

## Interacciones microbianas inducidas por cambios en el flujo de alimentación de vinazas tequileras en un digestor FBR mesófilo

Raúl Snell-Castro<sup>\*</sup>, Hugo Oscar Méndez-Acosta<sup>1</sup>, Juan Paulo García-Sandoval<sup>1</sup>, Alma Toledo-Cervantes<sup>1</sup> y Alejandro Isaac Gómez-Gutiérrez<sup>1</sup>

Laboratorio Planta Piloto, Departamento de Ingeniería Química, CUCEI-Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

\* Autor de correspondencia: [raul.snell@academicos.udg.mx](mailto:raul.snell@academicos.udg.mx); Tel.: +52 (33) 13785900, ext. 27550.

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

Recibido: 15 de junio de 2023 Aceptado: 18 de agosto de 2023 Publicado: 23 de noviembre de 2023

**Palabras clave:** Interacciones microbianas; mesofilia; vinazas tequileras; flujo de alimentación; alcalinidad

**Introducción.** El tequila ha alcanzado una producción de 651 millones de litros en 2022, lo que representa una generación de 7 a 10 litros de vinazas tequileras por cada litro de tequila producido. Estas vinazas suelen ser vertidas directamente a aguas y suelo por pequeñas y medianas empresas tequileras, lo que genera un severo problema ambiental (Cedeño-Cruz, 1995; Arreola-Vargas *et al.* 2018). En este contexto, la digestión anaerobia (DA) de las vinazas tequileras ha demostrado ser una herramienta eficaz para la remoción de la materia orgánica contaminante y producción de metano, lo que conduciría a la sustentabilidad ambiental de esta industria (Arreola-Vargas *et al.* 2018). El propósito de este estudio fue el análisis de las interacciones microbianas inducidas por cambios en el flujo de alimentación de las vinazas tequileras en un reactor de biopelícula fija (Fixed-bed reactor, FBR) aplicando un esquema basado en el factor de alcalinidad ( $\alpha$ ).

**Materiales y Métodos.** Se implementó un FBR mesófilo alimentado con vinazas tequileras, que tuvo una demanda química de oxígeno (DQO) de 35.7 g-DQO L<sup>-1</sup>. El FBR fue empacado con un tubo de PVC Cloisnyl<sup>®</sup> como soporte para el desarrollo de biopelícula y tuvo un volumen de trabajo de 3.2 L. Este digestor se mantuvo a un pH de 7.0, temperatura de 37 °C y 480 mV de potencial redox con un flujo de recirculación de 310 mL min<sup>-1</sup>. El digestor estuvo instrumentado y automatizado para el monitoreo en línea del pH, temperatura, potencial redox, presión, flujo de biogás y concentración de metano. Adicionalmente, se analizaron la DQO, lactato y ácidos grasos volátiles (AGV). En la fase de arranque del FBR se aplicó un TRH de 5.32 días y una carga volumétrica aplicada (CVA) de 6.51 g-DQO L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> durante 21 días. Durante la fase de operación se aplicaron perturbaciones en la CVA para evaluar el desempeño del esquema basado en la alcalinidad. Esta etapa duró 322 días y mantuvo un TRH alrededor de 6.01 días y una CVA cercana a 5.30 g-DQO L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>.

Las interacciones microbianas se analizaron a partir de muestras de 20 mL de la biomasa suspendida del inóculo y biomasa adherida a 168 cm<sup>2</sup> del soporte al final del arranque y operación. La biomasa colectada fue sometida a extracción de ADN genómico (ADNg) por el método de Godon *et al.* (1997). El ADNg fue enviado al servicio de metagenómica y análisis filogenético de las regiones variables 4 y 5 del gen de ARN ribosomal 16S usando el método illumina MiSeq (10,000 reads) del servicio INRAE-Transfert en Narbonne, Francia. La identificación filogenética a nivel de especies se consideró cuando los OTUs y sus parientes más cercanos tuvieron una similitud de secuencia  $\geq 97\%$ . La dinámica poblacional se expresó en porcentaje de abundancia relativa de los dominios *Archaea* y *Bacteria*. Se realizó un análisis por componentes principales (CPs) para correlacionar la diversidad, abundancia y dinámica microbiana con las variables asociadas al desempeño del FBR utilizando el software Statgraphics centurion XV Statpoint, Technologies.

