

Suministro y aprovechamiento de sustratos de difícil degradación en reactores de biopelícula anaerobia para producir biogás

Luz Angélica Cariño-Vázquez ¹, Laura Isabel Hernández-Palagot ¹, Ofelia Landeta-Escamilla ¹, Elizabeth del Carmen Zárate-Gallardo ², Alejandro Alvarado-Lassman ¹ y Erik Samuel Rosas-Mendoza ^{3,*}

¹ División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba, Orizaba, Veracruz, México.

² Departamento Económico Administrativo de Ingeniería en Gestión Empresarial, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba, Orizaba, Veracruz, México.

³ CONAHCYT, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Orizaba, Orizaba, Veracruz, México.

* Autor de correspondencia: erik.rm@orizaba.tecnm.mx

Desarrollo Sustentable (Gestión y aprovechamiento de residuos sólidos). **Ponencia Presencial.**

Recibido: 22 de agosto de 2023

Aceptado: 5 de octubre de 2023

Publicado: 23 de noviembre de 2023

Resumen: La generación de residuos sólidos orgánicos (RSO) en México supera los 23 millones de toneladas por año. La incorrecta disposición de los RSO provoca problemas ambientales como: generación de malos olores y compuestos volátiles orgánicos, contaminación por lixiviados, atracción de vectores y emisiones de efecto invernadero. Es por ello que surge la necesidad de gestionar estos residuos adecuadamente, siendo la digestión anaerobia (DA) una alternativa prometedora por los beneficios que aporta. Sin embargo, la DA se puede ver afectada por la presencia de inhibidores, disminuyendo el desempeño de los parámetros operativos de los reactores, entre ellos la producción de biogás y el rendimiento de metano. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el desempeño de los parámetros operativos de dos reactores de biopelícula anaerobia en el aprovechamiento de residuos de difícil degradación para producir biogás. Se utilizaron dos reactores de biopelícula anaerobia inoculados con soporte Extendsphere™ pre-colonizado, cada uno con volúmenes útiles de 1.82 L y 2.19 L, respectivamente. Se empleó como fuente de carbono (sustrato) la fracción líquida de RSO con una carga volumétrica aplicada (Cva) de 5 gDQO/L·d, y se adicionaron como inhibidores residuos sólidos cítricos (RSC) con presencia de D-limoneno en el R1 y NaNO₃ como fuente de nitratos en el R2. Durante las cuatro etapas de operación, se determinaron pH interno, factor α de alcalinidad, DQO_T y DQO_S, ST, remoción de nitratos, producción y rendimiento de biogás y, por último, materia volátil adherida (MVA). Como parte de los resultados obtenidos, en el R1 se removieron 96.20 % de DQO_T y se produjeron 3 L/d de biogás (0.342 L/gDQO_{rem}) bajo condiciones estándares de presión y temperatura con una proporción de RSO/RSC 30/70 % v/v; mientras que en el R2 se removieron 97.84 % de DQO_T y se produjeron 2.5 L/d de biogás (0.300 L/gDQO_{rem}) en condiciones estándares de presión y temperatura empleando una relación DQO/N-NO₃=15. Pese a la existencia de inhibidores en el proceso de digestión anaerobia, en ambos reactores se logró un correcto desempeño de los parámetros operativos para el aprovechamiento de residuos de difícil degradación y producción de biogás.

Palabras clave: residuos sólidos orgánicos; reactores de biopelícula anaerobia; inhibidores; D-limoneno; nitratos

Supply and utilization of substrates of difficult degradation in anaerobic biofilm reactors to produce biogas

Abstract: The generation of organic solid waste (OSW) in Mexico exceeds 23 million tons per year. The incorrect disposal of the OSW causes environmental problems such as: generation of bad odors and volatile organic compounds, contamination by leachate, attraction of vectors and greenhouse effect emissions. That is why the need to manage these residues properly arises, with anaerobic digestion (AD) being a promising alternative due to the benefits it provides. However, the AD can be affected by the presence of inhibitors, decreasing the performance of the operating parameters of the reactors, including biogas production and methane yield. In such a way that, this work had as objective to evaluate the performance of the operating parameters of two anaerobic biofilm reactors in the use of residues of difficult degradation to produce biogas. Two anaerobic biofilm reactors inoculated with pre-colonized Extendsphere™ support were used, each with useful volumes of 1.82 L and 2.19 L, respectively. The liquid fraction of OSW with an organic loading rate (OLR) of 5 gCOD/L·d was used as a carbon source (substrate), and citrus solid waste (CSW) with the presence of D-limonene in R1 and NaNO₃ as a source of nitrates in R2 were added as inhibitors. During four operation stages, internal pH, alkalinity α factor, total COD and soluble COD, TS, nitrate removal, biogas production and yield, and finally, volatile matter adhered (VMA) were determined. As part of the results obtained, in R1 96.20 % of COD were removed and 3 L/d of biogas (0.342 L/gCOD_{rem}) were produced under standard conditions of pressure and temperature with a ratio of RSO/RSC 30/70 % v/v; while in R2 97.84 % of COD were removed and 2.5 L/d of biogas (0.300 L/gCOD_{rem}) were produced under standard pressure and temperature conditions using a COD/N-NO₃=15 ratio. Despite the existence of inhibitors in the anaerobic digestion process, correct performance of the operating parameters was achieved in both reactors for the utilization of substrates of difficult degradation and biogas production.

