



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA

**“DISEÑO DE UN SISTEMA EXPERIMENTAL PARA LA REMOCIÓN
DE ALTAS CARGAS ORGÁNICAS DE AGUAS RESIDUALES
MEDIANTE UN FILTRO ANAEROBIO CON MÓDULOS DE ÁCIDO
POLILÁCTICO IMPRESOS EN 3D”**

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA QUÍMICA**

Presentado por

IBT. JERSON EMMANUEL SAYAVEDRA AJUNGO

Director

Dr. JOSÉ APOLINAR CORTÉS

Co-Director

Dr. FRANCISCO UNG MEDINA

Morelia Michoacán, agosto de 2021

RESUMEN

DISEÑO DE UN SISTEMA EXPERIMENTAL PARA LA REMOCIÓN DE ALTAS CARGAS ORGÁNICAS DE AGUAS RESIDUALES MEDIANTE UN FILTRO ANAEROBIO CON MÓDULOS DE ÁCIDO POLILÁCTICO IMPRESOS EN 3D

Presentado por

Jerson Emmanuel Sayavedra Ajungo

En el presente proyecto de investigación se realizó un soporte impreso con tecnología 3D con ácido poliláctico como material de impresión. Se realizó el enriquecimiento y estabilización de lodo anaerobio proveniente de un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente (RAFA) alimentándolo con estiércol de cerdo, realizando un seguimiento fisicoquímico con parámetros como pH, alcalinidad, relación α , ácidos grasos volátiles (AGV'S), una vez estabilizado el lodo anaerobio se realizó la inoculación de las estructuras 3D bajo condiciones de pretratamiento con mucílago de nopal. Mediante diferencia de peso se corroboró la formación de una biopelícula sobre el material impreso en 3D. Los mejores resultados se obtuvieron al sumergir durante 24 horas la estructura en mucílago de nopal, y alimentando semanalmente el inóculo anaerobio con estiércol de cerdo. Se determinó que el desarrollo de una biopelícula es proporcional a la rugosidad presentada en la superficie de crecimiento.

Dirigida por:

Dr. José Apolinar Cortés

Co- Dirigida por:

Dr. Francisco Ung Medina

Palabras clave: digestión anaerobia, reactor de biopelículas, tratamiento de aguas residuales.

ABSTRACT

DESIGN OF AN EXPERIMENTAL SYSTEM FOR THE REMOVAL OF HIGH ORGANIC LOADS FROM WASTEWATER THROUGH AN ANAEROBIC FILTER WITH 3D PRINTED POLYLACTIC ACID MODULES

Presented by

Jerson Emmanuel Sayavedra Ajungo

In the present research project, a printed support with 3D technology was made with polylactic acid as printing material. The enrichment and stabilization of anaerobic sludge from an Upflow Anaerobic Reactor (UASB) was carried out, feeding it with pig manure, performing a physicochemical monitoring with parameters such as pH, alkalinity, α ratio, volatile fatty acids, after the anaerobic sludge was stabilized, the 3D structures were inoculated under pretreatment conditions with nopal mucilage. By weight difference, the formation of a biofilm on the 3D printed material was corroborated. The best results were obtained by submerging the structure in nopal mucilage for 24 hours, and weekly feeding the anaerobic inoculum with pig manure. It was determined that the development of a biofilm is proportional to the roughness presented on the growth surface.

Directed by:

Dr. José Apolinar Cortés

Co-directed by:

Dr. Francisco Ung Medina

Key Words: anaerobic digestion, biofilm reactor, wastewater treatment.

A MIS PADRES

*Hago lo mejor que sé,
de la mejor manera que soy capaz
y pretendo continuar haciéndolo así
hasta el final*

Abraham Lincoln

ÍNDICE

RESUMEN.....	II
ABSTRACT.....	III
INDICE DE FIGURAS.....	VIII
INDICE DE TABLAS	X
AGRADECIMIENTOS	XI
1. INTRODUCCIÓN.....	12
1.1 Antecedentes.....	15
1.1.1 Tipos de Reactores	16
1.1.2 Impresión en 3D.....	17
1.1.3 Formación de biopelículas	24
1.1.4 Mucílago de nopal	30
1.1.5 Anaerobiosis.....	31
1.1.6 Tipos de bombas	36
1.2 Justificación	39
1.3 Planteamiento del problema.....	39
1.4 Hipótesis.....	39
1.5 Objetivos.....	39
1.5.1 Objetivo general.....	39
1.5.2 Objetivos específicos	40
2. METODOLOGÍA.....	41
2.1 Diseño y construcción del reactor	42
2.2 Diseño e impresión 3D del soporte.....	42
2.3 Evaluación del mucílago de nopal como adherente.....	43
2.3.1 Extracción de mucílago de nopal	43
2.3.2 Caracterización de mucílago de nopal	44
2.3.3 Inmersión de los soportes 3D en mucílago de nopal	44
2.4 Inoculación de los soportes con bacterias anaerobias	45
2.4.1 Caracterización de inóculo anaerobio.....	45
2.4.2 Enriquecimiento de inóculo anaerobio	45
2.4.3 Adhesión de bacterias anaerobias a soportes 3D.....	46
2.5 Caracterización de bomba de pulsos	48

