sayadi, S. (2007). Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. *Bioresource technology*, 98(11), 2102-2108
- Seba, E. (2013). Evaluacion de un sistema lagunar in situ a escala piloto para el tratamiento de aguas residuales lácteas del municipio de Miahuatlán (tesis de pregrado). Universidad Veracruzana, Veracruz, Mexico.
- Selvam, A., Xu, S.Y., Gu, X.Y., & Wong, J.W.C., (2010). Food waste decomposition in leach bed reactor: role of neutralizing solutions on the leachate quality. *Bioresour. Technol.* 101 (6), 1707–1714.
- Speece, R. E. (1996). *Anaerobic biotechnology for industrial wastewaters*. Archae Press.
- Standard Method for the Examination of water and wastewater, 21th edition (2005). American Public Health Association, Washington.
- Sterritt, R. M., & Lester, J. N. (1980). Interactions of heavy metals with bacteria. *Science of the Total Environment*, 14(1), 5-17.
- Traversi, D., Bonetta, S., Degan, R., Villa, S., Porfido, A., Bellero, M. & Gilli, G. (2013). Environmental advances due to the integration of food industries and anaerobic digestion for biogas production: perspectives of the Italian milk and dairy product sector. *Bioenergy Research*, 6(3), 851-863.
- Torres, A. (2010). Distribuidora de productos Alpina en 7 zonas seleccionadas del sur de Bogotá (tesis especialización). Universidad de la Sabana, Bogotá, Colombia.
- Van Haandel, A. C. y Lettinga, G. (1994). Anaerobic Sewage Treatment. A practical guide for regions with a hot climate. John Wiley and sons. Gran Bretaña.
- Van Lier, J. B., Boersma, F., Debets, M. M. W. H., & Lettinga, G. (1994). High rate thermophilic anaerobic wastewater treatment in compartmentalized up-flow reactors. *Water Science and Technology*, 30(12), 251-261.
- Venetsaneas, N., Antonopoulou, G., Stamatelatou, 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, 3713-7.

- Viraraghavan, T., & Kikkeri, S. R. (1991). Dairy wastewater treatment using anaerobic filters. Canadian Society for Bioengineering. Recuperado de: http://csbe-scgab.ca/docs/journal/33/33_1_143_ocr.pdf.
- Wackerly, D.D., Mendenhall W., & Scheaffer R.L. (1994). *Estadística matemática con aplicaciones*. Mexico DF, Mexico: Cengage Learnign.
- Wang, K. (1994). Integrated Anaerobic and Aerobic treatment of Sewage. Ph.D. Thesis. Wageningen Agricultural University, Wageningen, the Netherlands
- Wang, K., Yin, J., Shen, D., & Li, N. (2014). Anaerobic digestion of food waste for volatile fatty acids (VFAs) production with different types of inoculum: effect of pH. *Bioresource technology*, 161, 395-401.
- Ward, A. J., Hobbs, P. J., Holliman, P. J., & Jones, D. L. (2008). Optimization of the anaerobic digestion of agricultural resources. *Bioresource technology*, 99(17), 7928-7940.
- Wittmann, C., Zeng, A. P., & Deckwer, W. D. (1995). Growth inhibition by ammonia and use of a pH-controlled feeding strategy for the effective cultivation of *Mycobacterium chlorophenolicum*. *Applied microbiology and biotechnology*, 44(3-4), 519-525.
- Wu, Y., Ma, H., Zheng, M., & Wang, K. (2015). Lactic acid production from acidogenic fermentation of fruit and vegetable wastes. *Bioresource technology*, 191, 53-58.
- Wu, Y., Wang, C., Liu, X., Ma, H., Wu, J., Zuo, J., & Wang, K. (2016). A new method of two-phase anaerobic digestion for fruit and vegetable waste treatment. *Bioresource technology*, 211, 16-23.
- Yadav, J. S. S., Yan, S., Pilli, S., Kumar, L., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2015). Cheese whey: A potential resource to transform in to bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. *Biotechnology advances*, 33(6), 756-774.
- Yan, J. Q., Lo, K. V., & Liao, P. H. (1990). Anaerobic digestion of cheese whey using an up-flow anaerobic sludge blanket reactor: III. Sludge and substrate profiles. *Biomass*, 21(4), 257-271.
- Yang, K., Yu, Y., & Hwang, S. (2003). Selective optimization in thermophilic acidogénesis of cheese-whey wastewater to acetic and butyric acids: partial acidification and methanation. *Water Research*, 37(10), 2467-2477.
- Yilmazer, G., & Yenigün, O. (1999). Two-phase anaerobic treatment of cheese whey. *Water Science and Technology*, 40(1), 289-295.

Zambrano Franco, D. A., Rodríguez Valencia, N., López Posada, U., Orozco, P. A., Zambrano Giraldo, A. J., Flood, J., & Posada Flórez, F. J. (2006). *Tratamiento anaerobio de las aguas mieles del café* (No. 633.74 C667s). Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Chinchiná Colombia.

Zambrano Franco, D., Isaza-Hinestroza, J., Rodríguez-Valencia, N. & López-Posada, U. (1999). *Tratamiento de aguas residuales del lavado del café* Boletín No 20. Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, Centro Nacional de Investigaciones de Café, Chinchiná Colombia.

Zayed, G., & Winter, J. (2000). Inhibition of methane production from whey by heavy metals—protective effect of sulfide. *Applied microbiology and biotechnology*, 53(6), 726-731.

APÉNDICES

Apéndice 1. Datos Características Fisicoquímicas de lactosuero microempresa" Lácteos La Delicia La Frontera".

Fecha	DQO (mg/L)	NAT (mg/L)	Fósforo (mg/L)	pH	Alcalinidad Total (mg/L)	Alcalinidad Bicarbonática (mg/L)
17/04/14	46.933,15	323	47	5,24	730,3	143,4
19/04/14	45.226,49	367	43	5,10	780,6	132,9
21/04/14	46.102,76	311	39	5,69	737,8	127,5
23/04/14	47.105,51	297	35	5,67	740,5	112,7
25/04/14	46.711,17	345	45	5,19	717,3	148,8

Apéndice 2. Datos de COV, Temperatura y pH medidos durante el Arranque del Reactor Acidogénico

Día	COV (kg/m3*d)	Temperatura (°C)	pH Afluente	pH Efluente	AGVs (mg/L Hac)
1,00	12,85	7,00	5,30	4,10	88,64
2,00	12,85	7,00	5,40	4,10	210,53
3,00	12,85	8,00	5,00	4,20	-
4,00	12,85	8,00	5,30	4,30	-
5,00	13,14	8,00	4,80	4,00	-
6,00	13,14	9,00	4,70	3,90	255,26
7,00	13,14	11,00	4,90	3,90	334,15
8,00	13,14	9,00	5,10	4,00	-
9,00	13,41	8,00	5,00	4,00	-
10,00	13,41	8,00	5,00	4,00	-
11,00	13,41	8,00	4,70	4,20	-
12,00	13,41	6,00	4,70	4,20	386,36
13,00	13,41	9,00	4,80	4,20	-
14,00	13,41	9,00	4,90	4,00	404,65
15,00	13,41	11,00	5,30	4,00	-
16,00	13,90	12,00	5,40	4,00	-
17,00	13,90	11,00	5,30	3,90	-
18,00	13,90	9,00	5,40	4,10	-
19,00	13,90	9,00	4,80	4,10	-
20,00	14,04	7,00	4,80	4,20	387,33
21,00	14,36	6,00	4,80	4,20	533,40
22,00	14,36	6,00	4,70	4,30	-
23,00	13,79	7,00	4,70	4,00	821,05
24,00	13,79	7,00	4,70	4,00	-
25,00	13,79	7,00	4,90	4,20	803,70
26,00	13,45	8,00	4,80	3,90	-
27,00	13,45	8,00	4,90	3,90	1162,11
28,00	14,66	9,00	5,00	4,00	-
29,00	14,66	8,00	5,10	4,00	-
30,00	15,74	9,00	5,30	4,00	1097,60
31,00	17,59	9,00	5,40	4,20	1231,60
32,00	17,59	8,00	5,30	4,10	-
33,00	17,43	8,00	5,30	4,20	-
34,00	17,43	6,00	5,00	4,10	1661,11
35,00	18,45	6,00	4,90	4,10	-

