



Artículo de investigación científica y tecnológica

# Producción de metano a partir de suero de queso en sistemas anaerobios de una etapa y dos etapas

# Methane production from whey in single-stage and two-stage anaerobic systems

Ania Cabrera Díaz<sup>1\*</sup> , Norelvys Borges Alonso<sup>2</sup> , Miguel Ángel Díaz Marrero<sup>2</sup> , Luis Evelio Guerra Díaz<sup>2</sup> , José-Manuel País-Chanfrau<sup>3</sup> , Ileana Pereda Reyes<sup>1</sup>

- 1. Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría, Centro de Estudios de Tecnologías Energéticas Renovables, CETER. La Habana, Cuba.
- 2. Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría, Centro de Estudio de Ingeniería de Procesos, CIPRO. La Habana, Cuba.
- 3. Universidad Técnica del Norte (UTN). Ibarra, Ecuador.

Este documento posee una licencia Creative Commons Reconocimiento-No Comercial 4.0 internacional



Recibido: 4 de noviembre de 2024 Aceptado: 12 de diciembre de 2025 Publicado: 15 de febrero de 2025

#### Resumen

Explorar tecnologías de alta tasa en el tratamiento de los residuales podría contribuir a cerrar los ciclos de producción de forma sostenible. La inadecuada disposición del suero de queso en cuerpos receptores puede generar consecuencias como la contaminación y eutrofización del medio acuático, afectando así los ecosistemas. El presente trabajo evaluó la producción de metano a partir de suero de queso crudo en dos sistemas anaerobios; un reactor anaerobio de cama empacada como única configuración y un sistema con separación de fases (reactor secuencial tanque agitado, seguido de un reactor anaerobio de cama empacada). El reactor anaerobio de cama empacada como única configuración operó hasta una carga orgánica volumétrica estable de 4 kg DQO/m³d, alcanzando una eliminación de la

demanda química de oxígeno de 91 % con un rendimiento de metano de 0,317 m³ CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub>. La separación de fases permitió alcanzar una carga orgánica volumétrica en el reactor secuencial tanque agitado de 27 kg DQO/m³ d, permitiendo incrementar la misma en el reactor anaerobio de cama empacada a 6 kg DQO/m³ d, obteniendo eficiencias de eliminación de la demanda química de oxígeno superiores al 95 % y rendimientos de CH<sub>4</sub> promedios de 0,297 m³ CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub>

Palabras claves: una etapa-dos etapas de digestión anaerobia, metano, suero de queso, reactor anaerobio de cama empacada, reactor secuencial tanque agitado.

#### **Abstract**

Exploring high-rate technologies in waste treatment could contribute to closing production cycles sustainably. The inadequate disposal of whey in receiving bodies can generate consequences such as contamination and eutrophication of the aquatic environment, thus affecting ecosystems. This work evaluated methane production from raw whey in two anaerobic systems: a packed bed anaerobic reactor as the sole configuration and a system with phase separation (sequential stirred tank reactor, followed by a packed bed anaerobic reactor). As the sole configuration, the packed bed anaerobic reactor operated up to a stable volumetric organic load of 4 kg COD/m³d, achieving a

chemical oxygen demand elimination of 91 % with a methane yield of 0.317 m³ CH<sub>4</sub>/kg COD<sub>e</sub>. Phase separation allowed a volumetric organic load of 27 kg COD/m³d to be reached in the stirred tank sequential reactor, allowing the same to be increased in the packed bed anaerobic reactor to 6 kg COD/m³d, obtaining chemical oxygen demand elimination efficiencies greater than 95 % and average CH<sub>4</sub> yields of 0.297 m³ CH<sub>4</sub>/kg COD<sub>e</sub>.

**Key words:** one stage-two stage anaerobic digestion, methane, whey, packed bed anaerobic reactor, stirred tank sequential reactor.

### Cómo citar este artículo, norma Vancouver:

Cabrera Díaz A, Borges Alonso N, Díaz Marrero MA, Guerra Díaz LE, Pais-Chanfrau JM, Pereda Reyes I. Producción de metano a partir de suero de leche en sistemas anaerobios de una etapa y dos etapas. Ingeniería Mecánica. 2025;28:e703. <a href="https://goo.su/jkB0L">https://goo.su/jkB0L</a>

#### 1. Introducción

La industria láctea desempeña un papel económico importante en el sector agrícola en la mayoría de los países industrializados y en muchos países en desarrollo. Estas instalaciones de productos lácteos suelen considerarse la mayor fuente de aguas residuales industriales de alimentos [1]. En este sentido, la recuperación de productos de valor agregados a partir del tratamiento de residuos se inserta dentro de las estrategias de

<sup>\*</sup>Autor de correspondencia: <u>ania@mecanica.cujae.edu.cu</u>

economía circular, cerrando los ciclos de producción de forma sostenible, favoreciendo la transición de modelos productivos agresivos con el ambiente hacia modelos alternativos sostenibles.

Las aguas residuales lácteas contienen una alta concentración de material orgánico como proteínas, carbohidratos y lípidos. Lo anterior se revierte en que este residual posea una alta demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y demanda química de oxígeno (DQO), altas concentraciones de sólidos suspendidos y de grasas. Entre ellas se encuentran el suero de queso, considerado el principal subproducto de la producción del queso, este representa entre el 85 y el 90 % del volumen total de leche procesada. Contiene una cantidad significativa de carbohidratos (4 -5 % del volumen del suero de queso), proteínas que no superan el 1 %, grasas aproximadamente de 0,4 a 0,5 % y sales que pueden variar desde el 0,5 hasta el 3 % [1, 2].

