

Desarrollo de la biopelícula durante el arranque de un reactor anaerobio híbrido

Inés Adriana Juárez-García ^{1*}, Raúl Snell-Castro ², Ofelia Landeta-Escamilla ¹, Norma Alejandra Vallejo-Cantú ¹, Alejandro Alvarado-Lassman ¹ y Erik Samuel Rosas-Mendoza ³

¹ Laboratorio de ambiental I, División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba, Orizaba, Veracruz, México

² Departamento de Ingeniería Química, CUCEI-Universidad de Guadalajara, Blvd. Marcelino García Barragán 1421, Guadalajara, Jalisco, México

³ Laboratorio de ambiental I, División de Estudios de Posgrado e Investigación, CONACYT-Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba, Orizaba, Veracruz, México

* Autor de correspondencia: adri.jg9591@gmail.com

Contaminación de agua, suelo y aire (Tratamientos biológicos).

Resumen: Actualmente, los reactores de biopelícula ofrecen una mejor eficiencia en el proceso de producción de biogás, en comparación con los reactores de lodo granular, debido a que poseen una mayor área de contacto entre el sustrato y la biomasa. Por lo tanto, analizar el desarrollo de la biopelícula adherida al medio de soporte se posiciona como un caso de interés y ofrece un panorama general del bioproceso que permite tratar efluentes con alta carga orgánica, como lo es la fracción líquida obtenida de la parte orgánica de los Residuos Sólidos Urbanos. En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo evaluar el desarrollo de biopelícula en un reactor anaerobio híbrido usando como sustrato la fracción líquida de residuos sólidos orgánicos. Para el crecimiento de la biopelícula se utilizó un Reactor Anaerobio Híbrido (RAH), se utilizaron 1.5 L de Extendsphere™ colonizado (36.36 g de Biomasa) como inóculo, con volumen útil del RAH de 2.5 L, operado a temperatura de 35±2°C y pH de 6.8-7.2. Se caracterizó el sustrato por medición de pH, ST, SV, DQO_T y DQO₅. El monitoreo del RAH se realizó bajo los mismos parámetros que la caracterización del sustrato, además se determinaron alcalinidad y rendimiento de metano. Se realizó el análisis físico de la biopelícula por Materia Volátil Adherida y análisis de micrografías del soporte colonizado. Como resultados del arranque del RAH con 49 días de operación, el crecimiento de la biopelícula fue de 57.03, 41.15 y 54.30% para las secciones superior, media e inferior del soporte en el lecho fluidizado inverso, lo que se puso de manifiesto que la remoción de DQO_T fuera 49% y se produjeran alrededor de 5.2 L de biogás con un rendimiento de 0.22 L CH₄/gDQO_{rem}. No se alcanzaron mayores remociones ya que el bioproceso aún no alcanza la estabilidad de acuerdo con la remoción de DQO, el rendimiento de metano y el factor de alcalinidad igual a 0.51. Como trabajo a futuro, se continúa operando el RAH, hasta alcanzar su estabilidad y un mayor porcentaje de colonización.

Palabras clave: Residuos sólidos, reactor híbrido, biopelícula, soporte fluidizado.

Biofilm development during start-up of a hybrid anaerobic reactor

Abstract: Currently, biofilm reactors offer a better efficiency in the biogas production process, compared to granular sludge reactors, because they have a larger contact area between the substrate and the biomass. Therefore, analyzing the development of the biofilm adhered to the support medium is positioned as a case of interest and offers an overview of the bioprocess that allows treating effluents with high organic load, such as the liquid fraction obtained from the organic part of the Municipal Solid Waste. In this context, the present research aims to evaluate the development of biofilm in a hybrid anaerobic reactor using the liquid fraction of organic solid waste as substrate. For biofilm growth an Anaerobic Hybrid Reactor (AHR) was used, 1.5 L of colonized Extendsphere™ (36.36 g of Biomass) was used as inoculum, with useful volume of the AHR of 2.5 L, operated at a temperature of 35±2°C and pH of 6.8-7.2. The substrate was characterized by measuring pH, TS, VS, τ COD and ς COD. AHR monitoring was performed under the same parameters as the substrate characterization, in addition alkalinity and methane yield were determined. Physical analysis of the biofilm by Volatile Adherent Matter and micrographic analysis of the colonized substrate were performed. As results of the AHR start-up with 49 days of operation, the biofilm growth was 57.03, 41.15 and 54.30% for the upper, middle and lower sections of the support in the reverse fluidized bed, which showed that the COD removal was 49% and about 5.2 L of biogas were produced with a yield of 0.22 L CH₄/gDQO_{rem}. Higher removals were not achieved since the bioprocess still does not reach stability according to the COD removal, methane yield and alkalinity factor equal to 0.51. As future work, the RAH will continue to be operated until it reaches stability and a higher percentage of colonization.