3	RESULTADOS Y DISCUSION	49
3.1	Diseño y construcción del reactor	50
3.2	Diseño e impresión 3D del soporte	51
3.3	Evaluación del mucílago de nopal como adherente	53
3.3.1	Extracción y caracterización del mucílago de nopal	53
3.3.2	Inmersión de los soportes 3D a mucílago de nopal	54
3.4	Inoculación de los soportes con bacterias anaerobias	57
3.4.1	Caracterización de inóculo anaerobio	57
3.4.2	Enriquecimiento de inóculo anaerobio	57
3.4.3	Adhesión bacterias anaerobias a soportes 3D	61
3.5	Caracterización de bomba de pulsos	74
3.6	Desarrollo del sistema experimental	77
4	CONCLUSIONES	79
5	TRABAJOS FUTUROS	81
6	BIBLIOGRAFÍA	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales en operación hasta el año 2017 (Comisión Nacional del Agua, 2018).	15
Figura 2 Esquema de una impresora SLA de configuración de baño con un proceso de curado de escritura directa (A) - Esquema de una impresora SLA de configuración de capas con un método de curado basado en proyección (B). (Gross et al., 2014).....	18
Figura 3 Esquema de un aparato de impresión por chorro de tinta (Gross et al., 2014). ..	20
Figura 4 Esquema de una impresora SLS (Gross et al., 2014).	21
Figura 5 Esquema de impresora 3D por método FDM.....	22
Figura 6 Etapas de la degradación de compuestos complejos en el proceso anaerobio (Grady et al., 2011).....	34
Figura 7 Diagrama de flujo de la metodología utilizada para el diseño e impresión 3D del soporte.....	42
Figura 8 Diagrama de flujo utilizado para la extracción de mucílago de nopal.	43
Figura 9 Diagrama de flujo utilizado para la inmersión de estructuras 3D en mucílago de nopal.	44
Figura 10 Diagrama de flujo utilizado para caracterización y enriquecimiento del inóculo anaerobio.....	46
Figura 11 Diagrama de flujo utilizado para la inoculación de microorganismos anaerobios en estructuras 3D.	48
Figura 12 Diagrama de diseño de Reactor	50
Figura 13 Reactor de acrílico de base cuadrada.....	51
Figura 14 Vista superior de las estructuras impresas en 3D.....	52
Figura 15 Vista en planta de la estructura impresa en 3D.	52
Figura 16 Vista frontal de las estructuras impresas en 3D.....	53
Figura 17 Proceso de extracción de mucílago de nopal	54
Figura 18 Ganancia de peso en la adhesión de mucílago.	55
Figura 19 Fotografía de las pruebas de inmersión en mucílago al tiempo Contacto.	56
Figura 20 Micrografía de la estructura 3D en la prueba de inmersión en mucílago al tiempo Contacto.....	56
Figura 21 Valores de la concentración de pH durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.....	58

Figura 22 Valores de la concentración de la alcalinidad durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.....	59
Figura 23 Valores de la relación alfa durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.....	60
Figura 24 Valores de la concentración de AGV'S durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.....	61
Figura 25 Formación de la biopelícula en las estructuras 3D pretratadas con mucílago de nopal e inóculo alimentado.....	62
Figura 26 Fotografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo alimentado a los 16 días.	63
Figura 27 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo alimentado a los 16 días.	63
Figura 28 Formación de la biopelícula en las estructuras 3D pretratadas con mucílago de nopal e inóculo sin alimentación.	64
Figura 29 Fotografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo sin alimentación a los 16 días.....	65
Figura 30 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo sin alimentación a los 16 días.....	66
Figura 31 Formación de la biopelícula en las estructuras 3D sin pretratamiento de mucílago e inóculo alimentado.....	67
Figura 32 Fotografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento y alimentando el inóculo a los 16 días.	68
Figura 33 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento y alimentando el inóculo a los 16 días.	68
Figura 34 Formación de la biopelícula en las estructuras 3D sin pretratamiento de mucílago e inóculo sin alimentación.	69
Figura 35 Fotografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento e inóculo sin alimentación a los 16 días.....	70
Figura 36 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento e inóculo sin alimentación a los 16 días.....	71
Figura 37 Comportamiento del pH durante el crecimiento de la biopelícula.	72
Figura 38 Comportamiento de la alcalinidad durante el crecimiento de la biopelícula.....	73
Figura 39 Comportamiento de la relación α durante el crecimiento de la biopelícula.	74

Figura 40 Valores de caudal en stroke 40.	75
Figura 41 Valores de caudal en stroke 50.	75
Figura 42 Líneas de operación de la bomba.	76
Figura 43 Tiempos de retención hidráulico en las configuraciones de velocidad/strok.....	77
Figura 44 Diagrama de proceso para la operación del sistema experimental.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Métodos utilizados para los parámetros cuantificados en la metodología.	45
Tabla 2 Resultados de los parámetros caracterizados en el mucílago de nopal.	54
Tabla 3 Resultados de la caracterización previa en inóculo anaerobio	57

AGRADECIMIENTOS

Desde niños se nos ha inculcado el ser agradecidos, cuando se nos ofrecía un vaso de agua o se nos hacía un favor siempre existía un gracias como respuesta. Este acto se convirtió en una secuencia mecanizada y muy probablemente dar las gracias es una costumbre. En esta ocasión al pensar en todas las personas que tengo que agradecer por su ayuda para la culminación de este trabajo, me puse a reflexionar, ¿Qué significa dar las gracias? Al investigar los diferentes significados que se le atribuyen a la palabra “gracias” puedo decir que no hace justicia a todo el apoyo que he recibido.