En la industria láctea cubana se destaca la producción de derivados lácteos y dentro de estos, la fabricación de quesos; sea esta de origen industrial o artesanal. El suero de leche generado suele ser empleado en bebidas probióticas [3], la alimentación animal o como fertilizante líquido. Sin embargo, en dependencia de las condiciones logísticas en ocasiones este residual es vertido junto con las aguas de procesos a cuerpos receptores sin tratamiento previo, poniendo en riesgo los ecosistemas adyacentes. Los principales problemas ambientales identificados en las empresas lácteas cubanas son la contaminación de las aguas terrestres y marinas por el vertimiento de residuales industriales (principalmente líquidos), tratados completa o parcialmente o no tratados [4].

En este contexto, el tratamiento del suero de leche mediante el proceso de digestión anaerobia (DA) para la obtención de biogás, muestra factibilidad técnica, económica y ambiental. Numerosos reportes, refieren que los procesos anaerobios son los más eficientes debido a la reducción del contenido de materia orgánica, la obtención de energía adicional a través del biogás, la minimización de las emisiones de gases de efecto invernadero y además, permiten la recuperación de nutrientes [5]. Otra de sus bondades es la menor generación de lodo y los menores requerimientos de nutrientes [2, 6].

La principal limitación para tratar el suero de leche mediante un proceso de DA, radica en su gran facilidad de acidificar, principalmente cuando se utilizan cargas orgánicas volumétricas (COV) elevadas, donde la fase acidogénica y la metanogénica ocurren simultáneamente, ocasionando la inestabilidad del sistema. Esa inestabilidad del proceso metanogénico puede ser ocasionada por la gran cantidad de compuestos ácidos generados por la fermentación de la lactosa. La presencia y acumulación de estos ácidos producen un descenso en el pH, promoviendo el crecimiento de bacterias acetogénicas e inhibiendo la actividad metanogénica [2]. Diferentes tipos de configuraciones de reactores anaerobios han sido evaluados en el tratamiento del suero de leche, ya sea con simple (una etapa) o múltiples (dos etapas o más); destacándose los reactores de manto de lodos (*Upflow Anaerobic Sludge Blanket Reactor*, UASB), los reactores anaerobios de cama empacada (RACE) [7, 8], el reactor de manto de lodos expandido (*Expanded Granular Sludge Bed*, EGSB) [9], los bioreactores de membranas [10] y el reactor secuencial tanque agitado (RSTA) [11].

Con respecto a los reactores UASB, se reporta que alcanzan altas COV sin embargo, se evidencia como principal problemática la alta turbidez y sólidos suspendidos volátiles en los efluentes generados, debido a la acumulación de materia orgánica en el reactor [7, 8]. En contraste con ello, los RACE han proporcionado una mayor eficiencia de tratamiento y tienen más tolerancia ante el incremento de la carga hidráulica y toxicidad por metales pesados [7]. Con respecto a esta tecnología, se han reportado la evaluación de COV en el intervalo entre 3 y 21 kg DQO/m³ d, correspondientes a tiempos de retención hidráulicos (TRH) de 0,5 a 49,2 días. Bajo estas condiciones se obtuvieron eficiencias de eliminación de DQO entre 80 y 98,3% e intervalos de rendimiento de metano (YCH<sub>4</sub>) entre 0,28 - 0,38 m³ CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub> [7].

Por otro lado, la factibilidad del empleo del RACE con una etapa de pre-acidificación sobre otros tipos de reactores para tratar el suero de queso, radica en que se obtienen mayores eficiencias de tratamiento, así como la eliminación de la materia orgánica disuelta. Sin embargo, no se logra operar a altas COV sin un detrimento en el YCH4. Lo anterior está relacionado con que una alta concentración de lípidos en el RACE inhibe las bacterias acetogénicas, también promueve el desarrollo de biomasa no adherida dentro de los espacios vacíos del material de empaque, lo que acelera la obstrucción del reactor y bloquea la liberación de biogás. Con el fin de evitar estos problemas, la composición de las aguas residuales debe ser monitoreada de cerca, y las materias suspendidas y los lípidos deben ser retirados antes de la alimentación al RACE [7].

En este contexto, para crear condiciones adecuadas en el proceso de digestión anaerobia; se enuncia el empleo de la separación del proceso en dos etapas. El uso de la separación en dos etapas permite la optimización independiente de las condiciones de operación para la hidrólisis y la acidogénesis (primera etapa) y para la acetogénesis y metanogénesis (segunda etapa) [12-14]. En general, el proceso de dos etapas aprovecha el fenómeno de separación de fases, derivado naturalmente de diferentes velocidades cinéticas. Esto proporciona reactores acidogénicos y metanogénicos separados, lo que influye en mejoras en la eficiencia del tratamiento, en la producción de energía y en la estabilidad del proceso de los sistemas anaerobios.

El objetivo de este trabajo es evaluar la viabilidad de dos sistemas anaerobios para el tratamiento de suero de queso crudo, uno compuesto por un RACE como única configuración y un segundo sistema con separación de fases (reactor secuencial tanque agitado (RSTA), seguido de un RACE en serie).

# 2. Métodos y Materiales

Para evaluar la producción de metano a través del proceso de DA empleando suero de queso crudo como sustrato, se utilizaron dos configuraciones diferentes: una configuración simple RACE y otra configuración con separación de fases RSTA (acidogénica) + RACE (metanogénica). En el presente acápite se presentan los materiales y métodos empleados en la misma.

## 2.1 Sustrato e inóculo

El sustrato empleado fue el suero de queso crudo, residual procedente de una fábrica quesera, este fue caracterizado y almacenado en tanques plásticos de 5 L a 4 ºC hasta el momento de su empleo en la evaluación de los sistemas anaerobios propuestos. La caracterización fisicoquímica del suero de queso se muestra en la tabla 1.