Keywords: Solid waste, hybrid reactor, biofilm, fluidized support.

Introducción

La Digestión Anaerobia (DA) al efectuarse en una serie de etapas realizadas por comunidades microbianas (Corrales *et al.*, 2015), considera muy importante la composición del material a utilizar como sustrato, ya que aporta los

nutrientes para el metabolismo de los microorganismos implicados y tiene una influencia directa en la producción de biogás (Wid y Horan, 2018). El proceso de DA tiene más de un siglo de práctica y recientemente se ha utilizado como estrategia de aprovechamiento de desechos orgánicos, ayudando a reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, al aprovechar el carbono procedente de los desechos para transformarlo en biogás (Horan, 2018).

En la Ciudad de Orizaba, Veracruz, el Mercado Municipal Emiliano Zapata es un generador de Residuos Sólidos Urbanos (RSU). La composición que presentan los RSU consta de 84.17% de fracción orgánica de origen agrícola (residuos de frutas, verduras, leguminosas, tubérculos, cítricos, etc.) y el restante 15.83% lo ocupan los residuos sólidos inorgánicos y residuos sólidos orgánicos de difícil biodegradabilidad (Apanco-Rosas, 2018). Esta fracción orgánica posee un alto contenido de humedad por lo que resulta ventajoso separar mecánicamente estos en dos fracciones líquida y sólida mediante pretratamiento para aprovechar adecuadamente todo el residuo (Alvarado-Lassman *et al.*, 2016).

La fracción líquida puede valorizarse a través del proceso de DA, por lo que surge la necesidad de utilizar tecnologías que combinen una alta eficiencia de tratamiento con bajos costos de construcción y mantenimiento (Lettinga *et al.*, 1983). Los principales tipos de reactores de alta carga son: Reactores UASB (reactor anaerobio de flujo ascendente y manto de lodos), Reactores EGSB (reactor de lecho de lodo granular expandido) y Reactores de biopelícula (Lorenzo y Obaya, 2005; Deng *et al.*, 2020).

Los procesos basados en biopelículas se han posicionado como una elección ventajosa para la reducción de la demanda química de oxígeno (DQO) y nutrientes sin varias de las restricciones de los procesos de lodos activados (Zinatizadeh y Ghaytooli, 2015). Algunas ventajas de los procesos basados en biopelícula son: ofrecen una mayor superficie de contacto entre la materia orgánica y la biomasa, además de la fácil separación del agua tratada de la biomasa y de un diseño de sistema compacto (Houbron, 2012). Las biopelículas son comunidades microbianas complejas que sintetizan y secretan una matriz de protección que adhiere firmemente la biopelícula a una superficie biótica o abiótica (Phillips *et al.*, 2010). Actualmente, en la DA se ha utilizado Extendsphere™ como superficie abiótica o soporte para la biopelícula, que está formado por pequeñas partículas de sílice con un diámetro promedio de 169 μm , una burbuja de aire en el interior, densidad de 0.7 g/cm^3 , 170 μm y área superficial de 0.0355 m^2/g (Cruz-Ramos, 2019). La formación de una biopelícula en el soporte se lleva a cabo en cuatro fases: 1) Adsorción de productos orgánicos con los cuales los microorganismos no están relacionados, 2) Adhesión de especies bacterianas pioneras, 3) Unión de otros microorganismos a la superficie luego de la adhesión de las pioneras en cuestión de días y 4) Aglomeración: se produce el agregado de partículas y células (Rosales y Rastelli, 2013).

Por lo anterior y reconociendo la importancia del crecimiento de la biopelícula como un factor influyente en el tratamiento anaerobio de efluentes con alta carga orgánica, la presente investigación tiene como objetivo evaluar el desarrollo de biopelícula en un reactor anaerobio híbrido usando como sustrato la fracción líquida de residuos sólidos orgánicos.

Materiales y Métodos

El desarrollo de la biopelícula se llevó a cabo en un Reactor Anaerobio Híbrido (RAH), con un volumen útil de 2.5 L, a una temperatura mesofílica controlada de $35\pm 2^\circ\text{C}$, pH controlado 7 ± 0.2 , agregando NaOH 3M al influente del RAH. La carga volumétrica aplicada (Cva) se trabajó entre 7 y 8 $\text{gDQO}/\text{L}\cdot\text{d}$. El RAH se montó en dos secciones (superior e inferior), ambas construidas por tubos de acrílico. La primera sección es un Lecho Fijo (LF) que tiene como medio de soporte 331 anillos poliméricos con longitud promedio de 2.76 centímetros los cuales fueron recubiertos por esmalte acrílico ya que Hadjiev *et al.*, (2007) mencionan que los materiales recubiertos permiten una colonización más rápida, con densidades celulares más altas. La segunda sección un Lecho Fluidizado inverso (LFI), tiene una longitud de 80 cm y 3.5 pulgadas de diámetro, el medio de soporte para esta sección es Extendsphere™ que es una arena sílice con diámetro de 170 μm y densidad de 0.7 kg/m^3 . El diseño del sistema se muestra en la Figura 1.