Ma. Isabel, Armando, Marcela, Jimena, Javier, Ramses, Isaid, Cristha, José Alfredo, José Apolinar, Francisco, Ma. del Carmen, Rafael H, Medardo, Alejandro, Rafael M, Fabricio, José María, José Luis, Pedro C, Pedro M, Sofia, Daniel, Arturo, Edgar, Kathia, Andrea, Martin, Yunuen, Perla; de todos ustedes recibí mucho más que un simple apoyo, moral, sentimental, económico y/o técnico. Me faltan palabras para describir lo que siento en estos momentos al recordar las vivencias con cada uno de ustedes durante estos dos años.

¡G R A C I A S!

Un agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado para la realización de este trabajo.

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un elemento abundante en nuestro planeta; sin embargo, del total, el 97.5% es agua salada, y el agua dulce representa solamente el 2.5%, de este último porcentaje, el 68.9% está almacenada en estado sólido, principalmente en las regiones polares (96%) y en las zonas glaciares de las regiones montañosas (4%), el 30.8% restante es agua subterránea, y únicamente en la superficie (lagos, lagunas, reservas artificiales y ríos) se acumula el 0.3% de agua dulce en el planeta. La disponibilidad de agua promedio anual en el mundo es aproximadamente de 1,386 millones de km³, de los cuales, 35 millones de km³ son agua dulce (Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental A.C., 2016).

Anualmente México recibe aproximadamente 1,449.47 km³ de agua en forma de precipitación, de esta agua, se estima que el 72.1% se evotranspira y regresa a la atmósfera, el 21.4% escurre por los ríos o arroyos, y el 6.4% se infiltra al subsuelo para recarga de acuíferos. Tomando en cuenta los flujos de salida (exportaciones) y de entrada (importaciones) de agua con países vecinos, el país anualmente cuenta con 451.58 km³ de agua dulce renovable (Comisión Nacional del Agua, 2018).

El aumento acelerado de la población, el alto grado de urbanización y el incremento en el número de zonas metropolitanas han propiciado una creciente demanda del recurso hídrico para su uso en labores domésticas, industriales, agrícolas y pecuarias, que en consecuencia genera un mayor volumen de aguas residuales, lo que ha dado origen a diversos estudios sobre el control y prevención de la contaminación relacionada con el agua (Comisión Nacional del Agua, 2018; Torres, 1994).

En México la tecnología más utilizada para la depuración de los contaminantes presentes en las aguas residuales por métodos biológicos, son los Lodos Activados (Comisión Nacional del Agua, 2018); sin embargo, los costos operativos son elevados por la demanda energética requerida para la operación del proceso.

Dentro de las tareas incluidas en la Agenda del agua 2030, está el garantizar que las aguas residuales descargadas a los cuerpos receptores cumplan con los niveles de calidad definidos en el marco jurídico aplicable y diseñar acciones que reduzcan la contaminación formadas por fuentes difusas. Por ello, para lograr ríos limpios, será necesario que las plantas de tratamiento existentes y las que se construyan en un futuro, operen de manera eficiente para garantizar que sus efluentes cumplan con las normas respectivas, y fomentar el reúso del agua residual tratada (Comisión Nacional del Agua, 2011).

La digestión anaeróbica ha demostrado ser un proceso viable para depurar una gran variedad de residuos sólidos y aguas residuales, con ventajas sobre los procesos aeróbicos y fisicoquímicos, como la baja producción de lodo, el mayor potencial de carga orgánica, el bajo costo operativo y la producción de metano (Cresson et al., 2006).

Dentro del tratamiento de aguas residuales por procesos anaerobios, se encuentran los sistemas de biomasa fija (lecho empacado), donde la biomasa se adhiere en soportes que se encuentran inmersos dentro del reactor, los reactores anaerobios se diferencian entre sí por el tipo de empaque usado; el primer proceso empacado fue con roca, actualmente se utiliza una gran variedad de empaques sintéticos (CONAGUA, 2016).

Actualmente la impresión en 3D es una técnica innovadora que ha permitido potencializar cualquier proceso, por la capacidad de generar instrumentos y/o piezas a medidas requeridas teniendo un alto control de la calidad de estas (Gross et al., 2014).