Parámetros	Promedio			
DQO <sub>t</sub> (mg/L)	100573 ± 30491			
DBO <sub>5,20</sub> (mg/L)	50950 ± 9828			
рН	3,84 – 5,41			
ST (g/L)	65,25 ± 3,02			
STV (g/L)	59,67 ± 3,44			
STF (g/L)	5,38 ± 0,31			
NTK (mg/L)	1352 ± 200,14			
N-NH <sub>3</sub> (mg/L)	182 ± 80			

Tabla 1. Caracterización del suero de queso. Fuente: autores

La biomasa empleada como inóculo en los dos RSTA, que operaron como etapa acidogénica provino de un reactor de cúpula fija a escala piloto que trata excreta vacuna. El inóculo se almacenó y se mantuvo activo a temperatura ambiente mediante el uso de ácido acético como sustrato. Una semana antes de su utilización el inóculo se dejó de alimentar con el objetivo de facilitar la degradación del material aún presente en su constitución y se caracterizó. Este mostró valores de pH igual a 7,15 y concentración de 23,21 g/L de sólidos totales (ST) y 15,69 g/L de sólidos totales volátiles (STV), lo que representa el 67,6 % de los ST, por lo que se considera de buena calidad para el inicio del proceso de DA.

## 2.2 Equipamiento y metodología empleada en los procesos de DA

Los sistemas anaerobios, la configuración simple RACE y la configuración con separación de fases RSTA + RACE, operaron en régimen continuo a escala de banco. El RACE cuenta con una empaquetadura cilíndrica hueca y corrugada de PVC con área específica de 205 m²/m³ dispuesta al azar. Posee un volumen efectivo de 3,4 L y volumen de empaque de 3,23 L. Como RSTA se utilizaron dos frascos de vidrio con doble boca, una para la alimentación y otra para medir el desplazamiento de metano, con barras magnéticas en su interior y empleo de un agitador magnético para mantener el mezclado. En las figuras 1 y 2 se representan los esquemas de la instalación de ambas configuraciones.

#### Operación del RACE como una única configuración

Para la evaluación del tratamiento anaerobio del suero de queso en un sistema con una configuración simple; se le realizó al sustrato una pre-acidificación en frascos erlenmeyer durante dos días y posteriormente se separaban la nata creada del efluente líquido por flotación. El efluente se neutralizó con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y alimentado al RACE, figura 1.

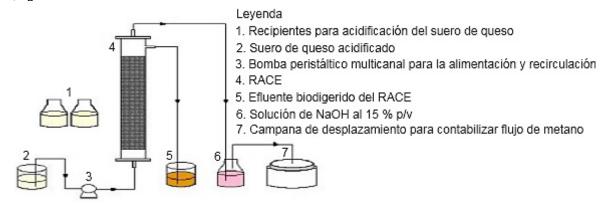
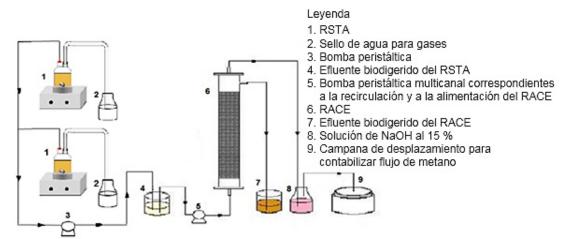


Fig. 1. Esquema de la instalación de la configuración simple (RACE). Fuente: autores

### Operación del sistema anaerobio con separación de fases

Para evaluar la producción de metano en el sistema anaerobio con separación de fases, en la primera fase de acidificación se emplearon dos RSTA (2 días de TRH) y como segunda fase metanogénica se empleó un RACE con las mismas características descritas anteriormente. Los RSTA se alimentaron con suero de queso

previamente neutralizado con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a pH (5,5 y 6,5). Transcurrido el TRH, se detiene la agitación para favorecer la sedimentación y proceder a separar el inóculo del suero de queso biodigerido. La concentración de materia orgánica de los efluentes biodigeridos en los RSTA, se comportó en el intervalo entre 57 500 y 58 500 mg DQO/L. Estos efluentes se neutralizaron nuevamente con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a pH cercanos a la neutralidad y se emplearon como sustrato en la segunda etapa (metanogénesis) en el reactor RACE. El esquema de la instalación se muestra en la figura 2.



**Fig. 2.** Esquema de la instalación de la configuración con separación de fases (RSTA + RACE). Fuente: autores

Se evaluaron como variables de control y de proceso, el pH, la relación de alcalinidades, además del YCH<sub>4</sub> y la eficiencia de eliminación de la DQO para cada una de las COV aplicada. La puesta en marcha del sistema acidogénico/metanogénico comenzó con la operación en serie de ambos rectores y continuando por 50 días. En los RSTA (acidogénicos) se evaluaron COV de 21 y 27 kg DQO/m³ d, que al pasar al RACE (metanogénico), aportaron COV de 3,5 y 6 kg DQO/m³ d, que correspondieron a TRH de 17 y 9,7 días, respectivamente.

Tanto en la configuración simple, como en la configuración con separación de fases la producción de metano fue medida en línea, haciendo pasar previamente el biogás por una solución de NaOH al 15 % p/v con pH > 12, para eliminar el CO<sub>2</sub>. Los valores del volumen de metano producido se reportaron en condiciones de temperatura (0 °C) y presión normal (101,325 kPa) (TPN).

## 2.3 Variables de control y respuesta del proceso de digestión anaerobia

En la evaluación de las configuraciones anaerobias propuestas se controlaron variables como la temperatura a 31 ± 2 °C, el pH y la relación de alcalinidades (ácidos grasos volátiles/carbonato inorgánico total (AGV/CIT)). Como variables de respuestas se evaluaron el YCH<sub>4</sub> y la eficiencia de eliminación de la DQO. Para determinar ambos parámetros se utilizan las ecuaciones (1) y (2).