Día	COV (kg/m3*d)	Temperatura (°C)	pH Afluente	pH Efluente	AGVs (mg/L Hac)
36,00	18,45	11,00	4,90	4,00	-
37,00	18,14	12,00	5,00	4,00	1778,95
38,00	18,14	12,00	5,10	3,90	-
39,00	18,14	12,00	5,20	4,00	-
40,00	18,14	10,00	5,50	4,00	2121,05
41,00	18,27	10,00	4,70	3,90	2730,6
42,00	25,45	9,00	4,70	4,10	-
43,00	25,45	9,00	4,60	4,20	-
44,00	27,34	11,00	4,60	4,10	3421,05
49,00	27,34	12,00	4,70	4,10	4105,26
54,00	29,52	12,00	4,60	4,20	5055,56
59,00	29,52	9,00	4,90	4,30	6157,89
63,00	28,79	8,00	4,90	3,90	7526,32

Apéndice 3. Datos de Índice Buffer e Índice Alfa ($I\alpha$) medidos durante el arranque del SAFS

Día	Temperatura (°C)	Alc. Total (mg/L CaCO ₃)	Alc. Bicarbonática (mg/L CaCO ₃)	Alc. AGVs	IB	$I\alpha$
1,00	10,00	1030,45	693,34	337,11	0,33	0,67
2,00	11,00	1154,65	744,98	409,67	0,35	0,65
3,00	11,00	1112,54	790,88	321,66	0,29	0,71
4,00	12,00	1153,43	773,90	379,53	0,33	0,67
5,00	11,00	984,23	686,33	297,90	0,30	0,70
6,00	13,00	913,76	672,11	241,65	0,26	0,74
7,00	13,00	997,13	663,75	333,38	0,33	0,67
8,00	13,00	1080,65	764,31	316,34	0,29	0,71
9,00	13,00	1134,73	784,08	350,65	0,31	0,69
10,00	14,00	1067,14	762,96	304,18	0,29	0,71
11,00	13,00	1107,89	789,72	318,17	0,29	0,71
12,00	14,00	1086,12	722,88	363,24	0,33	0,67
13,00	15,00	1164,45	765,56	398,89	0,34	0,66
14,00	15,00	998,83	743,14	255,69	0,26	0,74
15,00	15,00	1134,12	765,48	368,64	0,33	0,67
16,00	15,00	1128,97	783,97	345,00	0,31	0,69
17,00	14,00	1117,85	794,56	323,29	0,29	0,71
18,00	14,00	1084,61	776,32	308,29	0,28	0,72
19,00	12,00	1033,70	754,51	279,19	0,27	0,73
20,00	12,00	1021,62	723,88	297,74	0,29	0,71
21,00	11,00	998,30	699,75	298,55	0,30	0,70
22,00	11,00	1104,76	733,26	371,50	0,34	0,66
23,00	11,00	1083,19	767,07	316,12	0,29	0,71
24,00	10,00	1075,37	751,65	323,72	0,30	0,70
25,00	10,00	994,67	689,54	305,13	0,31	0,69
26,00	11,00	1183,40	756,97	426,43	0,36	0,64
27,00	12,00	1045,43	763,76	281,67	0,27	0,73
28,00	12,00	987,65	645,86	341,79	0,35	0,65
29,00	13,00	966,11	664,34	301,77	0,31	0,69
30,00	13,00	1004,56	705,11	299,45	0,30	0,70
31,00	14,00	1023,98	724,98	299,00	0,29	0,71
32,00	15,00	1069,86	745,12	324,74	0,30	0,70
33,00	15,00	1103,45	790,45	313,00	0,28	0,72
34,00	16,00	1110,45	783,98	326,47	0,29	0,71
35,00	17,00	1073,52	790,33	283,19	0,26	0,74
36,00	17,00	991,34	704,53	286,81	0,29	0,71
37,00	15,00	980,87	698,12	282,75	0,29	0,71
38,00	13,00	979,67	690,65	289,02	0,30	0,70
39,00	14,00	1023,54	708,87	314,67	0,31	0,69
40,00	14,00	997,43	690,27	307,16	0,31	0,69
41,00	14,00	1015,76	700,76	315,00	0,31	0,69
42,00	14,00	1101,45	705,67	395,78	0,36	0,64
43,00	17,00	1104,60	700,87	403,73	0,37	0,63

Día	Temperatura (°C)	Alc. Total (mg/L CaCO3)	Alc. Bicarbonática (mg/L CaCO3)	Alc. AGVs	IB	Ia
44,00	17,00	1100,32	694,87	405,45	0,37	0,63
45,00	13,00	1096,41	711,32	385,09	0,35	0,65
46,00	13,00	1099,78	728,63	371,15	0,34	0,66
47,00	13,00	1045,32	756,21	289,11	0,28	0,72
48,00	13,00	1033,28	776,54	256,74	0,25	0,75
49,00	15,00	1003,97	699,33	304,64	0,30	0,70
50,00	17,00	1054,91	690,75	364,16	0,35	0,65
51,00	17,00	1066,11	702,76	363,35	0,34	0,66
52,00	16,00	1034,87	787,59	247,28	0,24	0,76
53,00	17,00	1029,77	765,74	264,03	0,26	0,74
54,00	13,00	1007,56	716,86	290,70	0,29	0,71
55,00	11,00	993,93	690,45	303,48	0,31	0,69
56,00	11,00	997,45	670,30	327,15	0,33	0,67
57,00	11,00	984,57	664,26	320,31	0,33	0,67
58,00	11,00	990,44	645,64	344,80	0,35	0,65
59,00	10,00	1000,96	630,52	370,44	0,37	0,63
60,00	10,00	1010,49	709,87	300,62	0,30	0,70
61,00	10,00	1004,71	698,38	306,33	0,30	0,70
62,00	11,00	1025,76	695,81	329,95	0,32	0,68
63,00	13,00	1056,58	715,87	340,71	0,32	0,68
64,00	13,00	1098,10	749,76	348,34	0,32	0,68
65,00	13,00	1107,53	747,96	359,57	0,32	0,68
66,00	13,00	1137,84	765,98	371,86	0,33	0,67
67,00	13,00	1158,98	748,83	410,15	0,35	0,65
68,00	13,00	1120,87	751,54	369,33	0,33	0,67
69,00	14,00	1176,30	763,45	412,85	0,35	0,65
70,00	14,00	1149,12	733,19	415,93	0,36	0,64
71,00	14,00	1085,76	745,30	340,46	0,31	0,69
72,00	15,00	1006,45	781,32	225,13	0,22	0,78
73,00	15,00	998,34	736,87	261,47	0,26	0,74
74,00	17,00	990,72	744,66	246,06	0,25	0,75
75,00	17,00	1000,83	714,02	286,81	0,29	0,71
76,00	18,00	1046,96	706,87	340,09	0,32	0,68
77,00	18,00	1086,13	754,32	331,81	0,31	0,69
78,00	18,00	1033,21	755,67	277,54	0,27	0,73
79,00	18,00	1091,43	744,12	347,31	0,32	0,68
80,00	17,00	1105,14	733,86	371,28	0,34	0,66
81,00	17,00	1118,79	716,90	401,89	0,36	0,64
82,00	17,00	1134,66	701,34	433,32	0,38	0,62
83,00	15,00	1174,34	798,45	375,89	0,32	0,68
84,00	15,00	1098,31	800,76	297,55	0,27	0,73
85,00	15,00	1076,13	804,76	271,37	0,25	0,75
86,00	15,00	1045,30	809,67	235,63	0,23	0,77
87,00	15,00	1058,13	801,74	256,39	0,24	0,76
88,00	15,00	1047,25	803,16	244,09	0,23	0,77
89,00	15,00	1051,17	811,23	239,94	0,23	0,77