Sustrato e inóculo

El sustrato de alimentación del RAH se obtuvo a partir de la recolección de los Residuos Sólidos Orgánicos (RSO) que se generan en el Mercado Municipal Emiliano Zapata de Orizaba, Ver. Los RSO se recolectaron, se separaron y se trituraron, para obtener una pasta, la cual se centrifuga y se filtra, siguiendo el procedimiento de Alvarado-Lassman *et*

al., (2016) para así obtener la Fracción Líquida de los Residuos de Frutas y Verduras (FLRFV). Por otro lado, se inoculó el RAH con la cantidad de 1.5 L de un soporte colonizado llamado Extendosphere™ y fue obtenido de un Reactor EGSB ubicado en la Planta Piloto de Procesamiento y Aprovechamiento de Residuos Sólidos del Instituto Tecnológico de Orizaba.

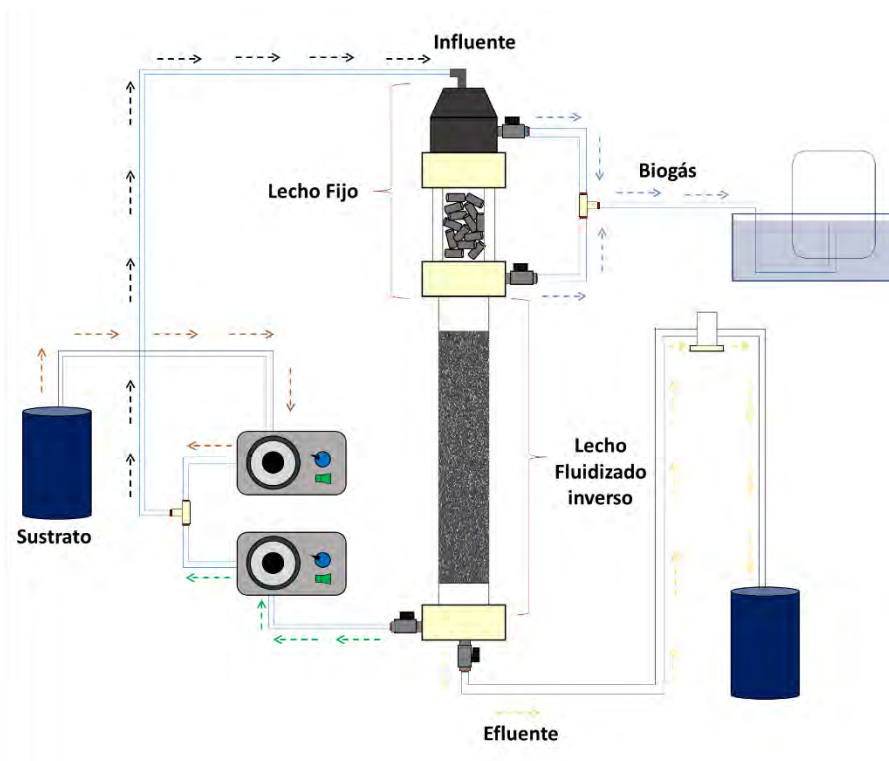


Figura 1. Diagrama del Reactor Anaerobio Híbrido.

Operación del RAH

Antes de la evaluación del crecimiento de la biopelícula en el RAH, el sustrato se trabajó con pH superior de 7.5 que de acuerdo con Jáuregui-Jáuregui *et al.*, (2014) funciona como estrategia para favorecer la formación de la biopelícula. Después de la fase de inicio, el RAH se operó en modo continuo con Cva entre 7 y 9 gDQO/Ld. La FLRFV se mezcló con el efluente por medio de un circuito de recirculación para garantizar el mezclado homogéneo sin variar el flujo de alimentación y la Cva. El biogás se recuperó por técnica de arrastre.

Determinaciones analíticas a la FLRFV

Los métodos analíticos y equipos que se utilizaron para la caracterización de la FLRFV fueron: Demanda Química de Oxígeno total (DQO_T) y soluble (DQO_S) por el método colorimétrico, utilizando un Digestor ODYSSEY DR2500 marca HACH y un espectrofotómetro HACH DR/2500; Sólidos totales (ST) y Sólidos Volátiles (SV) por el método gravimétrico, utilizando una estufa de secado marca RIOSSA modelo H-33 y una mufla marca Barnstead/Themolyne modelo Furnace 1300; y el Potencial de Hidrógeno (pH) por método potenciométrico haciendo uso de un potenciómetro marca OAKTON modelo pH 700.