## Rendimiento de metano (YCH<sub>4</sub>)

El rendimiento de metano se define como la cantidad de metano producida por cierta cantidad de materia orgánica adicionada o eliminada en un sistema anaerobio y describe la actividad metabólica de los microorganismos metanogénicos en el sistema. El rendimiento de metano se calcula por la ecuación (1).

$$Y_{CH_4} = \frac{V_{CH_4}}{DQO_e} \tag{1}$$

Donde:

YCH<sub>4</sub>: rendimiento de metano (m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub>)

VCH<sub>4</sub>: volumen acumulado de metano producido (m<sup>3</sup> CH<sub>4</sub>)

DQOe: demanda química de oxígeno eliminados en el sistema (kg DQOe)

#### Eficiencia de eliminación de la DQO (n)

La eficiencia de eliminación de la DQO se determina mediante la ecuación (2).

$$\eta = \frac{DQO_i - DQO_f}{DQO_i} \bullet 100 \tag{2}$$

Donde:

η: eficiencia de eliminación de la DQO (%)

DQO<sub>i</sub>: demanda Química de Oxígeno inicial del influente (g/L) DQO<sub>f</sub>: demanda Química de Oxígeno final del efluente (g/L)

## 2.4 Ensayos analíticos

Todos los ensayos analíticos se realizaron según los Métodos normalizados para los análisis de aguas y aguas residuales descritos en [15]. Al sustrato y efluentes obtenidos en los estudios se les realizaron análisis de pH, DQO, DBO<sub>5,20</sub>, alcalinidad, sólidos totales, fijos y volátiles (ST, STF, STV), nitrógeno total (NTK) y nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>). La relación de alcalinidades a los ácidos grasos volátiles/carbonato inorgánico total (AGV/CIT) fue determinada de acuerdo con [16]. La composición del biogás CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>S se determinó en un analizador de gases portátil GEOTECH 2000.

# 3. Resultados y Discusión

Los principales parámetros caracterizados al suero de queso crudo (tabla 1), muestran un pH ácido y altas concentraciones en términos de DQO, coincidiendo con lo reportado en la literatura [17]. Al analizar el valor promedio de la relación DBO<sub>5,20</sub>/DQO igual a 0,51, es superior a 0,4, por lo que es biodegradable y puede ser tratado por procesos anaerobios, también el valor promedio de la relación STV/ST igual a 0,91 indica que el suero de queso puede ser tratado por procesos biológicos y en especial por procesos anaerobios. Otros factores a tener en cuenta en función de la caracterización de sustrato es la cantidad de materia orgánica en su relación con el nitrógeno, lo que determina si el proceso anaerobio se desarrollará en adecuadas condiciones o no. Se evidencia altas concentraciones promedio de nitrógeno total (1352 mg/L), que aporta una relación DQO:N (74:1), así como una concentración de amonio dentro del intervalo (50 - 200 mg/L), apropiadas para el desempeño del proceso de DA [18].

## 3.1 Desempeño del RACE como una única configuración

En la figura 3, se muestra la evolución del YCH<sub>4</sub> y de la relación AGV/CIT en el tiempo para las COV evaluadas. En la etapa de arranque y adaptación al nuevo sustrato, se observan incrementos en el YCH<sub>4</sub> hasta valores de 0,102 m³ CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub>. En este sentido, la relación AGV/CIT tomada como parámetro de monitoreo de la estabilidad del sistema muestra cierta dispersión, pero siempre se mantuvo por debajo de 0,3 (valor recomendado de operación estable) [18]. Los bajos valores en el YCH<sub>4</sub>, pudieran corresponderse con la adaptación del inóculo al sustrato, también al efecto de la alta concentración de lípidos, lo cual pudiera inhibir a las bacterias acetogénicas, afectando la producción de metano [7].

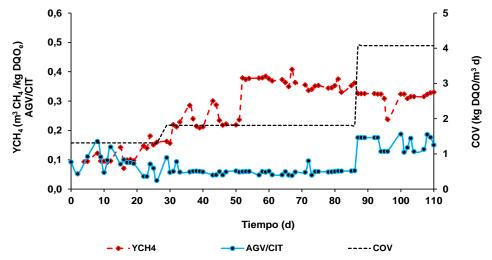


Fig. 3. Evolución del YCH4 y de la relación AGV/CIT en el tiempo para las COV evaluadas. Fuente: autores

Una vez estabilizada la relación de alcalinidades AGV/CIT, se incrementa la COV a valores promedios de 1,81 kg DQO/m³ d, para esta COV alrededor del día 52 se comienzan a obtener incrementos en el YCH4 con un valor promedio de 0,363 m³ CH4/kg DQOe, dentro del intervalo reportado en la literatura (0,28 – 0,38 m³ CH4/kg DQOe) [7]. Mostrando un comportamiento estable dado por la relación de alcalinidades y las eficiencias de eliminación de DQO que siempre estuvo por encima del 90 %. Al incrementar la COV a 4 kg DQO/m³ d, se comenzó a evidenciar un ligero detrimento en el YCH4 disminuyendo a un valor promedio de 0,283 m³ CH4/kg DQOe. Se reporta que para COV superiores a 3 kg DQO/m³ d comienza a incrementar la acumulación de AGV, lo cual tiene un efecto de inhibitorio significante en la actividad del metanogénica de la biopelícula [7].

La tabla 2, muestra para cada COV evaluada, la caracterización de los efluentes generados (valores promedios) y los parámetros de operación y control definidos para monitorear el sistema. De forma general, bajo las COVs evaluadas se evidencia que el pH del efluente se encontró dentro del intervalo 7,34 y 7,54, valores cercanos y dentro del intervalo adecuado para culturas combinadas de bacterias y arqueas anaerobias (6,8 – 7,4) [18].