Día	Temperatura (°C)	Alc. Total (mg/L CaCO3)	Alc. Bicarbonática (mg/L CaCO3)	Alc. AGVs	IB	Ia
90,00	16,00	1057,69	801,65	256,04	0,24	0,76
91,00	17,00	1047,75	778,56	269,19	0,26	0,74
92,00	17,00	1067,98	773,20	294,78	0,28	0,72
93,00	17,00	1087,11	758,90	328,21	0,30	0,70
94,00	18,00	1085,10	763,12	321,98	0,30	0,70
95,00	13,00	1045,47	766,45	279,02	0,27	0,73
96,00	13,00	1043,70	745,16	298,54	0,29	0,71
97,00	13,00	1045,70	730,20	315,50	0,30	0,70
98,00	13,00	1047,60	740,10	307,50	0,29	0,71
99,00	13,00	1053,40	743,12	310,28	0,29	0,71
100,00	11,00	1054,20	745,96	308,24	0,29	0,71
101,00	11,00	1056,40	741,68	314,72	0,30	0,70
102,00	10,00	1035,42	749,65	285,77	0,28	0,72
103,00	10,00	1031,60	743,12	288,48	0,28	0,72
104,00	10,00	1035,74	741,87	293,87	0,28	0,72
105,00	10,00	1043,69	753,40	290,29	0,28	0,72
106,00	11,00	1045,63	759,40	286,23	0,27	0,73
107,00	11,00	1048,23	751,30	296,93	0,28	0,72
108,00	11,00	1051,60	753,60	298,00	0,28	0,72
109,00	11,00	1053,20	754,30	298,90	0,28	0,72
110,00	12,00	1055,14	743,12	312,02	0,30	0,70
111,00	12,00	1050,20	741,89	308,31	0,29	0,71
112,00	12,00	1047,15	746,30	300,85	0,29	0,71
113,00	12,00	1045,12	734,50	310,62	0,30	0,70
114,00	13,00	1006,30	640,30	366,00	0,36	0,64
115,00	11,00	1004,12	635,10	369,02	0,37	0,63
116,00	11,00	996,30	634,50	361,80	0,36	0,64
117,00	11,00	997,80	645,10	352,70	0,35	0,65
118,00	13,00	945,31	653,10	292,21	0,31	0,69
119,00	13,00	936,12	641,20	294,92	0,32	0,68
120,00	13,00	943,60	632,78	310,82	0,33	0,67
121,00	14,00	967,35	653,40	313,95	0,32	0,68
122,00	15,00	974,50	667,70	306,80	0,31	0,69
123,00	15,00	986,40	684,40	302,00	0,31	0,69
124,00	15,00	993,62	698,45	295,17	0,30	0,70
125,00	15,00	-	-	-	-	-
126,00	12,00	-	-	-	-	-
127,00	12,00	992,63	704,89	287,74	0,29	0,71
128,00	12,00	-	-	-	-	-
129,00	12,00	-	-	-	-	-
130,00	11,00	1000,45	711,31	289,14	0,29	0,71
131,00	11,00	-	-	-	-	-
132,00	11,00	-	-	-	-	-
133,00	11,00	-	-	-	-	-
134,00	11,00	994,62	704,13	290,49	0,29	0,71
135,00	14,00	-	-	-	-	-

Día	Temperatura (°C)	Alc. Total (mg/L CaCO3)	Alc. Bicarbonática (mg/L CaCO3)	Alc. AGVs	IB	Ia
136,00	14,00	-	-	-	-	-
137,00	14,00	-	-	-	-	-
138,00	14,00	-	-	-	-	-
139,00	14,00	1015,65	723,60	292,05	0,29	0,71
140,00	14,00	-	-	-	-	-
141,00	13,00	-	-	-	-	-
142,00	11,00	-	-	-	-	-
143,00	11,00	-	-	-	-	-
144,00	11,00	1023,60	711,45	312,15	0,30	0,70
145,00	11,00	-	-	-	-	-
146,00	10,00	-	-	-	-	-
147,00	10,00	-	-	-	-	-
148,00	10,00	996,47	696,30	300,17	0,30	0,70
149,00	10,00	-	-	-	-	-
150,00	11,00	-	-	-	-	-
151,00	12,00	-	-	-	-	-
152,00	12,00	998,30	700,34	297,96	0,30	0,70
153,00	13,00	-	-	-	-	-
154,00	17,00	-	-	-	-	-
155,00	17,00	-	-	-	-	-
156,00	17,00	990,12	587,40	402,72	0,41	0,59
157,00	17,00	1000,74	597,60	403,14	0,40	0,60
158,00	15,00	1005,60	612,40	393,20	0,39	0,61
159,00	13,00	996,78	635,60	361,18	0,36	0,64
160,00	13,00	991,65	648,90	342,75	0,35	0,65
161,00	11,00	993,14	659,45	333,69	0,34	0,66
162,00	11,00	1002,65	667,45	335,20	0,33	0,67
163,00	10,00	1014,78	663,45	351,33	0,35	0,65
164,00	17,00	1004,69	656,23	348,46	0,35	0,65
165,00	17,00	1016,36	678,21	338,15	0,33	0,67
166,00	11,00	1023,45	689,63	333,82	0,33	0,67
167,00	11,00	1010,63	699,32	311,31	0,31	0,69
168,00	12,00	1015,24	700,36	314,88	0,31	0,69
169,00	12,00	1025,36	715,36	310,00	0,30	0,70
170,00	13,00	1035,69	734,56	301,13	0,29	0,71
171,00	17,00	-	-	-	-	-
172,00	17,00	-	-	-	-	-
173,00	11,00	-	-	-	-	-
174,00	13,00	-	-	-	-	-
175,00	13,00	-	-	-	-	-
176,00	11,00	-	-	-	-	-
177,00	18,00	-	-	-	-	-
178,00	18,00	1032,87	730,50	302,37	0,29	0,71
179,00	11,00	-	-	-	-	-
180,00	11,00	-	-	-	-	-
181,00	12,00	-	-	-	-	-

Día	Temperatura (°C)	Alc. Total (mg/L CaCO3)	Alc. Bicarbonática (mg/L CaCO3)	Alc. AGVs	IB	Ia
182,00	12,00	1045,98	736,12	309,86	0,30	0,70
183,00	12,00	-	-	-	-	-
184,00	13,00	-	-	-	-	-
185,00	13,00	-	-	-	-	-
186,00	11,00	1036,98	719,24	317,74	0,31	0,69
187,00	17,00	-	-	-	-	-
188,00	15,00	-	-	-	-	-
189,00	15,00	-	-	-	-	-
190,00	14,00	1037,98	725,70	312,28	0,30	0,70
191,00	14,00	-	-	-	-	-
192,00	11,00	-	-	-	-	-
193,00	15,00	-	-	-	-	-
194,00	15,00	1035,45	734,80	300,65	0,29	0,71
195,00	15,00	-	-	-	-	-
196,00	15,00	-	-	-	-	-
197,00	15,00	-	-	-	-	-
198,00	15,00	-	-	-	-	-
199,00	11,00	1031,26	738,10	293,16	0,28	0,72
200,00	11,00	-	-	-	-	-
201,00	13,00	-	-	-	-	-
202,00	13,00	-	-	-	-	-
203,00	13,00	1029,36	734,90	294,46	0,29	0,71
204,00	15,00	-	-	-	-	-
205,00	15,00	-	-	-	-	-
206,00	15,00	-	-	-	-	-
207,00	14,00	1027,67	712,65	315,02	0,31	0,69
208,00	14,00	-	-	-	-	-
209,00	14,00	-	-	-	-	-
210,00	15,00	-	-	-	-	-
211,00	15,00	-	-	-	-	-
212,00	13,00	-	-	-	-	-
213,00	13,00	-	-	-	-	-
214,00	13,00	1034,70	725,90	308,80	0,30	0,70
215,00	11,00	-	-	-	-	-
216,00	11,00	-	-	-	-	-
217,00	11,00	-	-	-	-	-
218,00	13,00	-	-	-	-	-
219,00	13,00	-	-	-	-	-
220,00	13,00	-	-	-	-	-
221,00	10,00	-	-	-	-	-
222,00	11,00	-	-	-	-	-
223,00	11,00	-	-	-	-	-
224,00	12,00	1023,70	724,23	299,47	0,29	0,71