Keywords: organic solid waste; anaerobic biofilm reactors; inhibitors; D-limonene; nitrates

Introducción

En México, la superficie sembrada para el año 2022 alcanzó los 20.75 millones de hectáreas, de las cuales fueron cosechadas 20.22 millones de hectáreas, esto trajo consigo una producción agrícola para ese año de 271 millones de toneladas, lo cual significó un incremento de 0.9 % respecto al año anterior, con un aumento en la cosecha de frutas, hortalizas y forrajes. Se estima que la tendencia continuará al alza, pues para el año 2023 se prevé un incremento del 1.2 % respecto al año 2022 (SADER, 2023). Dicha producción es destinada a diferentes vías de consumo: consumo doméstico en fresco, para su procesamiento industrial y exportaciones. Sin embargo, la producción no es consumida en su totalidad, debido a diversos factores tales como la falta de gestión en productos frescos, corta vida de anaquel, conservación inadecuada, entre otros. Además, el consumo doméstico en fresco de frutas y verduras produce una gran cantidad de residuos. En consecuencia, en México se generan alrededor de 23 millones de toneladas de residuos sólidos orgánicos (RSO) por año, lo cual representa el 51.6 % de los residuos sólidos urbanos generados en el país (SEMARNAT, 2019). Los RSO poseen alto contenido orgánico, destacan compuestos como azúcares, proteínas y minerales, nutrientes que los convierten en fuentes importantes de riesgos ambientales, ya que, al ser dispuestos en rellenos sanitarios o tiraderos a cielo abierto, provocan la generación de malos olores y compuestos volátiles orgánicos, contaminación por lixiviados, atracción de vectores y emisiones de efecto invernadero (Alvarado-Lassman *et al.*, 2017; Rawoof *et al.*, 2020).

El aprovechamiento de los RSO se puede lograr mediante la tecnología de Digestión Anaerobia (DA), la cual es capaz de reducir el contenido orgánico y proporcionar valor agregado mediante la producción de biogás. El biogás producido mediante el proceso de DA tiene una composición que se puede estimar entre 50 y 70 % de metano, 30 y 50 % de dióxido de carbono y otros gases como vapor de agua, sulfuro de hidrógeno y amoníaco (Parra-Ortiz *et al.*, 2019). Es el metano, contenido en el biogás, el que es capaz de producir energía cuando es quemado, ya que posee un poder calorífico de alrededor de 9.94 kWh/m³ en condiciones estándar de presión y temperatura (Parra-Ortiz *et al.*, 2019; Rosas-Mendoza *et al.*, 2020). No obstante, en establecimientos comerciales, mercados municipales y plantas separadoras se generan RSO con gran contenido de residuos sólidos cítricos (RSC), pues se estima que 9.5 % de los RSO son conformados por RSC (USDA, 2022). Por otro lado, los RSO también se pueden mezclar con efluentes industriales con alto contenido de nitratos. El proceso de DA se puede ver afectado debido a la presencia de inhibidores tales como el D-limoneno, aceite esencial encontrado en los cítricos, y los nitratos, generando así sustratos de difícil degradación. Como consecuencia de la inhibición, la actividad de las poblaciones microbianas involucradas en el proceso de DA es afectada, disminuyendo el desempeño de los parámetros operativos de los reactores, la producción de biogás y el rendimiento de metano. Debido a lo anterior, surge la necesidad de adaptar las poblaciones microbianas presentes en los reactores de biopelícula anaerobia a estas condiciones y estudiar el fenómeno, con el propósito de comprender el proceso de DA.

En los últimos años se han desarrollado investigaciones que estudian el aprovechamiento de distintos residuos mediante DA utilizando diferentes tipos de reactores y condiciones de operación: a) Wan *et al.* (2013) utilizaron un reactor de tanque agitado con volumen útil de 300 L para llevar a cabo la digestión anaerobia de residuos sólidos alimentarios municipales y como sustrato la hierba plateada china, en condiciones mesófilas y una carga volumétrica aplicada (Cva) de 2.1 gSV/L·d durante 45 días de operación; obtuvieron una remoción de DQO del 88.1 % y una producción máxima de 675 L/d de biogás. b) Botello-Suárez *et al.* (2018) emplearon dos reactores anaerobios de flujo ascendente en serie con volúmenes útiles de 20 L y 10 L para el tratamiento de residuos del procesamiento del café, en condiciones mesófilas con una Cva por encima de los 18.2 gDQO/L·d durante 365 días de operación; alcanzaron 84 % de remoción de DQO. c) Rosas-Mendoza *et al.* (2018) utilizaron un reactor anaerobio híbrido de dos secciones con un volumen útil total de 2.76 L para el tratamiento de efluentes de la industria citrícola sin pretratamiento para eliminar el D-limoneno presente en los residuos, en condiciones mesófilas y Cva de 8 gDQO/L·d; obtuvieron una remoción de DQO del 85 % en 158 días de operación. d) Juárez-García *et al.* (2022) también utilizaron un reactor anaerobio híbrido con un volumen útil total de 2.76 L para llevar a cabo el tratamiento de la fracción líquida de residuos sólidos orgánicos, en condiciones mesófilas y una Cva de hasta 21 gDQO/L·d; alcanzaron 92 % de remoción de DQO y una producción de 20.7 L/d de biogás después de 119 días de operación. e) Sánchez-Balseca *et al.* (2019) emplearon reactores de biopelícula suministrando como sustratos metanol y cáscara de arroz adicionando NaNO₃ con el propósito de llevar a cabo el proceso de desnitrificación con TRH de entre 2.38 - 8.33 horas, obteniendo una remoción de 97.58 y 93.46 % de nitratos para la cáscara de arroz y el metanol, respectivamente, obteniendo así una remoción del 94 % de DQO en ambos casos. f) Rosas-Mendoza (2007) operó un reactor de lecho fluidizado inverso empleando como sustrato agua de

bagazo con una Cva de 30 gDQO/L-d para la remoción de nitratos, obteniendo luego de 67 días de operación remociones de alrededor de 83 % para nitratos y del 90 % para DQO.

Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el desempeño de los parámetros operativos de reactores de biopelícula anaerobia en el aprovechamiento de residuos de difícil degradación con presencia de D-limoneno y nitratos para la producción de biogás.

Materiales y Métodos

Dispositivos experimentales

Se utilizaron dos reactores anaerobios híbridos, R1 y R2, con la misma configuración (Figura 1), constituidos por un lecho fijo (LF) en la parte superior con un volumen total de 1.05 L empleando como medio de soporte anillos poliméricos recubiertos por esmalte de acrílico para mejorar la adhesión de la biopelícula, los cuales ocuparon el 50 % del volumen total del LF y se introdujeron a los reactores sin colonización previa. En las Tablas 1 y 2 se muestran las características y componentes de los reactores empleados.

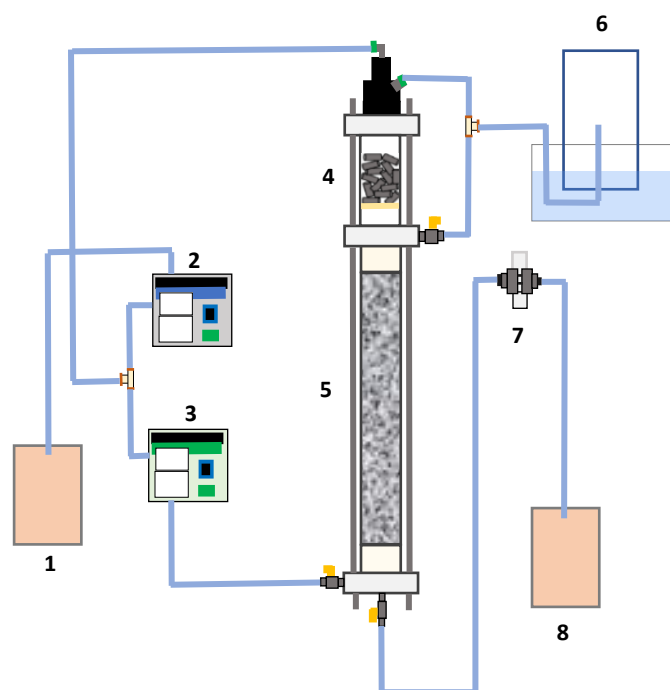


Tabla 1. Especificaciones de los reactores

	R1	R2
Volumen total LF (L)	1.05	1.05
Volumen total LFI (L)	3.65	3.65
Volumen útil (L)	1.82	2.19
Cámara de biogás (L)	0.73	0.73
Inóculo (L)	1.10	0.73

Tabla 2. Componentes del dispositivo experimental

1	Depósito de afluente
2	Bomba de alimentación
3	Bomba de recirculación
4	Lecho fijo
5	Lecho fluidizado inverso
6	Colector de biogás
7	Control de nivel
8	Depósito de efluente

Figura 1. Configuración de los reactores de biopelícula anaerobia

Obtención de sustratos e inóculo

Los RSO y RSC fueron obtenidos del mercado Emiliano Zapata ubicado en Orizaba, Veracruz, los cuales se redujeron de tamaño, se trituraron y filtraron para la obtención de las fracciones líquidas que se emplearon como sustrato. La fuente principal de carbono orgánico en ambos reactores fue la fracción líquida de los RSO, sin embargo, en tres etapas operativas del R1 se suministró adicionalmente la fracción líquida de los RSC, esto para observar la evolución del reactor con la presencia del inhibidor D-limoneno. Así mismo, en dos etapas operativas del R2 se adicionó NaNO_3 a la fracción líquida de los RSO para observar la evolución del reactor con la presencia de nitratos como inhibidor. Los sustratos empleados en cada uno de los reactores, proporciones y relaciones se pueden observar en la Tabla 3.

Tabla 3. Sustratos utilizados en cada uno de los reactores de biopelícula anaerobia

	R1			R2		
	Duración (días)	Sustrato	Proporción del sustrato % v/v (RSO/RSC)	Duración (días)	Sustrato	Relación DQO/N-NO ₃
Etapa 1	73	RSO	100/0	145	RSO	-
Etapa 2	40	RSO/RSC	70/30	38	RSO/NaNO ₃	30
Etapa 3	20	RSO/RSC	50/50	18	RSO/NaNO ₃	15
Etapa 4	12	RSO/RSC	30/70	12	RSO	-

Con respecto al inóculo empleado, ambos reactores fueron inoculados con Extendsphere™ pre-colonizado proveniente de un Reactor de Lecho Fluidizado Inverso en el cual se utiliza como sustrato la fracción líquida de RSO. Al R1 se introdujeron 1.10 L con una colonización de 23.43 gbiomasa/Lsoporte, mientras que en el R2 se emplearon 0.73 L con una colonización de 19.60 gbiomasa/Lsoporte.