Variables de control	COV (kg DQO/m³ d)			
variables de control	1,31 ± 0,36	1,81 ± 0,43	4,07 ± 0,56	
pH efluente	7,54 - 8,05	7,48 -7,95	7,34 - 7,75	
ST (mg/L)	10 060 ± 3 200	9 908 ± 3 010	16 320 ± 3 180	
NTK (mg/L)	220,9 ± 16,02	250,1 ± 45,6	453,6 ± 23,8	
N-NH <sub>3</sub> (mg/L)	-	123,2	78,4	
AGV/CIT	0,09	0,06	0,16	
ηDQO (%)	93 ± 1,68	95 ± 1,99	91 ± 1,38	
YCH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> NCH <sub>4</sub> /kg DQO <sub>e</sub> )	0,102 ± 0,05	$0,308 \pm 0,07$	$0,283 \pm 0,02$	

**Tabla 2**. Parámetros de operación y control del RACE, características de los efluentes generados. Fuente:

Según los resultados obtenidos es posible operar el RACE hasta COVs de 4 kg DQO/m³ d; alcanzando valores de eficiencia de eliminación de la DQO de 91 % y un YCH4 de 0,283 m³ CH4/kg DQO<sub>e</sub>. También, se determinó para esta COV el contenido del biogás generado, su composición estuvo dada por CH4 55,3 %, CO<sub>2</sub> 27 %, O<sub>2</sub> 2,4 % y H<sub>2</sub>S 726 ppm; evidenciando que el contenido de metano se encuentra dentro del intervalo reportado en la literatura (50 - 95 %) [18]. La productividad de metano fue de 1,02 L CH4/L<sub>reactor</sub>·d, valores cercanos a los 1,15 L CH4/L<sub>reactor</sub>·d, reportados por [17] al utilizar un UASB-híbrido.

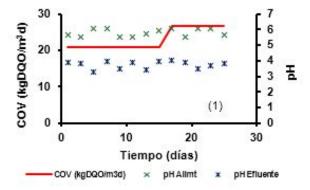
## 3.2 Desempeño del sistema con separación de fases

#### Reactores acidogénicos (RSTA)

Los RSTA (acidogénicos) fueron alimentados con el suero de queso crudo sin diluir, con concentraciones de materia orgánica en términos de DQO promedios igual a 73 100 mg/L y valores de pH entre 5,5 y 6,5; mejor intervalo para el metabolismo acidogénico [19]. Se evaluaron COV de 21 y 27 kg DQO/m³ d, que correspondieron a 3,5 y 2,8 días de TRH. Los principales indicadores de desempeño para todas las condiciones de los dos RSTA, se muestran en las figuras 4 y 5, además de un resumen de los mismos en la tabla 3. En la figura 4 se muestra como varía el pH con respecto al tiempo para las COV aplicadas a los RSTA 1 y RSTA 2.

Tabla 3. Parámetros de operación y control de los reactores acidogénicos RSTA 1 y RSTA 2. Fuente: autores

	RS <sup>-</sup>	RSTA 1		RSTA 2	
Parámetros	COV (kg		COV (kgDQO/m³ d)		
	21	27	21 27		
pH afluente	5,55 - 6,08	5,51 - 6,07	5,52 - 6,11	5,10 - 6,05	
pH efluente	3,26 - 3,95	3,51 - 4,01	3,74 - 4,02	3,59 - 4,05	
TRH (días)	3,5	2,8	3,5	2,8	
nDQO (%)	19,92 ± 6,05	19,98 ± 0,74	20,87 ± 4,14	22,15 ± 2,37	



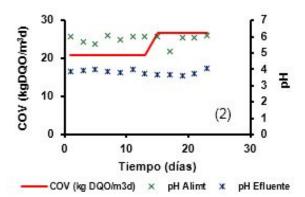


Fig. 4. pH en el tiempo en función de las COVs aplicadas en los RSTA 1 y RSTA 2. Fuente: autores

Como se observa en la figura 4 existe una semejanza con respecto al comportamiento del pH en cada reactor y una ligera disminución de este parámetro en la alimentación con respecto al pH del efluente; los cuales variaron para el afluente en el intervalo de 5,10 a 6,11 y en el efluente de 3,26 a 4,05. Esta disminución era de esperar, y puede atribuirse a la producción de AGV por las bacterias acidogénicas [18, 19]. Los resultados muestran que el pH influye en las vías metabólicas y el tipo de fermentación deseado, pero no influye en la producción de metano en comparación con un proceso de una sola etapa.

Con respecto a la eficiencia de eliminación de la DQO, según muestra la figura 5, en ambos reactores ocurre un incremento exponencial de este parámetro en los primeros tres días. Lo anterior puede estar en correspondencia con la presencia de cultivos combinados de bacterias y arqueas anaerobias, pues el inóculo no estaba adaptado para este fin. Después del tercer día la nDQO comienza a estabilizarse, alcanzando valores promedios para las dos COV estudiadas (21 y 27 kg DQO/m³ d) de aproximadamente entre el 20 y 22 %. En ambos reactores se observa una baja eliminación de DQO, debido a la generación de intermediarios orgánicos, como los AGV, comportamiento similar fue reportado por [20], al obtener un porcentaje máximo de eliminación de DQO de 21,98 % en condiciones de pH = 6 y relación sustrato/inóculo (S/I) = 25,86 g DQO/gVSS.