Apéndice 4. Datos de pH medidos durante el arranque del SAFS

Día	pH afluente RA	pH efluente RA	pH efluente RM	Día	pH afluente RA	pH efluente RA	pH efluente RM
1,00	5,30	4,20	6,60	39,00	5,50	4,30	6,80
2,00	5,40	4,30	6,50	40,00	5,40	4,20	6,70
3,00	5,10	4,00	6,70	41,00	5,50	4,30	6,80
4,00	5,50	4,40	6,70	42,00	5,50	4,30	6,80
5,00	5,30	4,20	6,60	43,00	5,40	4,20	6,60
6,00	5,50	4,40	6,40	44,00	5,50	4,30	6,70
7,00	5,40	4,30	6,40	45,00	5,40	4,20	6,70
8,00	5,10	4,00	6,40	46,00	5,40	4,20	6,70
9,00	5,20	4,10	6,50	47,00	4,90	4,10	6,80
10,00	5,40	4,30	6,50	48,00	4,90	4,10	6,80
11,00	5,10	4,00	6,70	49,00	5,00	4,20	6,70
12,00	5,30	4,20	6,60	50,00	4,90	4,10	6,70
13,00	5,50	4,40	6,60	51,00	4,90	4,10	6,80
14,00	5,40	4,30	6,70	52,00	4,80	4,00	6,80
15,00	5,20	4,10	6,60	53,00	4,90	4,10	6,70
16,00	5,10	4,00	6,50	54,00	4,90	4,10	6,70
17,00	5,10	4,00	6,40	55,00	5,00	4,20	6,70
18,00	5,30	4,20	6,60	56,00	5,00	4,20	6,60
19,00	5,40	4,30	6,50	57,00	5,00	4,20	6,60
20,00	5,20	4,30	6,60	58,00	5,20	4,40	6,60
21,00	5,30	4,40	6,70	59,00	5,20	4,40	6,50
22,00	5,00	4,10	6,70	60,00	5,20	4,40	6,50
23,00	5,10	4,20	6,80	61,00	5,10	4,30	6,50
24,00	5,00	4,10	6,70	62,00	5,00	4,20	6,60
25,00	5,20	4,30	6,80	63,00	5,10	4,30	6,60
26,00	5,10	4,20	6,70	64,00	5,10	4,30	6,60
27,00	5,00	4,10	6,60	65,00	4,90	4,10	6,50
28,00	5,20	4,30	6,70	66,00	5,00	4,20	6,50
29,00	5,20	4,30	6,70	67,00	5,10	4,30	6,50
30,00	5,30	4,40	6,80	68,00	5,10	4,30	6,60
31,00	5,20	4,30	6,80	69,00	4,90	4,10	6,60
32,00	5,10	4,20	6,60	70,00	5,30	4,10	6,50
33,00	5,20	4,30	6,70	71,00	5,30	4,10	6,30
34,00	5,00	4,10	6,50	72,00	5,30	4,10	6,40
35,00	4,90	4,00	6,50	73,00	5,40	4,20	6,40
36,00	5,00	4,10	6,60	74,00	5,60	4,40	6,50
37,00	5,40	4,20	6,60	75,00	5,70	4,50	6,40
38,00	5,50	4,30	6,70	76,00	5,70	4,50	6,50

Día	pH afluente RA	pH efluente RA	pH efluente RM	Día	pH afluente RA	pH efluente RA	pH efluente RM
77,00	5,40	4,20	6,60	117,00	5,00	4,20	6,30
78,00	5,40	4,20	6,70	118,00	5,00	4,20	6,60
79,00	5,20	4,00	6,40	119,00	5,00	4,20	6,60
80,00	5,30	4,10	6,60	120,00	5,10	4,30	6,40
81,00	5,20	4,00	6,50	121,00	5,10	4,30	6,40
82,00	5,40	4,20	6,60	122,00	4,80	4,00	6,40
83,00	5,60	4,40	6,60	123,00	4,80	4,00	6,70
84,00	5,60	4,40	6,50	124,00	4,90	4,10	6,70
85,00	5,40	4,20	6,50	125,00	5,20	4,40	6,80
86,00	5,50	4,30	6,60	126,00	5,00	4,20	6,80
87,00	5,30	4,10	6,70	127,00	5,10	4,30	6,80
88,00	5,30	4,10	6,70	128,00	5,20	4,40	6,80
89,00	5,20	4,00	6,60	129,00	5,30	4,50	6,70
90,00	5,30	4,10	6,60	130,00	5,10	4,30	6,70
91,00	5,40	4,20	6,70	131,00	5,10	4,30	6,60
92,00	5,20	4,00	6,70	132,00	4,90	4,10	6,80
93,00	5,40	4,20	6,60	133,00	4,80	4,00	6,70
94,00	5,50	4,30	6,60	134,00	4,80	4,00	6,70
95,00	5,60	4,40	6,50	135,00	5,10	4,30	6,70
96,00	5,60	4,40	6,80	136,00	5,10	4,30	6,80
97,00	5,50	4,30	6,80	137,00	5,10	4,30	6,60
98,00	5,10	4,30	6,70	138,00	5,00	4,20	6,60
99,00	5,10	4,30	6,70	139,00	5,00	4,20	6,50
100,00	5,00	4,20	6,60	140,00	5,00	4,20	6,50
101,00	4,90	4,10	6,60	141,00	5,00	4,20	6,70
102,00	4,90	4,10	6,50	142,00	5,00	4,20	6,70
103,00	4,90	4,10	6,70	143,00	4,90	4,10	6,70
104,00	4,90	4,10	6,80	144,00	4,90	4,10	6,60
105,00	4,80	4,00	6,90	145,00	4,80	4,00	6,70
106,00	5,00	4,20	6,90	146,00	4,80	4,00	6,60
107,00	5,00	4,20	6,60	147,00	4,90	4,10	6,60
108,00	5,00	4,20	6,60	148,00	4,90	4,10	6,70
109,00	4,90	4,10	6,40	149,00	4,90	4,10	6,50
110,00	5,00	4,20	6,40	150,00	5,00	4,20	6,50
111,00	5,10	4,30	6,40	151,00	5,10	4,30	6,60
112,00	4,80	4,00	6,30	152,00	5,10	4,30	6,50
113,00	4,80	4,00	6,40	153,00	5,20	4,40	6,40
114,00	4,90	4,10	6,60	154,00	5,10	4,30	6,60
115,00	5,10	4,30	6,70	155,00	5,10	4,30	6,70
116,00	5,20	4,40	6,70	156,00	5,20	4,40	6,70