Análisis físico de la biopelícula

Se realizó la caracterización de la biopelícula fija al soporte durante el arranque del RAH por medio de la toma de microfotografías del soporte para observar la biopelícula y también se llevó a cabo la técnica de Materia Volátil Adherida (MVA), por el procedimiento gravimétrico de sólidos volátiles, que se apoya en tomar muestras del lecho fluidizado en tres partes arriba, en medio y debajo. Se midieron 3 mL de soporte colonizado y se colocaron en muestreadores

metálicos a peso constante. Se secaron a 105°C por 24 h y se calcinaron a 550°C a lo largo de 2 horas; con la diferencia de pesos se obtuvo la MVA, que es equivalente a la biomasa en g/L.

Monitoreo del RAH

Para evaluar el crecimiento de la biopelícula, se monitoreo el RAH con los parámetros mencionados en la sección de Determinaciones Analíticas a la FLRFV, también se midió el rendimiento de metano a partir del día 27 y cada tres días, por cromatografía de gases utilizando un cromatógrafo de gases Buck 310.

Así mismo, para tener mayor control, se midió la alcalinidad del proceso mediante la técnica volumétrica propuesta por Bernad *et al.*, (2000) utilizando H₂SO₄ 0.02N ya que es preciso generar condiciones ambientales adecuadas para la formación y crecimiento de la biopelícula en el soporte, con el objetivo de lograr la remoción esperada en el tratamiento. Pérez y Torres (2008) recomiendan utilizar el índice de alcalinidad como indicadores de control del proceso anaerobio para todo tipo de agua residual, teniendo en cuenta siempre la verificación del rango aplicable en cada caso. El factor de alcalinidad se calcula por la Ecuación 1.

$$\alpha = \frac{V_{4.33}}{V_{4.33} + V_{5.75}} \quad (1)$$

Donde α es el factor de alcalinidad; $V_{4.33}$ es el volumen de H₂SO₄ gastado para alcanzar un pH de 4.33; y $V_{5.75}$ el volumen de H₂SO₄ gastado para alcanzar un pH de 5.75.

Resultados y Discusión

Caracterización del sustrato e inóculo

Los resultados mostraron que el sustrato tiene aproximadamente 20% de materia orgánica (SV) del total de ST y la DQO_s representa alrededor de 92% de la DQO_T. El pH se encontró alcalino superior a 7.5 y como se ha mencionado anteriormente, facilita la formación de la biopelícula de acuerdo con Toledo-Cervantes *et al.*, (2018). En comparación con Cruz-Ramos (2019) y Rosas-Mendoza (2018), como se muestra en la Tabla 1, la diferencia en los resultados de los parámetros medidos depende fuertemente de la temporada en que los residuos de frutas y verduras son recolectados.

Tabla 1. Caracterización de la fracción líquida de los residuos sólidos orgánicos.

Parámetro	Unidad	Presente investigación	Cruz-Ramos (2019)	Rosas-Mendoza (2018)
ST	g/L	5.24±0.18	6.3	6.39±0.88
SV	g/L	1.08±0.39	2.7-4.7	4.10±0.84
DQO _T	g DQO/L	8.63±0.07	9.5-11	14.79±2.03
DQO _s	g DQO/L	7.99±0.28	7.5	12.50±1.79
pH	-	7.90±0.60	6.7±0.3	6.78±0.21
Recolección	-	Abril-Mayo 2021	Enero-Febrero 2019	Marzo-Abril 2018

En cuanto a la caracterización inicial del soporte previa al arranque del RAH, los resultados se muestran en la Tabla 2, que tomando como referencia el valor máximo de colonización de 0.21 g_{Biopelícula}/g_{Soporte} (Buffierre *et al.*, 2000), el soporte colonizado al inicio presentó 36.19, 35.43, y 36.18% de colonización para la sección superior, media e inferior del LFI, respectivamente. Tomando en cuenta el 1.5 L de soporte obtenido para el RAH y la relación g_{Biopelícula}/g_{Soporte}, la cantidad de biopelícula al inicio fue aproximadamente de 36.35±2.01 g.

Tabla 2. Materia Volátil Adherida al soporte.

Sección LFI	Soporte (g)	Biopelícula (g)	Biopelícula:Soporte (g/g)	Biopelícula:Soporte (g/mL)	Colonización (%)
S	0.8724	0.0663	0.0760	0.0248	36.19
M	0.7794	0.0580	0.0744	0.0227	35.43
I	0.8068	0.0613	0.0760	0.0252	36.18

Secciones de lecho fluidizado inverso: S, superior; M, Media; I, inferior

En la Figura 2, las fotografías (a), (b) y (c) muestran las partículas de soporte Extendsphere™ colonizadas antes de la operación del RAH. Se observa una ligera capa alrededor de las partículas que es la biopelícula adherida al soporte, es delgada debido a que el soporte se encontró en un porcentaje bajo de colonización que osciló entre los 35.9±0.43% de colonización.