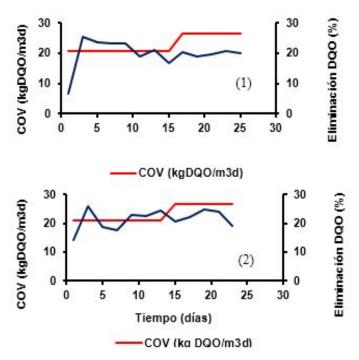


Fig. 5. Eficiencia de eliminación de DQO en función de las COVs aplicadas en los RSTA 1 y RSTA 2. Fuente: autores

Eficiencias de eliminación de DQO similares fueron reportadas por [19], cuando operó un RSTA acidogénico con TRH de 24 horas alcanzando acidificación cercana al 50 % y ηDQO de 18 %. También [15], en la evaluación de un UASB-híbrido como reactor acidogénico tratando suero de queso, alcanzaron COV de 24,9 kg DQO/m³ d) y las ηDQO obtenidas estuvieron en un intervalo entre 15,9 y 21,8 %, valor similar al obtenido en la presente investigación. Todos los estudios coinciden en que la etapa de acidogénesis consiste principalmente en la transformación de la DQO en productos disponibles para la próxima fase [17, 19].

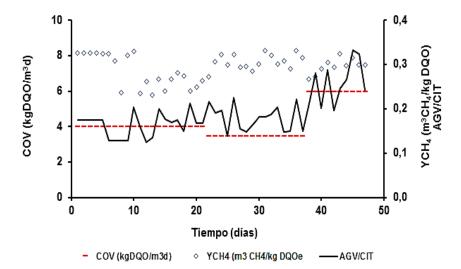
## Reactor metanogénico RACE (como segunda fase)

En la tabla 4 se resumen los principales parámetros de operación, control y respuesta para las COV evaluadas. Se observa que el pH del efluente para cada COV evaluada tuvo valores entre 7,35 y 8,31, valores cercanos a la neutralidad, adecuado para las arqueas metanógenas y al intervalo propuesto para la metanogénesis por [18], entre 6,5 y 8,2. De igual forma la relación de alcalinidades AGV/CIT, se comportó por debajo de 0,3, acreditando la estabilidad del proceso [16].

La figura 6 muestra el comportamiento del YCH<sub>4</sub> y de la relación AGV/CIT en el tiempo para las COV aplicadas en el RACE. En la figura se representó el desempeño de ambos estudios, los datos correspondientes al sistema con separación de fases se graficaron a continuación de la evaluación del RACE cuando operó como una sola configuración, a partir del día 22; con fines de poder comparar ambas propuestas.

Tabla 4. Parámetros de operación y variables del proceso del RACE (metanogénesis). Fuente: autores

Parámetros	COV (kg [	COV (kg DQO/m³ d)		
r drametros	3,5	6		
TRH (días)	17	9,7		
Alc. CIT (mg como CaCO <sub>3</sub> /L)	7 393 ± 890	11 018 ± 1923		
Alc. AGV (mg ácidos volátiles/L)	1 320 ± 285	2 889 ± 858		
AGV/CIT	0,18	0,26		
YCH <sub>4</sub> (m <sup>3</sup> CH <sub>4</sub> /kg DQO <sub>e</sub> )	0,306 ± 0,017	0,297 ± 0,017		
ηDQO (%)	96,44 ± 1,42	94,91 ± 1,04		
pH efluente	Entre 7,39 y 8,31	Entre 7,35 y 7,83		
DQO efluente (mg/L)	2 078 ± 797	2 927 ± 570		



**Fig. 6.** YCH<sub>4</sub> y relación AGV/CIT en el tiempo en función de las COVs aplicadas al RACE como segunda fase (metanogénica). Fuente: autores

La figura 6 refleja la influencia de la separación de fases en el YCH<sub>4</sub>, ante el incremento de la COV al reactor metanogénico, el YCH<sub>4</sub> comienza a estabilizarse alcanzando valores promedio de 0,297 m³ CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub> para la COV de 6 kg DQO/m³ d, ligeramente superiores al YCH<sub>4</sub> (0,283 m³ CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub>) obtenido en el RACE cuando operó como una sola configuración a una COV de 4 kg DQO/m³ d. Estos valores concuerdan con los reportados en trabajos previos por [17, 19], donde los reactores metanogénicos alcanzaron YCH<sub>4</sub> de hasta 0,308 m³ CH<sub>4</sub>/kg DQO<sub>e</sub>.

En cuanto a la productividad de metano en el presente estudio para las dos COV evaluadas se obtienen valores entre 1,01 y 1,67 L CH<sub>4</sub>/L<sub>reactor</sub> d. Se evidencia que con el sistema con separación de fases se logra incrementar la COV a 6 kg DQO/m³ d y con ello la productividad de CH<sub>4</sub> a 1,67 L CH<sub>4</sub>/L<sub>reactor</sub> d. Este valor es superior a los 1,02 L CH<sub>4</sub>/L<sub>reactor</sub> d obtenidos cuando se empleó el RACE como única configuración a una COV de 4 kg DQO/m³ d. También son superiores a los 1,15 L CH<sub>4</sub>/L<sub>reactor</sub> d, reportados por [17] al utilizar un UASB-híbrido.

Con respecto a la eficiencia de eliminación de la DQO, al incorporar la estrategia de separación de fases, con el incremento de COV se observa una estabilidad en cuanto a la  $\eta$ DQO, en el RACE se obtuvo un valor promedio de  $\eta$ DQO de 95,85 %, valor ligeramente superior al reportado por [17] de 89 %, al utilizar un UASB-híbrido como reactor metanogénico bajo una COV de 4 kg DQO/m³ d. Los resultados evidencian lo tentativo del empleo de los RACE como segundas configuraciones en sistemas con separación de fases, principalmente en cuanto a la calidad de efluente obtenido y a la productividad de metano. De forma general el estudio refleja que es posible operar un sistema con separación de fases para el tratamiento del suero de queso, donde la fase acidogénica lo hará a COV de 27 kg DQO/m³ d en un TRH de 2,75 días y la fase metanogénica operará a COV de 6 kg DQO/m³ d en un TRH de 9,7 días. La composición del biogás generado bajo esta COV estuvo dada por CH4 66,1 %, CO2 28 %, O2 2,6 % y H2S 431 ppm; de igual forma dentro del intervalo reportado en la literatura (50 – 95 %) [18], pero mostrando un incremento en el porcentaje de CH4, relativo a que el RACE recibe como sustrato un afluente con metabolitos más biodisponibles para las arqueas metanogénicas [21].