Día	pH afluente RA	pH efluente RA	pH efluente RM	Día	pH afluente RA	pH efluente RA	pH efluente RM
157,00	4,90	4,10	6,70	197,00	5,00	4,20	6,50
158,00	4,90	4,10	6,60	198,00	5,10	4,30	6,70
159,00	5,10	4,30	6,60	199,00	5,20	4,40	6,80
160,00	5,10	4,30	6,60	200,00	5,20	4,40	6,80
161,00	5,00	4,20	6,60	201,00	5,10	4,30	6,80
162,00	5,00	4,20	6,60	202,00	5,00	4,20	6,80
163,00	5,00	4,20	6,60	203,00	5,00	4,20	6,80
164,00	5,00	4,20	6,70	204,00	5,00	4,20	6,70
165,00	5,00	4,20	6,80	205,00	4,90	4,10	6,70
166,00	5,00	4,20	6,80	206,00	4,90	4,10	6,70
167,00	5,10	4,30	6,80	207,00	4,90	4,10	6,60
168,00	5,10	4,30	6,80	208,00	4,80	4,00	6,50
169,00	4,90	4,10	6,80	209,00	4,80	4,00	6,50
170,00	4,80	4,00	6,60	210,00	4,80	4,00	6,50
171,00	4,90	4,10	6,60	211,00	4,90	4,10	6,70
172,00	4,90	4,10	6,60	212,00	5,00	4,20	6,60
173,00	4,90	4,10	6,70	213,00	5,00	4,20	6,60
174,00	4,80	4,00	6,70	214,00	5,30	4,20	6,60
175,00	4,80	4,00	6,60	215,00	5,40	4,30	6,70
176,00	5,00	4,20	6,60	216,00	5,30	4,20	6,70
177,00	5,00	4,20	6,50	217,00	5,30	4,20	6,80
178,00	5,00	4,20	6,60	218,00	5,10	4,00	6,80
179,00	5,10	4,30	6,50	219,00	5,10	4,00	6,80
180,00	5,10	4,30	6,50	220,00	5,10	4,00	6,50
181,00	4,80	4,00	6,60	221,00	5,20	4,10	6,50
182,00	5,00	4,20	6,50	222,00	5,40	4,30	6,50
183,00	5,00	4,20	6,60	223,00	5,40	4,30	6,60
184,00	5,10	4,30	6,60	224,00	5,30	4,20	6,80
185,00	5,10	4,30	6,60				
186,00	4,90	4,10	6,70				
187,00	4,90	4,10	6,70				
188,00	5,10	4,30	6,80				
189,00	5,00	4,20	6,80				
190,00	4,80	4,00	6,60				
191,00	4,70	3,90	6,40				
192,00	4,70	3,90	6,60				
193,00	4,90	4,10	6,60				
194,00	4,90	4,10	6,50				
195,00	5,00	4,20	6,50				
196,00	5,00	4,20	6,70				

Apéndice 5 . AGVs medidos durante el arranque del SAFS

Día	AGV Efluente RA	AGV salida RM	Día	AGV Efluente RA	AGV salida RM
1	156,78	123,45	151	205,67	103,56
4	145,30	119,87	154	208,70	105,70
9	163,45	135,67	156	220,60	215,70
16	151,76	127,12	160	216,70	210,80
22	130,64	122,79	164	218,70	200,70
28	143,23	118,60	168	223,90	198,70
32	167,45	156,65	178	229,67	187,60
37	165,34	151,12	182	232,40	178,45
43	170,35	163,75	186	234,50	177,45
46	163,87	155,23	190	229,80	181,13
50	154,32	145,09	194	227,90	146,50
54	168,22	143,12	198	225,67	131,87
58	171,34	141,89	202	221,45	117,90
98	163,40	159,40	205	227,60	124,60
99	167,30	152,40	210	230,40	126,7
100	175,80	161,30	214	237,80	133,6
101	177,98	159,50	220	226,80	125,4
102	189,70	156,78			
106	188,60	100,67			
111	185,90	67,80			
115	193,40	183,40			
119	189,50	165,70			
123	193,40	180,70			
127	198,65	167,30			
131	199,80	156,90			
135	201,23	132,50			
139	200,78	112,87			
143	197,60	100,67			
147	193,56	98,70			

Apéndice 6. Datos de COV, DQO y Eficiencia de Reducción medidos durante el arranque del SAFS

Día	COV Afluente RA	DQO Afluente	COV Afluente RM	DQO efluente	Reducción DQO
1,00	4,25	1932,00	1,68	1889,00	2%
7,00	4,65	2113,00	1,84	1813,00	14%
14,00	4,35	1978,00	1,72	1107,00	44%
22,00	4,50	2045,00	1,78	1236,00	40%
25,00	4,39	1994,00	1,74	1276,00	36%
29,00	4,29	1951,00	1,70	675,00	65%
30,00	6,23	2834,00	2,47	2516,00	11%
38,00	6,46	2935,00	2,55	2564,00	13%
46,00	6,58	2991,00	2,60	2117,00	29%
53,00	6,17	2806,00	2,44	1645,00	41%
64,00	6,58	2993,00	2,60	1816,00	39%
98,00	6,64	3017,00	2,63	1987,00	34%
105,00	6,48	2947,00	2,56	1231,00	58%
109,00	6,37	2894,00	2,52	984,00	66%
113,00	6,32	2873,00	2,50	832,00	71%
116,00	7,15	3250,00	2,83	2784,00	14%
123,00	7,30	3318,00	2,89	2665,00	20%
137,00	7,20	3273,00	2,85	2272,00	31%
143,00	7,18	3262,00	2,84	1714,00	47%
149,00	7,28	3307,00	2,88	1073,00	68%
155,00	7,11	3231,00	2,81	1324,00	59%
162,00	7,53	3421,00	2,98	2237,00	35%
176,00	7,56	3437,00	2,99	2625,00	24%
184,00	7,54	3428,00	2,98	2358,00	31%
197,00	7,46	3391,00	2,95	2117,00	38%
207,00	7,52	3417,00	2,97	1487,00	56%
220,00	7,63	3467,00	3,02	1934,00	44%
224,00	7,48	3398,00	2,96	1149,00	66%

Apéndice 7. Datos de Sólidos Suspendidos Totales medidos durante el arranque del SAFS

Día	SST Afluente RA	SST Efluente RM	Eficiencia
1	911,41	763,22	16,26%
7	987,47	846,12	14,31%
10	1044,38	437,33	58,13%
22	902,6	403,11	55,34%
29	967,55	631,89	34,69%
33	1175,34	724,28	38,38%
35	1289,45	883,36	31,49%
43	1354,56	746,72	44,87%
53	1189,13	732,1	38,43%
64	1176,56	682,45	42,00%
98	1381,43	639,37	53,72%
113	1167,22	793,17	32,05%
116	1453,76	1154,28	20,60%
119	1511,31	938,93	37,87%
128	1437,23	1014,16	29,44%
143	1683,66	813,59	51,68%
155	1673,76	741,77	55,68%
162	1839,93	1112,83	39,52%
176	1937,4	1209,55	37,57%
184	1703,18	1164,27	31,64%
197	1971,83	945,81	52,03%
207	1934,67	893,21	53,83%
211	1851,33	1089,7	41,14%

Apéndice 8. Métodos Analíticos utilizados en el estudio

1. DETERMINACIÓN DE pH

1.1. Fundamento

Se basa en la capacidad de respuesta del electrodo de vidrio ante soluciones de diferente actividad de iones H^+ . La fuerza electromotriz producida en el electrodo de vidrio varía linealmente con el pH del medio. Se debe tener en cuenta la temperatura de la muestra ya que esta fuerza electromotriz afecta al valor del pH.

1.2. Reactivos

Disoluciones estándar de pH (tampones 6,86 y 4,0) para la calibración del equipo (pHmetro).