Análisis físico de la biopelícula

Como se mencionó en la sección de materiales y métodos, se tomaron muestras de soporte Extendsphere™ en la parte del Lecho Fluidizado Inverso, en las secciones: superior, media e inferior en la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos por Materia Volátil Adherida. Analíticamente se puede observar el crecimiento de la biopelícula por sección del soporte colonizado, donde la sección superior resultó ser la más poblada desde el día 0 por las comunidades microbianas, alcanzando hasta 57.03% de colonización con 0.0341 g_{Biopelícula}/mL_{Soporte}. La sección inferior logró colonizarse al 54.7% con 0.0277 g_{Biopelícula}/mL_{Soporte}. Finalmente, la sección media tuvo una colonización del 41.15% con 0.0261 g_{Biopelícula}/mL_{Soporte}. El hecho que la parte superior fuera la más colonizada se debe a que está en contacto directo con el sustrato, la parte media se encuentra menos colonizada debido las velocidades bajas de fluidización ya que Trinet (1991) menciona que esto beneficia la formación de biopelícula espesa con una mayor cantidad de biomasa activa, en las capas exteriores como las secciones superior e inferior, que consumen grandes cantidades de sustrato.

Comparando los resultados de la Tabla 3 y Tabla 4, se obtuvo una mayor eficiencia en la remoción de DQO, ST y SV en cuanto aumento el porcentaje de colonización. Juárez (2016) menciona que esto se debe a que la eficiencia depende en gran medida de la obtención de la cantidad adecuada de biopelícula adherida al material de soporte.

Tabla 3. Desarrollo de la biopelícula en el LFI.

Tiempo (d)	Sección LFI	Soporte (g)	Biopelícula (g)	Biopelícula:Soporte (g/g)	Biopelícula:Soporte (g/mL)	Colonización (%)
0	S	0.8724	0.0663	0.0760	0.0248	36.19
25	S	1.1743	0.1233	0.1050	0.0247	50.00
49	S	0.6980	0.0836	0.1198	0.0341	57.03
0	M	0.7794	0.0580	0.0744	0.0227	35.44
25	M	0.9477	0.0808	0.0853	0.0269	40.60
49	M	0.7210	0.0623	0.0864	0.0262	41.15
0	I	0.8068	0.0613	0.0760	0.0252	36.18
25	I	0.8276	0.0837	0.1011	0.0279	48.16
49	I	0.6490	0.0740	0.1140	0.0277	54.30

Secciones de lecho fluidizado inverso: S, superior; I, inferior; M, Media

Las biopelículas al ser estructuras microscópicas, se pueden observar por medio de micrografías, la Figura 3 muestra la evolución de la biopelícula adherida al soporte, con el paso del tiempo de operación y por sección del LFI. La estructura de la biopelícula se observa como biomasa microbiana adherida de manera irregular a la superficie de endosferas, esta estructura beneficia la transferencia de masa hacia las poblaciones microbianas de las secciones inferiores y que, además, la vuelve más resistente a que ocurra un lavado de los microorganismos debido a la fluidización del sustrato

(Okabe, 1998). Se puede observar una capa más poblada y espesa en las micrografías de las secciones Superior e Inferior tras 49 días de operación del RAH que coinciden con los resultados de la Tabla 3, donde estas secciones son las de mayor colonización, una biopelícula espesa posibilita una combinación de metabolismos anaerobios que puede darle una mayor eficiencia al sistema. Sin embargo la literatura menciona que una biopelícula delgada como se observa en las formadas a los 25 días en Figura 5 imágenes (d), (e) y (f), favorece el tratamiento del sustrato debido a que el intercambio de nutrientes es mejor (Beyenal y Lewandowsky, 2000).