1.1 Antecedentes

El tratamiento de aguas residuales en México inició en 1905 con la construcción de la primera planta de tratamiento de aguas residuales municipales la cual consistía en un Tanque Imhoff, con una capacidad de tratamiento de $10 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$. Para diciembre de 2017 existían en nuestro país 2,526 plantas de tratamiento en operación, con una capacidad instalada de $181.15 \text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$, y operación real de $135.58 \text{ m}^3\cdot\text{s}^{-1}$, los cuales representan el 63% del caudal recolectado del sistema de alcantarillado. (Comisión Nacional del Agua, 2016, 2018)

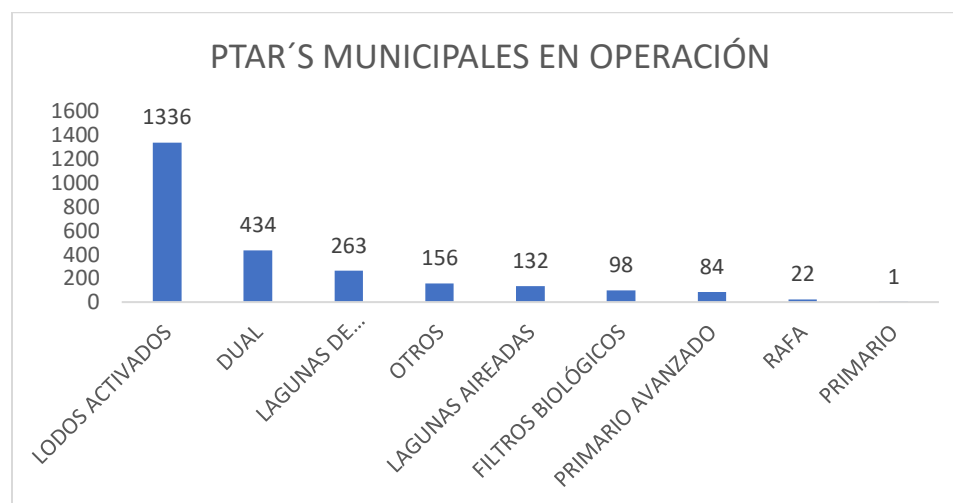


Figura 1. Plantas de Tratamiento de Aguas Residuales en operación hasta el año 2017 (Comisión Nacional del Agua, 2018).

En la Figura 1 se muestran los diferentes procesos de plantas de tratamiento que cubren la capacidad instalada, en esta se observa que el principal proceso son los lodos activados con 1,336 plantas en operación; 434 que combinan la tecnología de lodos activados y procesos anaerobios; 263 operan mediante lagunas de estabilización; 132 son lagunas aireadas; 98 pertenecen al proceso de filtros biológicos; 84 son un proceso primario avanzado; 22 operan bajo el diseño de un Reactor Anaerobio de Flujo Ascendente; 1 a partir de un sistema primario, y 156 procesos no especificados. Los filtros biológicos, tienen la característica de depurar contaminantes mediante microorganismos adheridos a una superficie o material de empaque (Ignacio et al., 2012), con ventajas de costo operativo, energético, e instalación menores con respecto a la planta de Lodos Activados, por ocupar menor volumen del sistema, eliminación de procesos unitarios, como lo es el tanque de sedimentación para la separación de la biomasa del efluente tratado y la simplicidad de la operación.

Mediante un reactor de Biopelícula de Lecho Aireado Sumergido de soporte Fijo (BLASF), se alcanzaron porcentajes de remoción de DQO entre el 49 y el 58%, en un efluente proveniente de las descargas de aguas municipales con concentraciones entre 5 y 14 Kg de DQO·m⁻³·d⁻¹ y tiempos de retención hidráulico entre 42 y 110 minutos (Ignacio et al., 2012)

1.1.1 Tipos de Reactores

Un reactor es un equipo en cuyo interior tiene lugar una reacción química y/o biológica, diseñado para maximizar la conversión y selectividad de esa reacción con el menor costo posible.

Reactores por lotes

Un reactor intermitente (*por lotes*) se emplea para operaciones a pequeña escala y/o probar nuevos procesos que aún no se han desarrollado en su totalidad, para fabricar productos costosos y para procesos difíciles de convertir en operaciones continuas. El reactor por lotes tiene la ventaja de permitir una alta conversión, que puede obtenerse dejando el reactivo dentro del reactor por periodos prolongados; sin embargo, sus desventajas son el alto costo de mano de obra por lote, así como la variabilidad del producto de un lote a otro y la dificultad para producción a gran escala (Fogler, 1999).

Reactor de flujo continuo

La mayoría de los reactores de flujo continuo que operan en estado estacionario se clasifican en: reactores continuos de mezcla perfecta, reactores tubulares o de flujo pistón y reactores de lecho empacado.

Reactor continuo de mezcla perfecta (CSTR)

También conocido como reactor de retromezcla, se opera en estado estacionario y se asume que produce una mezcla perfecta, debido a que la concentración no depende del tiempo o de la posición, es decir todas las variables son iguales dentro del reactor y su mayor aplicación es para el control de reacciones en fase líquida (Fogler, 1999).

Reactor tubular

Consta de un tubo cilíndrico que opera en estado estacionario, y los materiales que reaccionan se consumen de manera continua a medida que fluyen a lo largo del reactor, por lo que la concentración varía continuamente en dirección axial y su velocidad de

reacción, debido a que esta es una función de la concentración para todas las reacciones, excepto las de orden cero (Fogler, 1999).