1.3. Equipo

Para la medición del pH en el afluente y efluente del Sistema Anaerobio de Fases separadas se utilizó el equipo que se muestra en la Figura:



Figura 1. pHmetro digital de bolsillo utilizado para la medición del pH del presente estudio

1.4. Procedimiento

- Se calibra el electrodo con disoluciones patrón (tampones) de pH conocido.
- Se coloca la muestra, en un agitador magnético, y se agita.
- Se procede a leer el valor del pH cuando la lectura se estabilice en pH

2. DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO (DQO)

2.1. Fundamento

La demanda química de oxígeno (DQO) es la cantidad de oxígeno consumido por las materias existentes en el agua, que son oxidables en condiciones operatorias definidas. La medida corresponde a una estimación de las materias oxidables presentes en el agua, ya sea su origen orgánico o inorgánico. La determinación de DQO debe realizarse rápidamente después de la toma de muestras, para evitar la oxidación natural. En caso contrario, la muestra podría conservarse un cierto tiempo si se acidifica con ácido sulfúrico hasta pH = 2- 3. Sin embargo, esta opción deja de ser fiable en presencia de cloruros.

2.2. Materiales y equipos

- Equipo Fotométrico con longitudes de onda de 620 nm y 420 nm.
- Termoreactor para calentar a 148 ± 2 °C.
- Pipeta graduada certificada para dispensar la muestra y/o Multirepetidora
- Tubos de ensayo de 16 mm de diámetro
- Gafas protectoras.
- Gradilla
- Paños para limpiar los tubos de ensayo

2.3. Reactivos y Soluciones

- Patrón certificado de absorbancia. En el certificado del producto se puede obtener el valor nominal y su incertidumbre para cada una de las soluciones.
- Patrón de laboratorio ftalato ácido de potasio de 300 mg/L. El Ftalato ácido de potasio
- (KHP) se macera ligeramente y se somete a secado durante mínimo 4 horas a 105 °C.
- Se pesan 255mg con exactitud para diluir en 1000 ml de agua desionizada. Utilizar material completamente limpio para todo el procedimiento.

- Los tubos de ensayo de 16 mm contienen todos los reactivos necesarios para la oxidación, simplemente se requiere dispensar la muestra, hacer la digestión y medir en el método indicado.
- Kit para DQO.

2.4. Procedimiento

1. Mezclar muy bien la muestra por agitación para poner en suspensión el sedimento del fondo del recipiente, antes de tomar el volumen indicado
2. Agitar la cubeta de reacción de 16 mm, para mezclar el contenido del fondo quitar la tapa rosca y ubicarla en la gradilla.
3. Verter cuidadosamente 2 mL de la muestra sobre la pared interna de la cubeta de reacción (usar gafas protectoras)
4. Cerrar firmemente la cubeta con la tapa roscada. Identificar la muestra en la tapa.
5. En las siguientes etapas de trabajo, agarrar la cubeta solamente por la tapa roscada, para evitar contaminar las paredes de la cubeta
6. Mezclar vigorosamente el contenido de la cubeta de reacción
7. Mientras prepara las muestras, encender el termoreactor y colocar las celdas de reacción para que el conjunto alcance la temperatura de $148 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Una vez el equipo registra la temperatura indicada, comienza la cuenta regresiva de las 2 horas de reacción
8. Una vez termina el tiempo de reacción, las luces parpadean intermitentemente de color rojo y además suena una señal acústica.
9. Después de aproximadamente 20 minutos y cuando el termoreactor indique una temperatura menor o igual a 120°C , retire y agite los tubos de ensayo por balanceo y colóquelas nuevamente en la gradilla o soporte, hasta el enfriamiento final.
10. Colocar las muestras en la gradilla o soporte de tubos de ensayo. Para la medición fotométrica deben lavarse las paredes externas de los tubos de ensayo con agua destilada; si es necesario, límpielas con un paño seco y limpio.
11. Durante la medición, no permita que se provoque resuspensión o agitación involuntaria, ya que la turbiedad que se puede generar, después de la reacción, da como resultado valores falsamente altos.

12. Encender el equipo de medición por lo menos con media hora de anticipación y hacer los procedimientos de control que se requieran. Ubicado el método en el
13. Espectrofotómetro, proceda a la medición.
14. El resultado se reporta con las cifras decimales que arroje el equipo, sin aplicar la aproximación a cifras significativas.
15. Nota: Nunca enfríe con agua fría.
16. La solución de digestión contiene sustancias tóxicas como dicromato de potasio y sulfato de mercurio, manipúlelo usando todos los elementos de seguridad del caso. El analista debe conocer las hojas de seguridad de cada reactivo utilizado. En el desarrollo de este análisis se debe utilizar de manera obligatoria bata, guantes y zapatos cerrados.

2.5. Cálculos

Si la muestra, patrones estándar y blancos se ejecutan bajo las mismas condiciones de volumen y longitud de onda, calcule la DQO como sigue

$$DQO \left(\frac{mg O_2}{L} \right) = \frac{mg O_2 \text{ en el volumen final } \times 1000}{mL \text{ de muestra}}$$

3. SÓLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES

3.1. Fundamento

El término sólido, en forma general se refiere a la materia suspendida (no filtrable) y disuelta (filtrable), presente en aguas de cualquier origen (naturales, tratadas, residuales). Los sólidos pueden afectar en forma adversa la calidad de un cuerpo de agua o un efluente de varias formas. Las aguas con alto contenido de sólidos suspendidos podrían ser estéticamente no satisfactorias para fines bañistas. La evaluación de sólidos suspendidos totales se requiere en los análisis de aguas residuales para valorar su concentración, en la evaluación de la calidad de las fuentes de agua superficial o subterránea, o para determinar la eficiencia de las unidades de tratamiento. Una muestra bien mezclada, se pasa a través de

un filtro de fibra de vidrio, previamente preparado y pesado, y el residuo retenido es secado a peso constante a temperatura entre 103 -105 °C. El incremento de peso del filtro representa el total de sólidos suspendidos. Si el material suspendido taponaa el filtro y prolonga la filtración, se debe disminuir el volumen de la muestra a filtrar o aumentar el diámetro del filtro.

3.2. Materiales y Equipos

- Vidrio reloj o cápsulas de porcelana, debidamente marcados
- Filtros circulares de fibra de vidrio 47 mm, sin aditivos orgánicos
- Pinzas metálicas largas para manipular el vidrio reloj dentro de la estufa
- Pinza metálica pequeña para manipular los filtros
- Equipo de filtración
- Horno de secado que maneje entre 103 °C a 105 °C.
- Bomba de vacío
- Desecador
- Balanza analítica, con precisión de 0,0001 g.
- Probetas de volumen diferente.
- Pipetas de boca ancha
- Equipo de agitación magnética.
- Beaker de diferentes volúmenes
- Barras magnéticas

3.3. Reactivos y Soluciones

- Patrón de caolín. La solución se prepara con base en un peso que determine una recuperación del 97,6% para sólidos suspendidos (Peso requerido/0,976). El caolín se seca durante 24 horas a 103 -105 °C antes de preparar la solución. La solución se prepara con agua desionizada. Realizar la agitación magnética dentro del mismo recipiente que contiene la solución
- Agua desionizada