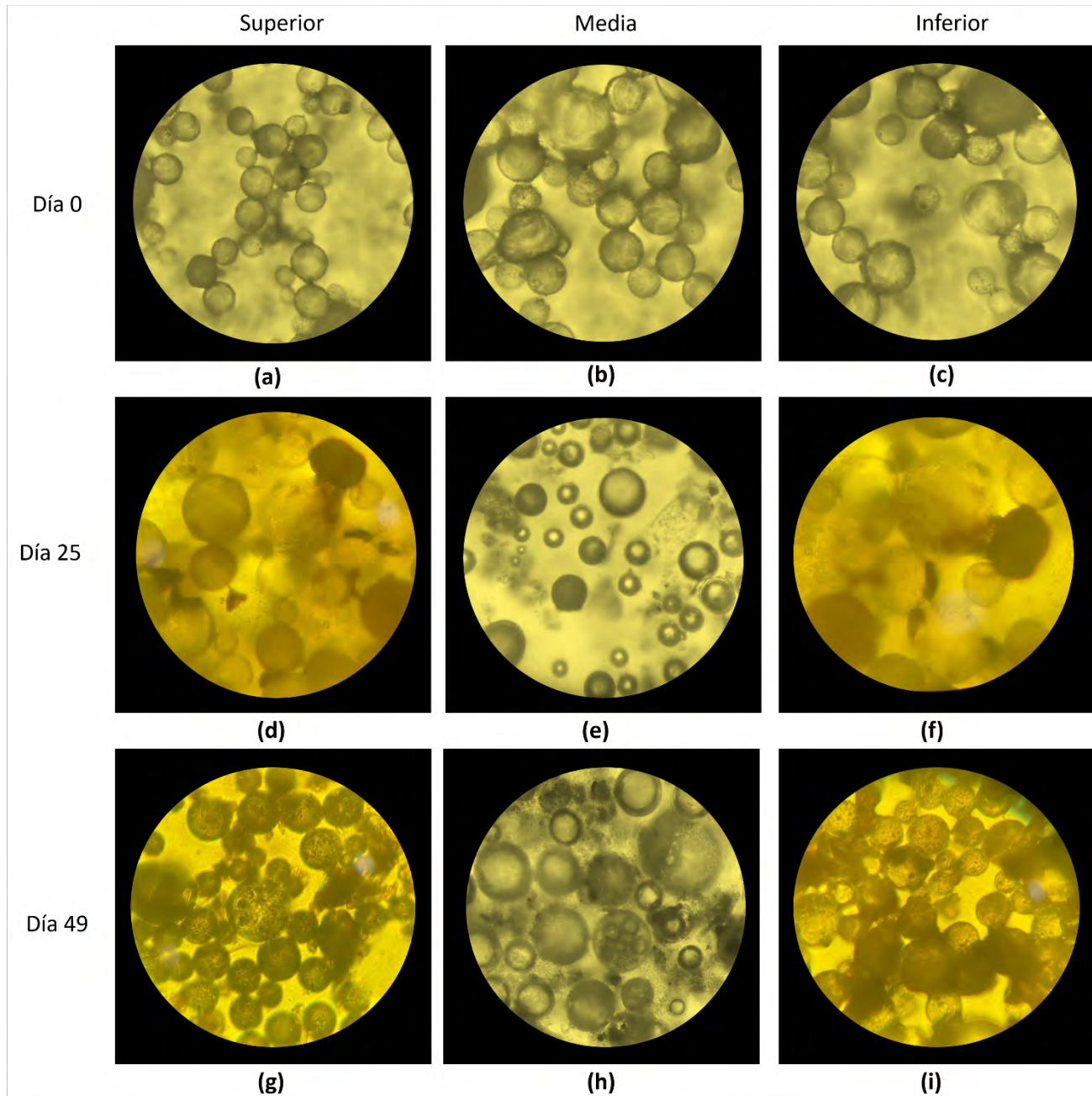


Figura 3. Micrografías del desarrollo de la biopelícula: (a) Sección superior, (b) Sección media y (c) Sección inferior, con 0 días de operación del RAH; (d) Sección superior, (e) Sección media y (f) Sección inferior, con 25 días de operación del RAH; y (g) Sección superior, (h) Sección media y (i) Sección inferior, con 49 días de operación del RAH.

Monitoreo del RAH

Para la formación de la biopelícula se trabajó con un $\text{pH} > 7.5$ de los días 0-25 esto para favorecer el desarrollo de los microorganismos. También el aumento de pH fue debido a que la materia orgánica en la fracción líquida ya se

encontraba degradada, Lohani *et al.*, (2018) mencionan que los valores de pH superiores a 8 inhiben las funciones biológicas para los microorganismos anaerobios, y por lo tanto no hay producción de biogás como se observa en la Tabla 5. De acuerdo con Ostrem *et al.*, (2004) esto se puede solucionar añadiendo una mayor cantidad de fracción líquida fresca. A partir del día 25-49 se obtuvo un sustrato fresco con una composición ácida (pH=4.9), lo cual podría afectar el desarrollo de la biopelícula para la producción de biogás, por lo que se utilizó una solución de NaOH 3M, para aumentar el pH, ya que Hussain *et al.*, (2021) en su estudio enfocado a los efectos del pH en DA reportaron que el valor de 7.0 favorece la producción de biogás ya que se encuentra dentro del nivel adecuado de 6.4-7.6.

Tabla 4. Resultados de 49 días de operación del RAH.