Reactor de lecho empacado

Las reacciones que se dan dentro del reactor de lecho empacado son consideradas reacciones heterogéneas (fluido-sólido) y su velocidad de reacción se basa en la masa del catalizador sólido (W), y no del volumen del reactor (V). La velocidad de reacción de una sustancia A se define de acuerdo con la ecuación 1

$$-r'_A = \frac{\text{mol de A que reacciona}}{s \cdot g \text{ de catalizador}} \quad (1)$$

1.1.2 Impresión en 3D

La concepción de la impresión 3D también conocida como: *fabricación aditiva (AM)*, *creación rápida de prototipos (RP)* o *tecnología de sólidos de forma libre (SFF)*, fue desarrollada por Charles Hull (Gross et al., 2014); sin embargo, se tiene el antecedente que desde 1993 fue patentado el primer aparato denominado *impresora 3D*, la cual podía imprimir piezas de plástico, metal y cerámica (Sachs et al., 1993).

La impresión 3D se utiliza para la creación de prototipos modelados en 3D, generados originalmente por un programa de diseño asistido por computadora (CAD) (AutoDesk, AutoCAD, SolidWorks, Creo Parametric, etc.) (Wang et al., 2020), el cual se convierte en un archivo .SLT (Lenguaje de teselación estándar o STereo-Lithography) para la transferencia de datos entre el software CAD y la impresora 3D. El archivo .SLT almacena la información de cada superficie del modelo 3D en forma de secciones trianguladas, donde las coordenadas de los vértices se definen en un archivo de texto. Al aumentar el número de triángulos que definen una superficie, existen más puntos de datos en el archivo de texto para definir espacialmente la superficie de la pieza. Este aumento de vértices da como resultado una mayor resolución del dispositivo impreso (Gross et al., 2014; Wang et al., 2020).

Existe una variedad de técnicas de impresión 3D que van desde métodos bien establecidos, que se han empleado en entornos industriales durante años, hasta técnicas más recientes en desarrollo en laboratorios de investigación que se utilizan para aplicaciones más específicas. Las cuatro más estudiadas y utilizadas son: estereolitografía, impresión por inyección de tinta, sinterización selectiva por láser, y modelado por deposición fundida.

Estereolitografía (SLA)

SLA fue el primer método de creación rápida de prototipos comercializados. Hay varios enfoques diferentes para SLA, incluida la escritura directa/láser (Figura 2(A), configuración de baño) y la escritura basada en máscaras (Figura 2B, configuración de capas) (Pan et al., 2012). La técnica de escritura directa/láser contiene los componentes comunes de una base móvil, un tanque de resina líquida, un rayo de luz ultravioleta y una interfaz de computadora. La escritura basada en máscara también contiene la plataforma móvil, la cubeta de resina, la computadora y el rayo UV, así como una “capa” en forma de dispositivo de espejo digital (DMD) que permite el curado de una sola capa a la vez.

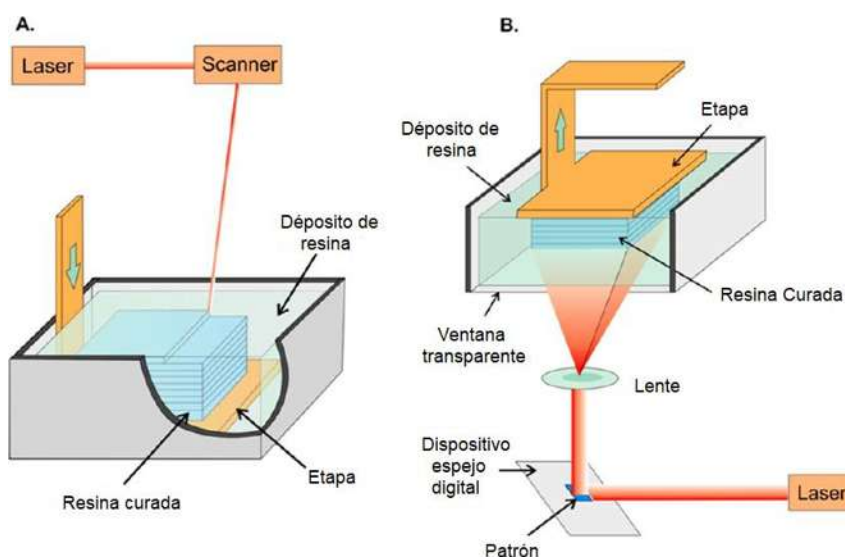


Figura 2. Esquema de una impresora SLA de configuración de baño con un proceso de curado de escritura directa (A) - Esquema de una impresora SLA de configuración de capas con un método de curado basado en proyección (B). (Gross et al., 2014).

En la configuración del baño, el rayo UV traza una sección transversal 2D sobre una base sumergida en un tanque de resina fotoactiva líquida que se polimeriza al iluminarse. El grosor de la resina curada depende de factores como la duración de la exposición, la velocidad de exploración y la intensidad de la fuente de energía, todos los cuales dependen de la energía de la luz ultravioleta. Después de completar la sección transversal 2D, la base desciende más en la resina por una distancia predefinida, y el rayo UV comienza a agregar la siguiente capa, que se polimeriza sobre la capa anterior. Entre las capas, una cuchilla cargada con resina nivela la superficie de la resina para asegurar una capa uniforme de

líquido antes de otra ronda de exposición a la luz ultravioleta. Este proceso se repite, rebanada a rebanada, hasta que se completa el objeto 3D.

La configuración de capas requiere los mismos componentes que la configuración del baño. Sin embargo, la plataforma móvil está suspendida sobre el depósito de resina, en contraste con la configuración del baño donde está sumergida. La fuente de luz se encuentra debajo de la tina, que tiene un fondo ópticamente transparente. Después de que cura la capa inicial, la plataforma se eleva, con resina sin curar llenando los huecos que quedan de la capa curada.