En cuanto a la calidad del efluente biodigerido, se observa que aún posee altas concentraciones en términos de DQO (2 927 ± 570 mg/L), por lo que se propone el empleo de un pos-tratamiento, para reducir su poder contaminante antes de su vertimiento. Autores como [22] evidencian la factibilidad de la recuperación de iones amonio en zeolita natural como un posible pos-tratamiento, para el empleo posterior de la zeolita como un fertilizante de liberación lenta en suelos.

Según los resultados es posible tratar el suero de queso en un RACE como una sola configuración tecnológica. Para ello el RACE debe operar bajo una COV igual o inferior a 4 kg DQO/m³ d correspondiente a 13 días de TRH. Sin embargo, la operación debe ser muy cuidadosa previendo la rápida acidificación del proceso, pues cualquier desbalance influirá en la producción de CH₄ [23]. Sin embargo, la separación de fases microbianas permitió incrementos en la producción de metano de 64 % cuando se operó un RSTA + RACE. La digestión anaeróbica en dos etapas puede superar estas dificultades de operar en una sola etapa, ya que este proceso reduce el tiempo de residencia, aumenta el rendimiento de metano (CH₄) y produce hidrógeno (H₂); aunque no fue objeto de evaluación la producción de este último en el presente estudio. También exhibe una mayor producción de energía, proporciona una estabilidad óptima del proceso y un mejor control sobre los parámetros cruciales que rigen el mismo, lo que conlleva a una reducción de emisiones de Gases de efecto invernadero (GEI) [24, 25].

## **Conclusiones**

La producción de metano por digestión anaerobia a partir de suero de queso crudo fue evaluada en sistemas con y sin separación de fases. Se evidencia que la separación de fases cuando se operó un sistema RSTA + RACE, permite un mayor aprovechamiento del contenido de carbono de este residual. El sistema logra incrementar los indicadores de operación y respuesta. Se alcanza en el RSTA una COV estable de 27 kg DQO/m³ d, lo que permite que en el RACE se logre incrementar la COV a 6 kg DQO/m³ d, obteniendo eficiencias de eliminación de DQO superiores al 95 % con productividades y rendimientos de YCH4 promedios iguales a 1,67 L CH4/L<sub>reactor</sub> d y 0,297 m³ CH4/kg DQO<sub>e</sub>, respectivamente..

## Referencias

- Kovalev AA, Mikheeva ER, Panchenko V, Katraeva I V., Kovalev DA, Zhuravleva EA, Litti Y V. Optimization of Energy Production from Two-Stage Mesophilic—Thermophilic Anaerobic Digestion of Cheese Whey Using a Response Surface Methodology Approach. Energies (Basel). 2022;15,8928. https://doi.org/10.3390/en15238928
- Escalante H, Castro L, Amaya MP, Jaimes L, Jaimes-Estévez J. Anaerobic digestion of cheese whey: Energetic and nutritional potential for the dairy sector in developing countries. Waste Management. 2018;71:711–8. <a href="https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.026">https://doi.org/10.1016/j.wasman.2017.09.026</a>
- Alvarado-Cóndor PM, Núñez-Pérez J, Valladares RC, Pais-Chanfrau JM. Multiple-objective optimization of lacticfermentation parameters to obtain a functional-beverage candidate. Electronic Journal of Biotechnology. 2022;58:10–13. https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2022.04.001
- Chaviano-Núñez Q, Hernández-Curbelo MA. Un método para el mejoramiento del desempeño ambiental de la producción de queso azul de Cuba. Revista Científica Agro-Ecosistemas. 2020;8:97–106.
- Arotingo Guandinango HP, Valladares R del C, Núñez Pérez J, Lara Fiallos MV, Pereda Reyes I, Pais-Chanfrau JM. Modelisation of the Biomethane Accumulation in Anaerobic Co-Digestion of Whey and Sugarcane Molasse Mixtures. Fermentation. 2023;9:834. https://doi.org/10.20944/preprints202308.1024.v1
- Dębowski M, Zieliński M, Kisielewska M, Krzemieniewski M, Makowska M, Grądkowski M, Tor-Świątek A. Simulated dairy wastewater treatment in a pilot plant scale magneto-active hybrid anaerobic biofilm reactor (MA-HABR). Brazilian Journal of Chemical Engineering. 2018;35:553-562. https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180352s20170036
- Karadag D, Körołlu OE, Ozkaya B, Cakmakci M. A review on anaerobic biofilm reactors for the treatment of dairy industry wastewater. Process Biochemistry. 2015;50(2):262-271. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.11.005
- Karadag D, Koroglu OE, Ozkaya B, Cakmakci M, Heaven S, Banks C, Serna-Maza A. Anaerobic granular reactors for the treatment of dairy wastewater: A review. Int J Dairy Technol. 2015;68(4):459-470. <a href="https://doi.org/10.1111/1471-0307.12252">https://doi.org/10.1111/1471-0307.12252</a>
- Cruz-Salomón A, Ríos-Valdovinos E, Pola-Albores F, Lagunas-Rivera S, Cruz-Rodríguez RI, Cruz-Salomón K del C, Hernández-Méndez JME, Domínguez-Espinosa ME. Treatment of cheese whey wastewater using an expanded granular sludge bed (EGSB) bioreactor with biomethane production. Processes. 2020;8(8):931. https://doi.org/10.3390/PR8080931
- Dereli RK, van der Zee FP, Ozturk I, van Lier JB. Treatment of cheese whey by a cross-flow anaerobic membrane bioreactor: Biological and filtration performance. Environ Res. 2019;168:109-117. <a href="https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.09.021">https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.09.021</a>
- Asunis F, De Gioannis G, Dessì P, Isipato M, Lens PNL, Muntoni A, Polettini A, Pomi R, Rossi A, Spiga D. The dairy biorefinery: Integrating treatment processes for cheese whey valorisation. J Environ Manage. 2020;276:111240. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111240
- 12. Kushwaha JP, Srivastava VC, Mall ID. An overview of various technologies for the treatment of dairy wastewaters. Crit Rev Food Sci Nutr. 2011;51(5):442-452. https://doi.org/10.1080/10408391003663879