Condiciones operativas de los reactores de biopelícula anaerobia

La vida operativa de ambos reactores se dividió en cuatro etapas, la duración de cada una de ellas se puede observar en la Tabla 3. Los reactores se mantuvieron bajo condiciones mesófilas con una temperatura de operación de $35 \pm 2^\circ$. Ambos reactores fueron alimentados manteniendo una Cva de 5 gDQO/L·d, regulando el pH de entre 6.8 y 7.2 con bicarbonato de sodio.

Determinaciones analíticas

Fueron determinados el pH interno y la alcalinidad de los reactores, así mismo, se determinaron DQO_T, DQO_S y sólidos totales (ST) del afluente y efluente de ambos reactores (APHA, 2017; Ripley *et al.*, 1986). También, se determinó la cantidad de nitratos presentes, empleando un fotómetro portátil marca HANNA Instruments modelo HI97728 con un rango de detección de 0.0 a 30 mg NO₃/L. En cuanto al biogás generado, este fue captado mediante un sistema de desplazamiento gas-líquido.

De igual forma, se determinó la materia volátil adherida (MVA) a los soportes de la sección media del lecho fluidizado de cada reactor, mediante la técnica gravimétrica de sólidos suspendidos volátiles esto al inicio de la operación del reactor y al finalizar cada etapa operativa (APHA, 2017). Así mismo, se tomaron micrografías de la biopelícula formada en los soportes del LFI de cada reactor empleando un microscopio Primo Star iLED de ZEISS.

Resultados y Discusión

Monitoreo de la operación de reactores de biopelícula anaerobia

Los datos obtenidos del monitoreo de la operación de los reactores durante las cuatro etapas se muestran en la Tabla 4. Al arranque de la operación, el pH al interior del R1 fue de 6.00, el cual no era óptimo para la producción de metano ya que, de acuerdo a Zamri *et al.* (2021), el pH óptimo para la etapa de metanogénesis se encuentra en el rango de 6.5 a 8.2. Sin embargo, después de 4 días de operación el pH al interior del R1 se estabilizó y finalizó la Etapa 1 con un pH de 7.07. En la Etapa 2, al realizar la primera perturbación con la fracción líquida de RSC, se observó una disminución del pH, y para el final de esta etapa se obtuvo un valor de 6.83, esto se puede atribuir a los efectos del D-limoneno en el proceso de DA. A pesar de ello, el pH siempre se mantuvo dentro del rango óptimo para la metanogénesis. Por otra parte, el R2 inició con un pH interno de 6.70, que se encuentra dentro del rango óptimo para la producción de biogás, manteniéndose dentro de dicho rango en todas las etapas. Sin embargo, en las Etapas 2 y 3 se encontró un aumento en los valores de pH, esto se puede atribuir al inicio del proceso de desnitrificación por el suministro de NaNO₃, pues

dicho proceso aumenta la alcalinidad y da como resultado un aumento en el pH del sistema de acuerdo con lo reportado por Martínez (2004). Así mismo, se puede apreciar que el pH aumentó proporcionalmente a la cantidad de nitratos suministrados puesto que en la Etapa 3 con una relación C/N=15 el pH aumentó con respecto a la etapa anterior con una relación C/N=30.

El factor α de alcalinidad es una manera de estimar la estabilidad durante el proceso de DA, pues descarta indicios de acidificación debido a la posible acumulación de AGVs. De acuerdo a lo que reportaron Ripley et al. (1986), mientras el valor del factor α tenga un valor inferior a 0.3, el proceso de digestión anaerobia se encuentra estable. Al inicio de la operación del R1, se obtuvo un valor de $\alpha = 0.44$, sin embargo, para las etapas subsecuentes se tuvieron valores de α inferiores a 0.3, lo cual indica que el proceso pudo mantenerse estable a pesar de la presencia de D-limoneno, inhibidor que pudo haber desestabilizado el proceso y propiciar la acumulación de AGVs debido a que no se completara el proceso de DA. En el R2, inicialmente se obtuvo un valor de $\alpha = 0.87$, el cual disminuyó por debajo de 0.3 a partir del día 19 de operación, denotando así la estabilización del sistema, alcanzando para el final de la Etapa 1 un valor de $\alpha = 0.12$. Al inicio de la Etapa 2, se observó un aumento significativo en el valor de α debido a la introducción de nitratos, sin embargo, el factor α disminuyó nuevamente. Al final de la Etapa 2 y en la Etapa 3 se observó una disminución en los valores de α , debido a la presencia de N-NO₃, de acuerdo con Martínez (2004), el proceso de desnitrificación aumenta la alcalinidad del sistema, pues por cada g de N-NO₃ reducido a nitrógeno molecular se generan 3.57 g de alcalinidad como CaCO₃.