En ambas configuraciones, se requiere un paso posterior a la fabricación, utilizando una luz ultravioleta para garantizar que todos los grupos reactivos de la resina estén polimerizados, para fortalecer la unión en el objeto 3D final.

Impresión por inyección de tinta

Los dos tipos principales de impresión por inyección de tinta son la continua y la gota a pedido (DOD). La técnica de impresión de inyección de tinta continua requiere placas electrostáticas en el cabezal de la impresora para dirigir las gotas de tinta sobre el papel para imprimir o en un compartimiento de desechos para ser recicladas y reutilizadas, el espaciado se controla mediante la aplicación de un patrón de onda de presión. En la técnica DOD, un pulso de voltaje y presión dirige la gota de tinta, eliminando la necesidad de separar la tinta residual del cabezal de la impresora.

La impresión por inyección de tinta 3D es principalmente un método basado en polvo en el que capas de partículas sólidas, normalmente de 200 μm de altura con tamaños de partículas que oscilan entre 50 y 100 μm , se unen mediante un material líquido impreso para generar un modelo 3D. Específicamente, una primera capa de polvo se distribuye uniformemente en la parte superior de una plataforma de soporte, por ejemplo, mediante un rodillo, después de lo cual un cabezal de impresora de inyección de tinta imprime gotas de material aglutinante líquido sobre la capa de polvo en las áreas de solidificación deseadas. Después de que se completa la primera capa, la etapa cae y una segunda capa de polvo se distribuye y se combina selectivamente con material de encuadernación impreso. Estos pasos se repiten hasta que se genera un modelo 3D, después de lo cual el modelo generalmente se trata con calor para mejorar la unión de los polvos en las regiones

deseadas. El polvo no unido sirve como material de soporte durante el proceso y se elimina después de la fabricación (Gross et al., 2014).

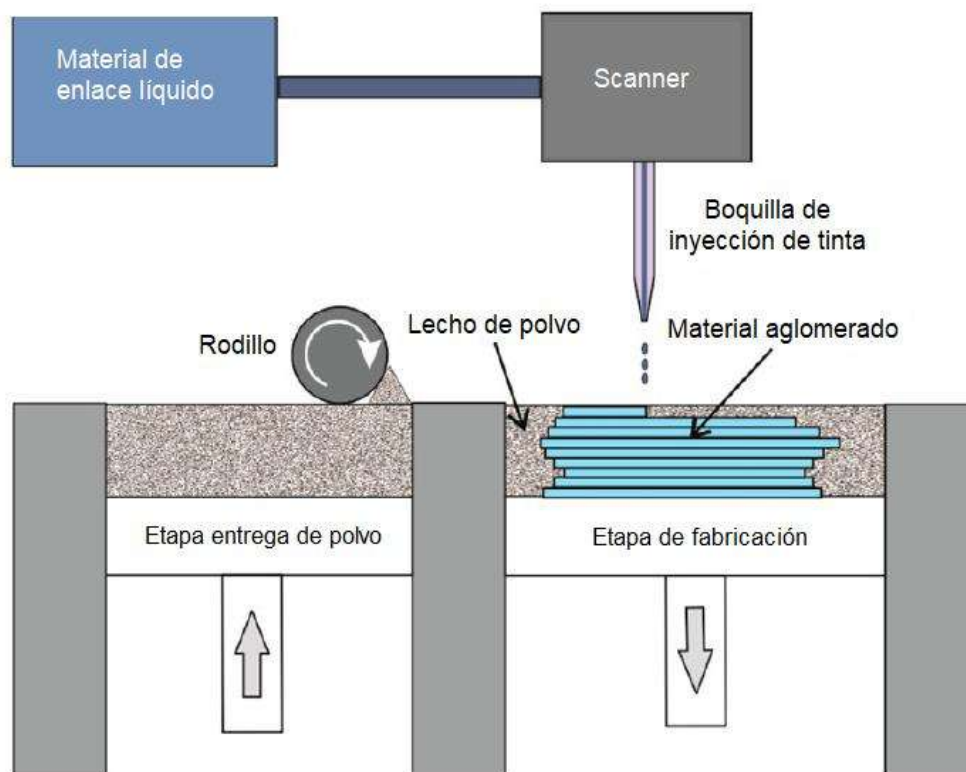


Figura 3. Esquema de un aparato de impresión por chorro de tinta (Gross et al., 2014).

Como técnica de impresión 3D basada en polvo, la impresión por inyección de tinta no requiere materiales fotopolimerizables o líquidos con viscosidades modificadas. Los polvos de materiales poliméricos, cerámicos o de vidrio se pueden combinar con materiales aglutinantes líquidos para generar un modelo 3D, que ha expandido significativamente la aplicación de la técnica en áreas como el diseño artístico y el modelado industrial. Una advertencia para el método es que las propiedades químicas y físicas del líquido impreso dominarán las del dispositivo impreso. Por ejemplo, muchos pegamentos poliméricos son biológicamente tóxicos. Otra limitación de la impresión por inyección de tinta es la transparencia óptica de los dispositivos acabados; La interacción incompleta del líquido aglutinante con las partículas de polvo puede hacer que un material tenga una transparencia reducida debido a la dispersión de la luz, lo que sería una limitación severa para los estudios de microscopía.