- Rajendran K, Mahapatra D, Venkatraman AV, Muthuswamy S, Pugazhendhi A. Advancing anaerobic digestion through twostage processes: Current developments and future trends. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2020;123:109746. https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.109746
- Fernández C, Cuetos MJ, Martínez EJ, Gómez X. Thermophilic anaerobic digestion of cheese whey: Coupling H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> production. Biomass Bioenergy. 2015;81:55-62. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.05.024
- Rice E, Baird R, Eaton A, Clesceri L. Editors. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd edition. Washington DC, USA. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF); 2012.
- 16. Lossie U, Pütz P. Targeted control of biogas plants with the help of FOS/TAC. Practice Report Hach-Lange; 2009.
- 17. Cárdenas Medina KN, Fajardo Ortiz MC, Schettino Bermúdez BS, Meraz Rodríguez MA, Castilla Hernández P. Acidogenesis/methanogenesis from acid cheese whey in hybrid-UASB reactors. Revista Mexicana de Ingeniera Quimica. 2020;19(Sup. 1):17-27. <a href="https://doi.org/10.24275/rmig/lA1420">https://doi.org/10.24275/rmig/lA1420</a>
- Lisowyj M, Wright MM. A review of biogas and an assessment of its economic impact and future role as a renewable energy source. Reviews in Chemical Engineering. 2020;36(3):401-421. <a href="https://doi.org/10.1515/revce-2017-0103">https://doi.org/10.1515/revce-2017-0103</a>
- 19. Saddoud A, Hassaïri I, Sayadi S. Anaerobic membrane reactor with phase separation for the treatment of cheese whey. Bioresour Technol. 2007;98(11):2102-2108. <a href="https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.013">https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.013</a>
- Pérez Morales J, Arroyo C, Morales Zarate E, Hernández García H, Méndez Acosta HO, Hernández Martínez E. Mathematical modeling of volatile fatty acids production from cheese whey: Evaluation of pH and substrate-inoculum ratio effects. Fuel. 2021;287:19510. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119510
- Kovalev AA, Mikheeva ER, Katraeva I V., Kovalev DA, Kozlov AM, Yu.V. L. Bioenergy recovery from two-stage mesophilic-thermophilic anaerobic digestion of cheese whey. Int J Hydrogen Energy.
   2023;48(12),4676-4685.
   https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.11.003
- Kotoulas A, Agathou D, Triantaphyllidou IE, Tatoulis TI, Akratos CS, Tekerlekopoulou AG, Vayenas D V. Zeolite as a potential medium for ammonium recovery and second cheese whey treatment. Water. 2019;11(1):136. https://doi.org/10.3390/w11010136
- 23. Gensollen G, Pourcher AM, Duedal AL, Picard S, Le Roux S, Peu P. Impact of pH in the first-stage of a two-stage anaerobic digestion on metabolic pathways and methane production. Bioresour Technol Rep. 2022;20:101256. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101256
- 24. Lembo G, Signorini A, Marone A, Carbone C, Agostini A. Hydrogen and Methane Production by Single- and Two-Stage Anaerobic Digestion of Second Cheese Whey: Economic Performances and GHG Emissions Evaluation. Energies. 2022; 15(21):7869. <a href="https://doi.org/10.3390/en15217869">https://doi.org/10.3390/en15217869</a>
- Srisowmeya G, Chakravarthy M, Nandhini Devi G. Critical considerations in two-stage anaerobic digestion of food waste – A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2020;119:109587. https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.109587

#### Editor:

Alberto Julio Rodríguez Piñeiro.

Universidad Tecnológica de La Habana José Antonio Echeverría

#### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses

#### Contribución de los autores

#### Ania Cabrera Díaz.

Participó en la conceptualización, metodología, supervisión, en el análisis de los resultados, en la preparación de del borrador original, así como, en la revisión crítica de su contenido, redacción y aprobación del trabajo final.

#### Norelvys Borges Alonso.

Trabajó en la experimentación, en el análisis de resultados, en la preparación de parte del borrador original y en la revisión crítica de su contenido, redacción y aprobación del trabajo final.

#### Miguel Ángel Díaz Marrero.

Participó en la metodología, construcción de los reactores, adecuación del material de empaque, supervisión, en el análisis de resultados, redacción del borrador preliminar, así como, en la revisión crítica de su contenido, redacción y aprobación del trabajo final.

#### Luis Evelio Guerra Díaz.

Participó en la construcción de los reactores, la toma de muestras y análisis fisicoquímicos, trabajó además, en la revisión crítica de su contenido, redacción y aprobación del trabajo final.

#### José-Manuel País-Chanfrau.

En el análisis de resultados, en la edición, así como, en la revisión crítica de su contenido, redacción y aprobación del trabajo final.

#### Ileana Pereda Reyes.

Participó en la supervisión, en el análisis de resultados, la edición; así como, en la revisión crítica de su contenido, redacción y aprobación del trabajo final.