Tabla 4. Monitoreo de la operación de los reactores de biopelícula anaerobia

Parámetros	Reactor	Inicio	Final de Etapa 1	Final de Etapa 2	Final de Etapa 3	Final de Etapa 4
pH interno	R1	6.00	7.07	6.83	7.19	7.20
	R2	6.70	6.66	7.20	7.50	6.81
Alcalinidad (α)	R1	0.44	0.22	0.25	0.23	0.11
	R2	0.87	0.12	0.08	0.05	0.08
Remoción de DQO _T (%)	R1	80.20	97.90	97.10	95.80	96.20
	R2	20.75	96.90	97.96	97.84	94.32
Remoción de DQO ₅ (%)	R1	80.00	99.8	97.9	95.70	96.10
	R2	18.18	97.80	98.08	98.16	93.84
Remoción de ST (%)	R1	25.80	28.10	29.80	39.00	30.90
	R2	12.93	31.10	32.58	25.41	41.08
Remoción de nitratos (%)	R1	ND	ND	ND	ND	ND
	R2	ND	ND	99.91	100	ND
Producción de biogás (L TPE/d)	R1	3.0	5.0	4.5	4.0	3.0
	R2	1.5	5.5	4.0	2.5	5.5
Rendimiento de biogás (L TPE/gDQO _{rem})	R1	0.410	0.555	0.508	0.458	0.342
	R2	0.600	0.624	0.400	0.300	0.600

ND: No determinado

Al inicio de la operación, en el R1, utilizando como sustrato la fracción líquida de RSO, se obtuvo una remoción de DQO_T del 80.20 %, el cual puede considerarse alto y esto se puede atribuir a que el soporte con el que fue inoculado el reactor estaba pre colonizado, con valores mayores de MVA que el R2 (Tabla 5), y tenía actividad microbiana. Para el final de la Etapa 1, se alcanzó una remoción de hasta el 97.90 % de DQO_T , la cual fue la remoción máxima alcanzada por este reactor en las cuatro etapas y esto se debe a que la fracción líquida de los RSO es un sustrato de fácil degradación mediante DA. Posteriormente, al propiciar la primera perturbación añadiendo fracción líquida de RSC, se observó una disminución de la remoción de DQO_T , la cual se repuso con el paso de los días de operación y se estabilizó hasta alcanzar 97.10 % en la Etapa 2 y 95.80 % en la Etapa 3, notándose que la remoción de DQO_T disminuyó conforme aumentó la proporción de RSC en la mezcla del sustrato. Sin embargo, para el final de la Etapa 4 se alcanzó una remoción de hasta el 96.20 % y esto puede ser atribuible a la aclimatación de la población microbiana a la presencia de RSC a pesar de que se encontraba en su proporción máxima. En este contexto, Anjum et al. (2017) obtuvieron una remoción de DQO_T máxima de 49 % utilizando una mezcla al 50 % de cítricos, mientras que Juárez-García et al. (2022) obtuvieron remociones mayores a 95 % empleando solamente la fracción líquida de RSO como sustrato. Por lo anterior, es evidente que las remociones de DQO_T alcanzadas por el R1 son altas a pesar de la presencia de D-limoneno que funje como inhibidor. Inicialmente en el R2 únicamente se obtuvo una remoción de DQO_T del 20.75 %, esto se puede atribuir a la baja colonización inicial del soporte, provocando que los microorganismos emplearan el carbono disponible para la formación de la biopelícula, sin embargo, luego de aclimatarse en la Etapa 1 durante 145 días, se obtuvo una remoción de 96.90 % al final de esta etapa. En las Etapas 2 y 3 se puede apreciar un aumento en la remoción de DQO, obteniendo al final de cada etapa remociones de 97.96 % y 97.84 %, respectivamente. Es importante destacar que las remociones más altas se obtuvieron en la Etapa 2 con una relación C/N=30, seguido de la Etapa 3 con una relación C/N=15, es claro que las remociones de DQO_T en el R2 son altas pese al suministro de $NaNO_3$ que dio como resultado la competencia por la fuente de carbono entre las bacterias desnitrificantes y las arqueas metanogénicas. En la Etapa 4, luego de retirar el suministro de $NaNO_3$, las remociones de DQO_T disminuyeron, obteniendo al final de esta etapa una remoción del 94.32 %.

En cuanto a la remoción de ST, se observó en el inicio que el R1 tuvo una remoción de 25.80 % y, al final de la Etapa 1, 28,10 %. Las remociones fueron en aumento conforme aumentó la concentración de RSC en el sustrato y esto se debe a que los RSC tienen un contenido orgánico mayor que los RSO, y también se debe a que la sección del LF cumple la función de retención de sólidos como primera instancia. Para el final de la Etapa 2 se encontró una remoción de 29.80 %, mientras que para el final de la Etapa 3 se tuvo 39.00 % de remoción, siendo ésta la etapa en la que mayor remoción de ST se presentó, finalizando con 30.90 % en la Etapa 4. La remoción de ST en el R2 tuvo una tendencia creciente desde el inicio hasta la Etapa 2, alcanzando al final de esta etapa remociones de 35.58 %. Sin embargo, en la Etapa 3 la remoción disminuyó considerablemente obteniendo remociones al final de la Etapa 3 de 25.41 % pudiéndose atribuir al aumento en el suministro de nitratos. En la Etapa 4 las remociones aumentaron, alcanzando 41.08 % pues solo se alimentaba sustrato de RSO.