3.4. Procedimiento

1. Preparación del filtro: Insertar el filtro circular en el aparato de filtración, con el lado corrugado hacia arriba y todos los filtros siempre de la misma forma. Aplicar vacío y lavar el filtro con tres porciones sucesivas de 20 ml de agua destilada. Continuar la succión hasta remover todas las trazas de agua y descartar el filtrado. Colocar el filtro en un vidrio reloj ó cápsula de porcelana, debidamente marcado e Introducir el vidrio reloj con el filtro en el horno de secado a 103 –105 °C, por espacio de 1 hora. Retirar con una pinza el vidrio reloj con el filtro y colocarlo en el desecador con sílica gel en buenas condiciones para permitir el enfriamiento en medio seco, por espacio de 1 hora como mínimo. Repetir el ciclo de secado, enfriado y pesado hasta lograr el peso constante, que se da cuando la diferencia entre los resultados sea menor al 4% del valor previo o a un valor de 0,5 mg, lo que se cumpla primero. Almacene el filtro en el desecador y al momento de necesitarlo, pesar el conjunto vidrio reloj con el filtro y regístrelo.
2. Permitir a las muestras llegar a temperatura ambiente antes de trabajar con ellas.
3. Vaciar la trampa para líquidos del montaje de filtración.
4. Homogenizar la muestra contenida en el frasco adicionando una barra magnética e iniciar la agitación durante dos minutos como mínimo utilizando el aparato de agitación magnética.
5. En el equipo de filtración mojar el sitio del filtro con un volumen pequeño de agua destilada para asentar el filtro, colocar el filtro y asegurarlo. .
6. Aún en agitación completa, medir el volumen requerido en la probeta o con la pipeta, dependiendo del tipo de agua y su procedencia.
7. Iniciar la succión.
8. Verter lentamente sobre el filtro la muestra, asegurándose que se filtre completamente antes de agregar otra cantidad. Es aconsejable medir por una sola vez el volumen, por lo que se debe medir en la probeta suficiente para generar un residuo como mínimo de 2,5 y máximo de 200 mg
9. Al observar que la filtración se hace más lenta por taponamiento del filtro, se debe dejar secar el volumen contenido, luego medir el volumen filtrado hasta el momento, desechar el sobrante de la probeta o la pipeta y continuar con el procedimiento. Un

tiempo de máximo 10 minutos se puede permitir para filtración. Si no se logra secar el filtro, se debe repetir el análisis, tomando un volumen de muestra menor.

10. Lavar con tres porciones sucesivas de agua destilada la probeta donde se hizo la medición de volumen y agregarlo suavemente para filtración; lavar las paredes del embudo de filtración y luego desmontarlo para lavar la base, permitiendo que el residuo se mantenga dentro del filtro. Continuar la succión hasta que el filtro se seque. Las muestras con bastantes sólidos disueltos (agua de mar ó pozos subterráneos), pueden requerir lavados adicionales.
11. Detener la succión.
12. Remover cuidadosamente el filtro del aparato y transferirlo al vidrio reloj.
13. Secar por una 1 hora a 103 °C –105 °C en horno; enfriar en desecador por una (1) hora, pesar y registrar Repetir el ciclo de secado, enfriado y pesado hasta lograr el peso constante, que se da cuando la diferencia entre los resultados sea menor al 4% del valor previo o a un valor de 0,5 mg, lo que se cumpla primero. Se verifica el primer dato tomado.
14. Para analizar la muestra siguiente, realice un cuidadoso lavado con agua destilada o utilice otro montaje similar.
15. Los duplicados se deben realizar enseguida de la muestra, tomando el mismo volumen del beaker que contiene la muestra, en iguales condiciones de agitación. Los resultados de duplicados deben coincidir hasta en el 10% respecto al valor de la muestra.

Nota: Si se van a medir sólidos volátiles someta a ignición en una mufla a 550°C por 15 min

3.5. Cálculos

El contenido de sólidos suspendidos totales se calcula como:

$$\text{Solidos Suspendidos Totales SST } \left(\frac{mg}{L} \right) = \frac{(A - B) \times 1000}{V}$$

Donde:

A: Peso del Filtro +Residuo Seco, en mg

B: Peso del Filtro, en mg

V: Volumen de Muestra en mL

4. ACIDOS GRASOS VOLATILES

4.1. Fundamento

En el proceso de digestión anaerobia los AGV son productos intermedios, provenientes de la acidificación de hidratos de carbono y de otras moléculas. La acumulación de AGV en un reactor anaerobio refleja el desequilibrio cinético entre los procesos de producción y de consumo de estos ácidos (Switzenbaum et al. 1990). Cuando los AGV se acumulan y el sistema no posee suficiente capacidad tampón, el pH disminuye y puede producirse la desestabilización y posterior acidificación del reactor.

El método de destilación es empírico, por tanto se debe realizar exactamente como se describe en este manual. Factores como la tasa de calor y proporción de la muestra recuperada a través de la destilación afectan el resultado. Remover los sólidos de la muestra reduce la posibilidad de hidrólisis de materiales complejos a AGV. Esta técnica recupera ácidos que contienen más de seis átomos de carbono. La fracción recuperada de cada ácido se incrementa con el aumento del peso molecular.

4.2. Equipos, Materiales y Reactivos

- Centrifuga tubos de 50 mL
- Frasco de destilación de 500 mL
- Condensador
- Plancha de calentamiento

- pH metro
- Perlas de agitación
- Bureta Digital
- Balón de 50 mL
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N
- Ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,1 N

4.3. Preparar soluciones

- Solución estándar de ácido sulfúrico 0,1 N
- Solución estándar de hidróxido de sodio 0,1 N
- Solución estándar de Ácido Acético, 2.000 mg.L-1: Diluir 1,9 mL conc CH₃COOH en 1.000 mL de agua destilada.

4.4. Procedimiento

1. Si es necesario centrifugue 25 mL de la muestra durante 5 minutos
2. Tome 10 mL del sobrenadante y dispóngalos en un balón de 50 mL y afore
3. Vierta los 50 mL aforados en un vicker de 250 mL y adicione H₂SO₄ 0,1 N hasta alcanzar un pH de 3,0 unidades
4. Una vez se lleve los 50 mL a pH 3,0 unidades. Traslase a un balón de 100 mL y afore
5. Agregue la muestra (100 mL) a un frasco de destilación de 500 mL y adicione 3 perlas de ebullición
6. Ponga a ebullicir en una plancha de calentamiento a 180 °C, durante 3 minutos
7. Deje enfriar durante dos minutos y trasvase el volumen de muestra destilada a un vicker de 250 mL
8. Luego titule con NaOH 0,1 N, hasta pH de 6,5 unidades
9. Registre el volumen de NaOH gastado (mL)

4.5. Cálculos

$$AGV(mgAc.Acetico / L) = \frac{V_{NaOH}(mL) \times N_{NaOH} \times 60.000}{V_{muestra}(mL) \times f}$$

Para determinar “f” (factor de recuperación), diluya un volumen apropiado de una solución de ácido acético en un frasco volumétrico de 250 mL para aproximar la concentración de la muestra esperada y destile como una muestra.

Calcule el factor de recuperación

$$f = \frac{a}{b}$$

Donde:

a= concentración de ácido volátil recuperada en la destilación (mg.L-1)

b: concentración de ácido volátil en la solución estándar usada (mg.L-1)

5. ALCALINIDAD TOTAL Y ALCALINIDAD BICARBONATICA

5.1. Fundamento

Definimos la alcalinidad total como la capacidad del agua para neutralizar ácidos y representa la suma de las bases que pueden ser tituladas. Dado que la alcalinidad de aguas superficiales está determinada generalmente por el contenido de carbonatos, bicarbonatos e hidróxidos, ésta se toma como un indicador de dichas especies iónicas. No sólo representa el principal sistema amortiguador (tampón, buffer) del agua dulce, sino que también desempeña un rol principal en la productividad de cuerpos de agua naturales, sirviendo como una fuente de reserva de CO₂ para la fotosíntesis.