Sinterización selectiva por láser (SLS)

SLS es otro método de fabricación de modelos 3D basado en polvo. Desarrollado en la década de 1980 por (Beaman & Deckard, 1990). Aunque SLS es similar a la impresión por inyección de tinta, SLS utiliza un láser de alta potencia, por ejemplo, CO₂ y Nd:YAG, para sinterizar polvos de polímero para generar un modelo 3D, en lugar de utilizar materiales aglutinantes líquidos para pegar partículas de polvo.

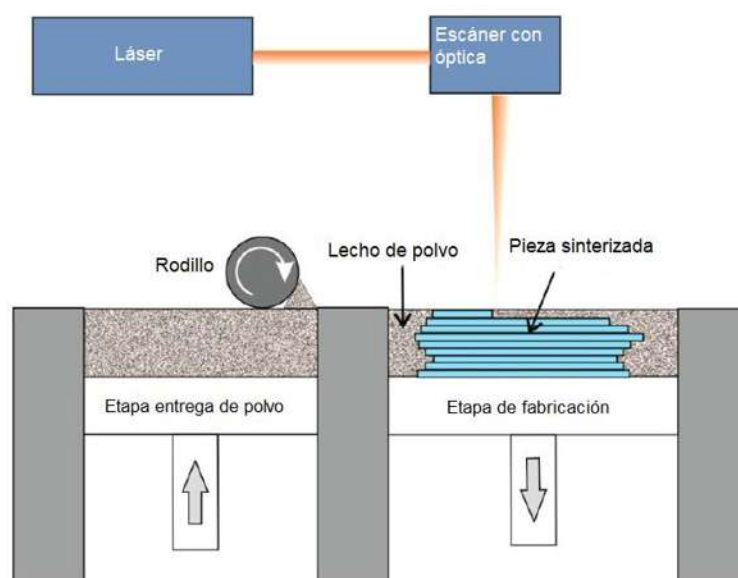


Figura 4. Esquema de una impresora SLS (Gross et al., 2014).

En el proceso SLS, una primera capa de polvo se distribuye uniformemente en una plataforma mediante un rodillo y luego se calienta a una temperatura justo por debajo del punto de fusión del polvo (Figura 4). Siguiendo los perfiles transversales designados en el archivo .STL, se escanea selectivamente un rayo láser sobre el polvo para elevar la temperatura local al punto de fusión del polvo para fusionar las partículas de polvo. Una vez completada la primera capa, se agrega, nivela y sinteriza una segunda capa de polvo en las áreas deseadas. Estos pasos se repiten para crear un modelo 3D.

Una ventaja de SLS es que se puede utilizar una amplia gama de materiales, desde polímeros como policarbonato (PC), cloruro de polivinilo (PVC), acrilonitrilo butadieno

estireno (ABS), nailon, resina y poliéster hasta polvos metálicos y cerámicos (Ko et al., 2008; Yan & Gu, 1996). Además, SLS no requiere un material líquido aglutinante. Sin embargo, los modelos impresos SLS sufren contracción o deformación debido al calentamiento térmico del láser y el enfriamiento posterior.

Modelado por deposición fundida (FDM)

FDM es una de las tecnologías de fabricación más utilizadas para la creación rápida de prototipos en la actualidad. FDM fabrica un modelo 3D extruyendo materiales termoplásticos y depositando los materiales semifundidos en una etapa capa por capa. Como se observa en la Figura 5, los filamentos termoplástico (material utilizado para construir modelos 3D) se mueven por dos rodillos hasta la punta de la boquilla de la extrusora de un cabezal de impresión, donde se calientan mediante unidades de control de temperatura hasta un estado semifundido. A medida que el cabezal de impresión traza el diseño de cada capa de sección transversal definida horizontalmente, los materiales semifundidos se extruyen fuera de la boquilla y se solidifican en las áreas deseadas. Luego, la etapa desciende y se deposita otra capa de la misma manera. Estos pasos se repiten para fabricar una estructura 3D capa por capa.

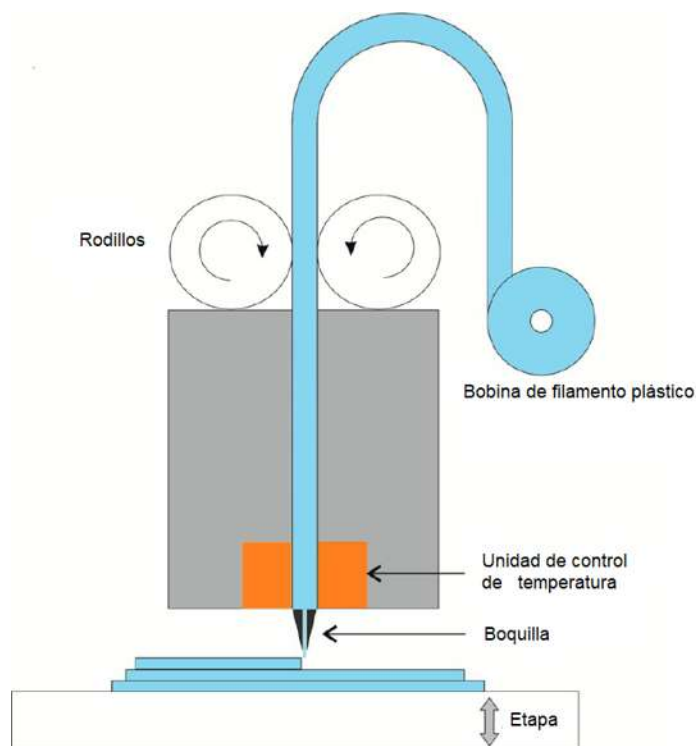


Figura 5. Esquema de impresora 3D por método FDM.