Parámetros de operación	Unidad	Tiempo de operación (d)	
		0-25	26-49
pH	-	>7.5	7±0.2
Remoción DQO _T	%	14.50	49.00
Remoción DQO ₅	%	6.40	27.90
Remoción de ST	%	18.90	68.00
Remoción de SV	%	33.00	87.10
Cva	gDQO/Ld	6.9±1.6	8.06±0.6
Factor de alcalinidad	-	-	0.51
Volumen biogás	L	0.00	5.20
Y _{CH₄}	L CH ₄ /gDQO _{rem}	0.00	0.22

Como se ha mencionado, el crecimiento de los microorganismos está influenciado por factores como el pH, la composición variable del sustrato de entrada y las variaciones de la Cva (Akunna, 2019). Lo que también se ve evidentemente en la Tabla 4 donde el porcentaje de remoción de DQO tanto soluble como total en los días 0-25 fue muy bajo 14.5%, sin embargo; a partir del día 25-49 se observó un comportamiento creciente que alcanzó hasta una remoción del 49%, la operación del reactor sigue en marcha y se espera llegar a remociones >90%. En cuanto a la Cva al inicio del arranque cuando fue más variada, los microorganismos dirigieron el flujo de carbono hacia la formación de la biopelícula, produciendo un volumen de biogás no detectable, ya que el soporte se encontraba aproximadamente 46.25±4.9% colonizado. La Tabla 3 también muestra la adaptación de los microorganismos presentes adheridos al soporte, ya que del día 26-49 cuando la Cva fue menos variante, los microorganismos produjeron biogás favorablemente obteniendo un rendimiento de metano igual a 0.22 L de CH₄/gDQO_{rem} y el soporte presentó un promedio de 50.83±8.93% de colonización.

El factor de alcalinidad α dado por la relación de alcalinidades intermedia y total, deber ser $\alpha < 0.3$ para garantizar la estabilidad el proceso (Bernard *et al.*, 2000). El resultado obtenido fue de 0.51 de acuerdo con la Tabla 4, el valor a encontrar arriba del valor límite, refleja que el proceso aún no se estabiliza, sin embargo; en a corto plazo se espera que se estabilice ya que el RAH continúa en operación. Este índice está fuertemente relacionado con el tipo de sustrato por lo que es posible lograr la estabilidad del proceso con valores diferentes del valor de referencia ($\alpha=0.3$), siendo recomendable su verificación (Foresti, 1994).

Conclusiones

Se montó un Reactor Anaerobio Híbrido en condiciones de temperatura mesofílica, utilizando Extendsphere™ como medio de soporte para la unión de la biopelícula, y como sustrato la fracción líquida que se separó mecánicamente de la fracción orgánica de los RSU. La fracción líquida presentó una considerable cantidad de materia orgánica aproximadamente 20% de SV del total de ST y la DQO₅ alrededor de 92% de la DQO_T. El pH del reactor se trabajó superior a 7.5 en la etapa inicial y posteriormente se controló a 7±0.2. El resultado del factor de alcalinidad fue $\alpha=0.51$ mayor a 0.3, lo que indica que el proceso aún no ha llegado a la estabilización, sin embargo, el RAH continua en operación. En cuanto a formación de la biopelícula, es notable con la determinación de MVA que tuvo porcentajes de colonización de 36.19-57.03% para la sección superior del LFI, 35.44-41.15% para la sección media del LFI y 36.18-54.30% para la sección inferior del LFI. Esto también fue posible observarlo con las micrografías presentadas

anteriormente en la sección de resultados. El desarrollo de la biopelícula también se vio reflejado en el aumento de los porcentajes de remoción de DQO_T , DQO_S , ST y SV, alcanzando valores de 49, 27.9, 68 y 87.1% respectivamente, se produjeron 5.2 L de biogás con un rendimiento de metano de 0.22 L $CH_4/gDQO_{rem}$. Se espera alcanzar un mayor porcentaje de colonización en el medio soporte, ya que el RAH continúa en operación y a corto plazo se espera alcanzar una etapa estable.