Internacionalmente es aceptada una alcalinidad mínima de 20 mg de CaCO₃/L para mantener la vida acuática. Cuando las aguas tienen alcalinidades inferiores se vuelven muy sensibles a la contaminación, ya que no tienen capacidad para oponerse a las

modificaciones que generen disminuciones del pH (acidificación). La alcalinidad se determina por titulación con una solución estándar de un ácido mineral fuerte a los puntos sucesivos de equivalencia del bicarbonato y el ácido carbónico (pH $\approx$ 4,5-4,3). Para determinar la Alcalinidad total se emplea una mezcla de reactivos indicadores (anaranjado de metilo/verde bromocresol).

5.2. Materiales

- Reactivo Indicador acuoso: anaranjado de metilo/verde de bromocresol (4:5).
- Matraz aforado de 50 mL
- Erlenmeyer de 250 mL
- Bureta y soporte
- Solución de ácido sulfúrico 0.02 N
- Agua destilada
- Lentes de seguridad

5.3. Procedimiento

Para alcalinidades mayores a 100 mg/L (aguas superficiales contaminadas o aguas residuales) tome una alícuota de 50 o 25mL con probeta, ya que la cantidad de sólidos suspendidos obstruye la pipeta y dificulta la medición de la alícuota. La alícuota de 25 mL debe tomarse en un vaso de 100 mL o menor, para que el sensor del electrodo de vidrio quede sumergido en la muestra.

1. Inmediatamente antes de realizar la titulación, titule hasta pH 8,3 si el pH de la muestra es superior a este valor

NOTA: No deje la muestra expuesta al aire y no la someta a agitación mientras no esté adicionando el titulante (H₂SO₄ 0.02 N), no sirva varias muestras simultáneamente.

2. Registre el valor obtenido en la planilla de volumetría como el volumen de ácido gastado a pH 8,3 para el cálculo posterior de carbonatos e hidróxidos según el caso.
Formato de volumetría
3. Titule hasta pH 4,5, a medida que se acerque al punto final, hacer adiciones de ácido más pequeñas y verificar que se alcance el equilibrio de pH antes de adicionar más titulante.

5.4. Cálculos

$$\text{Alcalinidad} \left(\frac{\text{mg CaCO}_3}{\text{L}} \right) = \frac{A \times N \times 50.000}{V}$$

Donde:

A = mL de ácido estándar gastados

N = normalidad del ácido estándar.

V= Volumen de la muestra en mL

5.5. Cálculo de las relaciones de alcalinidad.

Los resultados obtenidos a partir de las determinaciones a pH 8,3 y alcalinidad total (pH 4,5) ofrecen un medio de clasificación estequiometría de las tres formas principales de alcalinidad presentes en muchas aguas.

1. La alcalinidad de carbonato (CO_3^{2-}) se presenta cuando el volumen a pH 8,3 no es 0, sino menor que la total.
2. La alcalinidad de hidróxido (OH^-) se presenta si el volumen a pH 8.3 supera la mitad de la total.

3. La alcalinidad de bicarbonato se presenta si el volumen a pH 8.3 es menor de la mitad de la total. Estas relaciones pueden calcularse mediante el siguiente esquema, donde P es el volumen gastado a pH 8,3 y T es el volumen gastado a pH 4,5.

RESULTADO DE LA TITULACION	Alcalinidad de hidróxidos como CaCO_3	Alcalinidad de carbonatos como CaCO_3	Alcalinidad de carbonatos como CaCO_3
P=0	0	0	T
P<1/2T	0	2P	T-2P
P=1/2T	0	2P	0
P>1/2T	2P-T	2(T-P)	0
P=T	T	0	0

Clave P = alcalinidad de fenolftaleína o a pH 8,3, T = alcalinidad al metil naranja o a pH 4,5

6. FOSFORO TOTAL

6.1. Fundamento

El fósforo puede encontrarse en las aguas residuales disuelto o en partículas, ya sea en compuestos orgánicos o inorgánicos. Para liberar el fósforo que está combinado en la materia orgánica, es preciso someter la muestra de agua a un proceso de digestión ácida. Tras la digestión, el fósforo está en forma de ortofosfatos, que se determinan por métodos colorimétricos.

6.2. Reactivos

- Solución de ácido sulfúrico: Añadir cuidadosamente 30 ml de ácido sulfúrico concentrado a 60 ml de agua destilada y diluir a 100 ml.
- Persulfato amónico, $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$
- Hidróxido sódico NaOH 1N.

- Indicador de fenolftaleína.
- Solución de vanadato-molibdato amónico: se prepara en tres etapas; por un lado, se disuelven 25 g de $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$ en 400 ml de agua destilada; por otro lado, se disuelven 1.25 g de vanadato molibdato en 300 ml de agua destilada caliente, se deja enfriar la disolución y se añaden 250 ml de HNO_3 concentrado. Finalmente, las dos disoluciones se mezclan y se llevan a 1 litro.
- Patrón de 200 ppm de P. Se disuelven 0,8780g de KH_2PO_4 desecado en 1 litro de agua destilada.
- A partir de este patrón se prepara un patrón de 20 ppm, que servirá para la calibración colorimétrica.

6.3. Procedimiento

Se introduce 50 ml de muestra homogeneizada en un matraz erlenmeyer de 125 ml.

Se añade 1 ml de la solución de ácido sulfúrico.

Se añade 0,4 g de persulfato amónico.

Se lleva a ebullición, y se mantiene regularmente durante unos 45 minutos hasta tener un volumen final aproximado de 10 mL.

Se deja enfriar, y se añaden unos 10 mL de agua destilada y unas gotas del indicador fenolftaleína.

Se añade NaOH 1N hasta el viraje a coloración rosa de la fenolftaleína; la mezcla se decolora después añadiendo una gota de una disolución diluida de ácido sulfúrico.

Se lleva a 50 ml con agua destilada.

Se procede a la determinación de fósforo (ortofosfatos) siguiendo el método colorimétrico del vanadato-molibdato amónico. Las muestras digeridas deben diluirse convenientemente para que la concentración de fósforo final esté dentro del rango del método analítico.

Se lleva una alícuota de 5 ml de la muestra a matraz de 25 ml.

Se añaden 5 ml del reactivo vanadato-molibdato amónico.

Se enrasa a 25 ml con agua destilada.

Se agita bien la mezcla y se deja desarrollar el color durante 30 mn.

Se lee la absorbancia a 440 nm de longitud de onda.

- Se procede de idéntica manera con alícuotas del patrón de 20 ppm de P, a fin de hallar una recta de calibración que comprenda el rango de 2 a 10 ppm de P.

• Cálculos:

$$P \text{ (ppm)} = [Absorbancia \times K \times 25 \times F] / 5$$

K: pendiente de la recta de calibración

F: factor de dilución de la muestra

7. NITROGENO AMONIAICAL TOTAL

7.1. Fundamento

El procedimiento propuesto es mediante electrodos selectivos acoplados a un potenciómetro, en este caso se utiliza un electrodo selectivo de amonio.

7.2. Reactivos

- Patrón 100 ppm de N- NH_4 ($7,14 \times 10^{-3}$ M). Se prepara mediante 0,1909 g de NH_4Cl desecado, en 500 ml agua destilada. A partir de éste, se preparan los patrones de 10 y 1 ppm.
- NaOH 10 M: 200 g de NaOH en 500 ml de agua destilada.
- Solución para reposo largo (1 noche a semanas): NH_4Cl 0,05 M. Preparación: 0,6681 g NH_4Cl desecado, en 250 ml de agua destilada.
- Para reposo corto: 50 ml de patrón de 10 ppm de N- NH_4 + 0,5 ml NaOH 10 M.

7.3. Procedimiento

1. Se lleva una alícuota de 50 ml del agua a analizar a un vaso de precipitados de 100 ml.

2. Se añade un agitador magnético (imán) y se somete la muestra a agitación moderada continua.
3. Se introduce el electrodo de amonio.
4. Se añade 0,5 ml de NaOH 10M y se procede a la lectura.