Con respecto a la remoción de nitratos en el R2, se obtuvieron remociones iniciales en la Etapa 2 de entre un 50 - 60 % de los 121.6 mg $N-NO_3/L$ alimentados. Esto trajo consigo una disminución drástica en la remoción de DQO_T , reduciéndose hasta un 58 %. Es decir, el sistema se desestabilizó debido a la inhibición provocada por el suministro de nitratos. No obstante, después de 23 días las remociones de DQO_T se restablecieron a 97 %. Así mismo, las remociones de nitrato incrementaron hasta un 98.75 %, alcanzando así, al final de la Etapa 2 un 99.91 % de remoción de nitratos. En la Etapa 3, se suministraron 243.3 mg $N-NO_3/L$ los cuales fueron removidos en su totalidad a partir del segundo día de esta etapa, obteniendo remociones de DQO_T superiores al 96 % durante toda la etapa. De acuerdo a lo anterior, se puede observar una relación directamente proporcional entre la remoción de nitratos y de DQO_T , puesto que, el proceso de desnitrificación requiere de una fuente de carbono orgánico para reducir el nitrato a nitrógeno gaseoso. Es notable que la fracción líquida de los RSO es una buena fuente de carbono orgánico para el proceso de desnitrificación, puesto que, se obtuvieron remociones de nitrógeno altas suministrando un Cva baja de tan solo 5 gDQO/L-d, esto en comparación con lo reportado por Rosas-Mendoza (2007) quien empleando agua de bagazo con una Cva de 30 gDQO/L-d obtuvo remociones de 83 % de nitratos.

Además de la remoción del contenido orgánico de los sustratos, la producción de biogás es un aspecto importante en el aprovechamiento de residuos sólidos orgánicos, por lo que se encontró en el R1, que, en condiciones estándar de

presión y temperatura, se produjeron 3.0 L/d de biogás al inicio de la operación, con un rendimiento de 0.410 L/gDQO_{rem}, esto es ya que en el inicio de la operación, parte del carbono del sustrato se utilizó para la formación de biopelícula microbiana en el soporte. Al finalizar la Etapa 1, se obtuvo una producción de 5.0 L/d con un rendimiento de 0.555 L/gDQO_{rem}, esta fue la producción máxima de biogás alcanzada por el R1 y fue con el sustrato de RSO. Al realizar las perturbaciones con RSC, se observó que la producción de biogás se redujo a 4.5 L/d (0.508 L/gDQO_{rem}), 4.0 L/d (0.458 L/gDQO_{rem}) y 3.0 L/d (0.342 L/gDQO_{rem}) en las Etapas 2, 3 y 4, respectivamente. En un inicio, en el R2 únicamente se produjeron 1.5 L/d de biogás con un rendimiento de 0.600 L/gDQO_{rem}, a pesar de producir una menor cantidad de biogás se obtuvo un mejor rendimiento en comparación con el R1. En la Etapa 1, la producción de biogás aumentó alcanzando los 5.5 L/d (0.624 L/gDQO_{rem}) suministrando únicamente la fracción líquida de los RSO. Sin embargo, las producciones de biogás disminuyeron considerablemente en las Etapas 2 y 3 obteniendo al final de cada etapa 4.0 L/d (0.400 L/gDQO_{rem}) y 2.5 L/d (0.300 L/gDQO_{rem}), respectivamente. Esta disminución se pudiese deber a que el proceso de desnitrificación se estaba llevando en condiciones adecuadas, por lo que las bacterias desnitrificantes estaban empleando el carbono disponible como donador de electrones para la reducción de nitrato a nitrógeno gaseoso, debido a los nitratos en el afluente, por lo que, los consorcios bacterianos de la DA y la desnitrificación competían por la fuente de carbono, dando como resultado un efecto inhibitorio provocando un bajo rendimiento en la producción y rendimiento de biogás. En la Etapa 4, luego de retirar la adición de nitratos la producción de biogás aumentó nuevamente, obteniendo al final de la etapa nuevamente 5.5 L/d con un rendimiento de 0.600 L/gDQO_{rem}.

Monitoreo del desarrollo de la biopelícula anaerobia en los reactores

Como se mencionó anteriormente, ambos reactores fueron inoculados con un soporte de nombre Extendosphere™ que se encontraba pre-colonizado, los resultados de la determinación de MVA al momento de la inoculación de los reactores se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Monitoreo de la biopelícula anaerobia de los reactores en la zona media del LFI

	Reactor	Inicio	Final de Etapa 1	Final de Etapa 2	Final de Etapa 3	Final de Etapa 4
MVA	R1	23.43	34.05	30.80	29.85	25.40
(gbiomasa/Lsoporte)	R2	19.60	32.10	46.20	36.45	48.45

En el caso del R1, se inició la operación con 23.43 gbiomasa/Lsoporte, presentando una mayor colonización que el R2, durante los primeros días de operación del reactor se asume que la mayor parte del contenido de carbono proveniente del sustrato, conformado por la fracción líquida de RSO, fue utilizado para la creación de la biopelícula en el LFI, lo cual es evidente por la baja producción de biogás comparada con el final de la Etapa 1 de operación, de tal manera que para el final de la Etapa 1, se encontró un aumento considerable de MVA, hasta 34.05 gbiomasa/Lsoporte. En las etapas posteriores se adicionó la fracción líquida de RSC, con contenido de D-limoneno, lo cual incidió en las poblaciones microbianas adheridas al soporte del LFI: se observó un decremento en los valores de MVA gradual conforme aumentó la proporción de RSC en el sustrato, terminando la Etapa 4 con 25.40 gbiomasa/Lsoporte, siendo esta la etapa con el valor mínimo de MVA y también con la proporción máxima de RSC en el sustrato. Esto último se puede atribuir a que el D-limoneno provoca la pérdida de macromoléculas y, finalmente, la lisis celular de los microorganismos adheridos al soporte (Ruiz & Flotats, 2014), por esta razón, la cantidad de MVA disminuye.