**Resultados.** Los resultados del análisis de componentes principales indicaron que el CP1 explicó el 73.524% de la variación total observada y el CP2 el 26.476%. En la Figura 1 se observan los 4 grupos formados a partir de las variables correlacionadas.

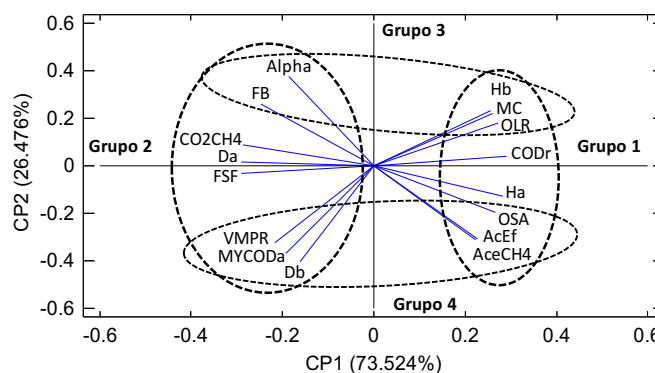


Figura 1. Correlaciones obtenidas entre las variables del proceso de DA.

El grupo 1, indicó que la CVA (OLR) determinada por la adaptación del flujo de alimentación sugerido por el esquema basado en la alcalinidad se correlacionó con la remoción de la DQO (CODr), los índices de diversidad Shannon-Wiener de bacterias (Hb) y arqueas (Ha), el contenido de metano en el biogás (MC), las abundancias relativas asociadas a la simbiosis entre los oxidadores de AGV (OSA) y metanógenos acetótrofos (AceCH4) y la concentración de acetato en el efluente (AcEf, g L<sup>-1</sup>). La tendencia de dichas variables fue a disminuir sus valores. El grupo 2, que tuvo una tendencia opuesta al grupo 1, correlacionó al factor de alcalinidad  $\alpha$  (Alpha), la tasa volumétrica de producción de metano (VMPR, L-CH<sub>4</sub> L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>) y el rendimiento (L-CH<sub>4</sub> g-DQO<sub>removida</sub><sup>-1</sup>) con las abundancias relativas de las bacterias fermentadoras (FB), simbióticas facultativas (FSF) y metanógenos CO<sub>2</sub> reductores (CO<sub>2</sub>CH<sub>4</sub>) y el índice de diversidad de Simpson (dominancia) de algunas poblaciones bacterianas (Db) y arqueanas (Da). El grupo 3, correlacionó la CVA,  $\alpha$  y contenido de metano en el biogás con la diversidad de las bacterias y la abundancia relativa de las bacterias fermentadoras; estas variables tendieron a incrementar sus valores. Mientras que, el grupo 4 correlacionó con tendencia opuesta a la tasa volumétrica, rendimiento y acetato en el efluente con la diversidad de arqueas, dominancia de las poblaciones bacterianas y las abundancias relativas de los oxidadores de AGV y metanógenos acetótrofos asociados a la simbiosis por el acetato.

**Conclusiones.** El esquema basado en la alcalinidad aseguró la estabilidad del proceso de DA, lo que condujo a una producción de metano por la vía CO<sub>2</sub> reductora; mientras que, las poblaciones involucradas en la vía metanogénica acetótrofa fueron inhibidas por el exceso de acetato durante las perturbaciones de la CVA.

### Bibliografía.

- Cedeño-Cruz, M. (1995). Tequila production. *Crit. Rev. Biotechnol*, 15, 1-11.
- Arreola-Vargas, J., Snell-Castro, R., Rojo-Liera, N. M., González-Álvarez, V., & Méndez-Acosta, H. O. (2018). Effect of the organic loading rate on the performance and microbial populations during the anaerobic treatment of tequila vinasses in a pilot-scale packed bed reactor. *J Chem Technol Biotechnol*, 93(2), 591-599.
- Godon, J., Zumstein, E., Dabert, P., & Habouzit, R. I. C. (1997). Molecular microbial diversity of an anaerobic digester as determined by small-subunit rDNA sequence analysis. *Appl Environ Microbiol*, 63(7), 2802-2813.