Bibliografía

- Akunna, J. C. (2019). *Anaerobic Wastewater Treatment and Biogas Plants*. Taylor & Francis Group. First edition.
- Alvarado-Lassman, A., Méndez-Contreras, J. M., Martínez-Sibaja, A., Rosas-Mendoza, E. S., y Vallejo-Cantú, N. A. (2016). Biogas production from the mechanically pretreated, liquid fraction of sorted organic municipal solid wastes. *Environmental Technology* 3330.
- Apanco-Rosas, V. (2018). Comparación del desempeño de un reactor anaerobio piloto en configuración en paralelo, con 2 diferentes sustratos. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México
- Bernard, O., Polit, M., Hadj-Sadok, Z., Pengov, M., Dochain, D., Estaben, M. y Labat, P. (2000). Advanced monitoring and control of anaerobic wastewater treatment plants: III-Software sensors and controllers for an anaerobic digester. In: 5th International Symposium in System Analysis and Computing in Water Quality Management, pp. 3.65–3.72. Gent, Belgium.
- Beyenal, H., y Lewandowski, Z. (2000). Combined effect of substrate concentration and flow velocity on effective diffusivity in biofilms. *Water research*. 34(2): 528-538.
- Buffière, P., Bergeon, J. P., y Moletta, R. (2000). The inverse turbulent bed: a novel bioreactor for anaerobic treatment. *Water Research*, 34(2), 673-677.
- Corrales, L. C., Antolinez Romero, D. M., Bohórquez Macías, J. A., y Corredor Vargas, A. M. (2015). Bacterias anaerobias: procesos que realizan y contribuyen a la sostenibilidad de la vida en el planeta. *Nova*, 13(24), 55.
- Cruz-Ramos, A. (2019). Mejoramiento de la fluidización de un reactor anaerobio híbrido semifluidizado. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- Deng, L., Liu, Y., y Wang, W. (2020). *Biogas technology*. Biogas Technol.
- Foresti, E. (1994). Fundamentos de proceso de digestión anaerobia. III Taller y Seminario Latinoamericano sobre Tratamiento anaerobio de aguas residuales, Montevideo, Uruguay, p. 97-110.
- Hadjiev, D., Dimitrov, D., Martinov, M., y Sire, O. (2007). Enhancement of the biofilm formation on polymeric supports by surface conditioning. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(4), 840–848.
- Horan, N. J. (2018). *Anaerobic Digestion Processes: Applications and Effluent Treatment*. Springer Singapore.
- Houbron, E. (2012). "Methane yield and microscopic observation as monitoring biofilm behaviour parameters, during start up phase of anaerobic inverse fluidized bed reactor". *Afr J Biotechnol* 11(78):14392–98.
- Hussain A., Johain J., y Fawziea M. (2021). Effect of pH on biogas production during anaerobic digestion. *Journal of University of Shanghai for Science and Technology*, Volume 23, Issue 8, pp 224-231.
- Jáuregui-Jáuregui, J. A., Méndez-Acosta, H. O., González-Álvarez, V., Snell-Castro, R., Alcaraz-González, V., y Godon, J. J. (2014). Anaerobic treatment of tequila vinasses under seasonal operating conditions: Start-up, normal operation and restart-up after a long stop and starvation period. *Bioresource Technology*, 168, 33–40.
- Juárez, A. P. (2016). Diseño, Construcción, Arranque y Estabilización de un Reactor Anaerobio Multitubular (RAM). Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Orizaba. México.
- Lettinga, G., Roersma, R., y Grin, P. (1983). Anaerobic treatment of raw domestic sewage at ambient temperatures using a granular bed UASB reactor. *Biotechnol and Bioeng*, 25(7), 1701–1723.
- Lohani, S. P., y Havukainen, J. (2018). *Anaerobic Digestion: Factors Affecting Anaerobic Digestion Process*. Waste Bioremediation, Energy, Environment, and Sustainability.
- Lorenzo-Acosta, Y., y Obaya-Abreu, M. C. (2005). "La digestión anaerobia. Aspectos teóricos. Parte I". *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, XXXIX(1, 2005) 35-48.
- Okabe, S., Kuroda, H., y Watanabe, Y. (1998). Significance of biofilm structure on transport of inert particulates into biofilms. *Water Science and Technology*. 38(8,9): 163-170.
- Ostrem M.K., Millrath K., y Themelis N.J. (2004). Combining anaerobic digestion and waste to energy. In: 12th North America waste to energy conference. Columbia University, New York.
- Pérez, A., & Torres, P. (2008). Índices de alcalinidad para el control del tratamiento anaerobio de aguas residuales fácilmente acidificables. *Ingeniería y Competitividad*, 10(2), 41-52.
- Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS (2010). Biofilms Made Easy. *Wounds International* 1(3).
- Rosales, B. M. y Rastelli, S. E. Silvia E. (2013) *Biopelículas. Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médicos*, Capítulo 4. Universidad Nacional de la Plata, Argentina.
- Rosas-Mendoza, E. S., Méndez-Contreras, J. M., Martínez-Sibaja, A., Vallejo-Cantú, N. A., y Alvarado-Lassman, A. (2018). Anaerobic digestion of citrus industry effluents using an Anaerobic Hybrid Reactor. *Clean Technol Environ Policy* 20(7):1387–97.
- Toledo-Cervantes, A., Guevara-Santos, N., Arreola-Vargas, J., Snell-Castro, R. y Méndez-Acosta, H. O. (2018). Performance and microbial dynamics in packed-bed reactors during the long-term two-stage anaerobic treatment of tequila vinasses". *Biochem Eng J* 138:12–20.
- Trinet, F., Heim, R., Amar, D., y Chang, H. (1991). Study of biofilm and fluidization of bioparticles in a three-phase liquid fluidized-bed reactor. *Water Science and Technology*. 23: 1347-1354.
- Wid, N., y Horan, N. J. (2018). *Anaerobic digestion of screenings for biogas recovery*. Springer Singapore.
- Zinatizadeh, A. A. L., y Ghaytooli, E. (2015). Simultaneous nitrogen and carbon removal from wastewater at different operating conditions in a moving bed biofilm reactor (MBBR): Process modeling and optimization. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 53, 98–111.