En adición a ello, en la Figura 2 se observan las micrografías del desarrollo decreciente de la biopelícula anaerobia adherida al soporte en el LFI, allí se observa que la etapa en la que se logró la mayor colonización fue en la Etapa 1. En cuanto al R2, se inició la operación con una colonización de 19.90 gbiomasa/Lsoporte, obteniendo una baja remoción de DQO_T y baja producción de biogás. Sin embargo, durante la Etapa 1 la colonización aumentó 12.5 gbiomasa/Lsoporte con respecto MVA inicial, esto con el suministro de la fracción líquida de los RSO. No obstante, al suministrar NaNO₃ en la Etapa 2 la colonización aumentó notablemente, sin embargo, en la Etapa 3 la cantidad de NaNO₃ alimentada era mayor, lo que provocó una pérdida de colonización. Luego de retirar el suministro de NaNO₃ la colonización aumentó nuevamente, alcanzando los 48.45 gbiomasa/Lsoporte al final de la Etapa 4, la cual fue la mayor colonización obtenida

en el R2. Esto se puede visualizar en las micrografías, donde se aprecia que la biopelícula más desarrollada es la correspondiente a la Etapa 4.

Los resultados aquí mencionados abren la posibilidad a desarrollar futuras investigaciones utilizando reactor de biopelícula anaerobia, evaluando el efecto que pudieran tener diferentes tipos de inhibidores de la DA a los aquí estudiados.

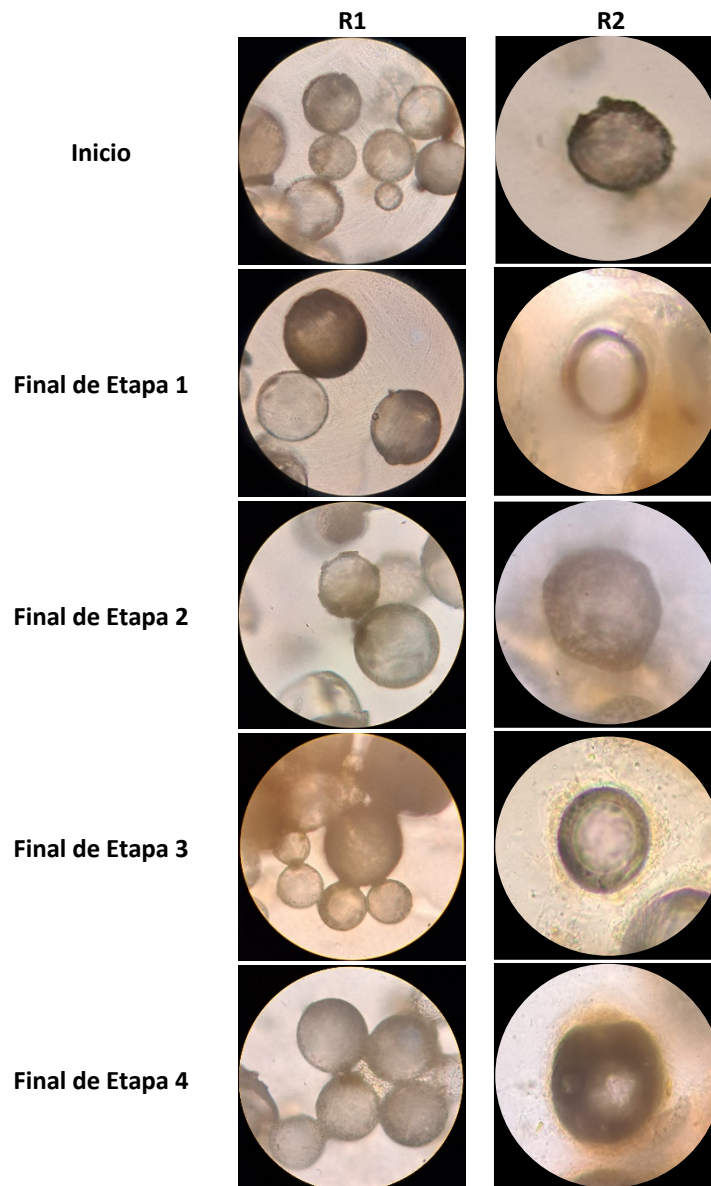


Figura 2. Micrografías de la biopelícula en el soporte de los reactores

Conclusiones

Es necesaria la implementación de estrategias que disminuyan la generación de los RSO para reducir los impactos ambientales que provocan, ya que se prevé un aumento del 1.2 % en la producción agrícola en México, respecto al año 2022.

En lo que respecta al pH, el R1 no presentó variaciones significativas con la presencia de D-limoneno en cítricos como inhibidor, sin embargo, en el R2 se observó un aumento considerable del pH con la presencia de nitratos debido al efecto desnitrificante. En cuanto al factor α de alcalinidad, se observó estabilidad en ambos reactores para el final de las cuatro etapas de operación, no obstante, en el R2 se notó que los valores de α fueron inferiores a los que se obtuvieron en el R1, esto a causa de la formación de CaCO_3 .

Las remociones de DQO_T en el R1, durante las cuatro etapas de operación fueron mayores a 95 %, esto propiciado por la aclimatación gradual de las poblaciones microbianas involucradas en el proceso de digestión anaerobia. Por otro lado, en el R2, la remoción de DQO_T aumentó en las etapas de inhibición debido a que el carbono proveniente de los RSO fue empleado para la reducción de nitratos a nitrógeno gaseoso. A su vez, la producción de biogás se vio afectada en las etapas correspondientes a la inhibición por D-limoneno y nitratos: en el R1, la producción de biogás disminuyó a mayor cantidad de RSC presentes en el sustrato; en el R2, sin embargo, en la última etapa, se recuperó la producción de biogás al detener el suministro de nitratos.

Finalmente, a pesar de la existencia de inhibidores en el proceso de digestión anaerobia, en ambos reactores se logró un correcto desempeño de los parámetros operativos para el aprovechamiento de residuos de difícil degradación en la producción de biogás.

Agradecimientos y financiamiento: Se agradece al TecNM y al CONAHCYT por las becas número 1150678 y 1150695.

Bibliografía

- Alvarado-Lassman, A., Méndez-Contreras, J., Martínez-Sibaja, A., Rosas-Mendoza, E. & Vallejo-Cantú, N. (2017). Biogas production from the mechanically pretreated, liquid fraction of sorted organic municipal solid wastes. *Environmental Technology*, 38 (11), 1342-1350. <http://dx.doi.org/10.1080/09593330.2016.1227877>.
- Anjum, M., Khalid, A., Qadeer, S., & Miadad, R. (2017). Synergistic effect of co-digestion to enhance anaerobic degradation of catering waste and orange peel for biogas production. *Waste Management & Research*, 35 (9), 967-977. <https://doi.org/10.1177/0734242X17715904>.
- APHA. Standard Methods for the examination of water and wastewater. (2017). American Water Works Association y Water Environment Federation.
- Botello-Suárez, W. A., Da Silva-Vantini, J., Duda, R. M., Giachetto, P. F., Carrijo-Cintra, L., Tiraboschi-Ferro, M. I. & Alves-de Oliveira, R. (2018). Predominance of syntrophic bacteria, Methanosaeta and Methanoculleus in two-stage up-flow anaerobic sludge blanket reactor treating coffee processing wastewater at high organic loading rate. *Bioresource Technology*, 268, 158-168. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.091>.
- Juárez-García, I., Snell-Castro, R., Méndez-Contreras, J., Vallejo-Cantú, N., Alvarado-Lassman, A. & Rosas-Mendoza, E. (2022). Performance of an anaerobic biofilm reactor through the application of different operational conditions. *Renewable Energy, Biomass & Sustainability*, 4 (1), 14-22. <https://doi.org/10.56845/rebs.v4i1.71>.
- Parra-Ortiz, D. L., Botero-Londoño, M. A. & Botero-Londoño, J. (2019). Biomasa residual pecuaria: revisión sobre la digestión anaerobia como método de producción de energía y otros subproductos. *Revista UIS Ingenierías*, 18 (1), 149-160.
- Martínez, M. E. (2004). Eliminación biológica de compuestos orgánicos y nitrogenados presentes en los efluentes de una industria productora de resinas. Memoria de grado. Doctorado en Química. Universidade da Coruña.
- Rawoof, S. A., Kumar, P. S., Vo, D.-V. N. & Subramanian, S. (2020). Sequential production of hydrogen and methane by anaerobic digestion of organic wastes: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19 (2), 1043-1063. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01122-6>.
- Ripley, L. E., Boyle, W. C. & Converse, J. C. (1986). Improved alkalimetric monitoring for anaerobic digestion of high-strength wastes. *Water Pollution Control Federation*. 48, 406-411.
- Rosas-Mendoza, E. S. (2007). Evaluación de la competencia entre bacterias desnitrificantes y bacterias metanogénicas en un reactor anaerobio. Instituto Tecnológico de Orizaba.
- Rosas-Mendoza, E. S., Méndez-Contreras, J. M., Martínez-Sibaja, A., Vallejo-Cantú, N. A. & Alvarado-Lassman, A. (2018). Anaerobic digestion of citrus industry effluents using an Anaerobic Hybrid Reactor. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 20 (7), 1387-1397. <https://doi.org/10.1007/s10098-017-1483-1>.
- Rosas-Mendoza, E., Palacios-Ríos, J. H., Méndez-Contreras, J. M., Vallejo-Cantú, N. A. & Alvarado-Lassman, A. (2020). Designing a supply chain for the generation of bioenergy from the anaerobic digestion of citrus effluents. *Techniques, tools and methodologies applied to global supply chain ecosystems* (166). Springer. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-26488-8_10.
- Ruiz, B., & Flotats, X. (2014). Citrus essential oils and their influence on the anaerobic digestion process: An overview. *Waste management*, 34 (11), 2063-2079. <http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.06.026>.
- SADER. (2023). Mayor cosecha de frutas, hortalizas y forrajes impulsan la producción agrícola de México.
- Sánchez-Balseca, J. J., Muñoz-Rodríguez I. M. & Aldás-Sandoval, M. B. (2019). Tratamiento biológico de desnitrificación de aguas residuales usando un reactor de biopelícula con cáscara de arroz como fuente de energía. *Tecnología y ciencias del agua*. 10 (2), 78-97. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2019-02-03>
- SEMARNAT. (2019). Informe de la situación del medio ambiente en México. México.
- Wan, S., Sun, L., Sun, J. & Luo, W. (2013). Biogas production and microbial community change during the co-digestion of food waste with chinese silver grass in a single-stage anaerobic reactor. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 1022-1030. <https://doi.org/10.1007/s12257-013-0128-4>.
- Zamri, M., Hasmady, S., Akhbar, A., Ideris, F., Shamsuddin, A., Mofijur, M., & Mahlia, T. (2021). A comprehensive review on anaerobic digestion of organic fraction of municipal solid waste. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (137). <https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110637>.