Los defectos superficiales de este proceso en particular incluyen efectos de escalera y acordes que resultan de la naturaleza del software de corte y del formato de archivo .STL. Los defectos internos pueden ser el resultado de heterogeneidades en el diámetro y la densidad de alimentación del filamento, ya que pueden afectar la forma en que se extruye el material de la boquilla de la impresora.

Una ventaja notable de FDM es que puede crear objetos fabricados a partir de múltiples tipos de materiales imprimiendo y posteriormente cambiando el material de impresión, lo que permite un mayor control del usuario sobre la fabricación del dispositivo para uso experimental. Además de los materiales convencionales como PC, poliestireno (PS) y ABS, FDM también puede imprimir modelos 3D a partir de polímeros reforzados con vidrio, metal, cerámicas y materiales bio-reabsorbibles (Toyoda & Matsuo, 1999; Wu et al., 1999; Yan & Gu, 1996; Zein et al., 2002).

Los antecedentes más recientes que se tienen en la implementación de la tecnología de impresión 3D como material de soporte para biomasa son: se diseñaron 3 soportes para la cuantificación de la conversión de amoníaco (NH_3) a nitratos (NO_3^-), con un tiempo de retención hidráulico de 8 horas en un reactor biopelículas de lecho móvil (MBBR), los resultados mostraron un incremento en la eficiencia de hasta un 60% respecto a los soportes comerciales. A partir de estos resultados los autores sugieren que el rendimiento de los MBBR se puede mejorar mediante la manipulación y optimización de la topología de los soportes (Proano-Pena et al., 2020); se diseñó un soporte semi suspendido con forma de husillo con el cual se comparó la variación de las características de crecimiento de una biopelícula en el soporte bajo dos tasas de aireación diferentes ($0.3 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ y $3 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ respectivamente), el soporte fue inoculado con microorganismos nativos de una planta de tratamiento de aguas municipales, alimentado con agua residual sintética a una relación de DQO:N:P de 100:5:1 y un tiempo de retención hidráulico de 24 hrs. Mediante la cuantificación de la cantidad y calidad de la secreción de polímeros extracelulares (EPS) se determinó que una tasa de aireación más alta $3.0 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ incrementa la estabilidad del crecimiento de la biopelícula (Tang et al., 2017); se comparó la efectividad para la remoción de nitrógeno de aguas residuales con 4 materiales diferentes como soporte de bacterias annamox: esponja de poliuretano, tela no tejida, carbón activado granular y plásticos de polietileno impresos en 3D. Se utilizaron 5 reactores MBBR (cada uno con los soportes antes mencionados y un control) operados en forma semicontinua, fueron inoculados con

lodo proveniente de un reactor anaerobio de flujo ascendente; la temperatura se mantuvo constante a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, se alimentaron con agua residual sintética con una tasa de carga de nitrógeno total (TNRL) de $0.47 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ en su fase de operación, los resultados mostraron que el reactor empacado con carbón activado granular logro la mayor remoción de la TNRL de hasta $0.40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{d}^{-1}$ (Gu et al., 2020); se diseñó un soporte tipo fullereno, su impresión se realizó mediante la técnica de sinterización selectiva por láser, se inoculó con lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales en un reactor discontinuo; se alimentó con agua residual sintética a una relación DQO:N:P de 100:4:1. La puesta en marcha y operación del reactor se dividió en 3 etapas, en la primera (primeros 5 días) se controló un tiempo de retención hidráulica de 8 horas, en la segunda (día 5 al 12) se redujo a 6 horas y en la tercera (día 12 al 45) se mantuvo constante en 4 horas; la temperatura se mantuvo constante a 27°C durante todo el proceso de estabilización. La efectividad del soporte fue evaluada al comparar sus propiedades físicas (hidrofobicidad y rugosidad) contra un soporte comercial, además se evaluó la calidad de la biopelícula demostrando mediante microscopia electrónica de barrido que las biopelículas adheridas al soporte diseñado e impreso en 3D eran más estables y gruesas que las adheridas al soporte comercial. Finalmente, el reactor discontinuo obtuvo rendimientos de remoción de la carga orgánica cuantificada como DQO del 76.6% y una remoción de NH_3 del 33.9% (Dong et al., 2015).

El desempeño de un reactor de biopelícula depende de la formación de biopelícula suficiente y estable dentro de un biorreactor, uno de los factores esenciales para determinar la formación y las características del biofilm son las propiedades del soporte (Tang et al., 2017) .

1.1.3 Formación de biopelículas

Las bacterias pueden existir en la naturaleza bajo dos formas o estados:

- Bacterias planctónicas, de libre flotación y suspendidas en el fluido.
- Bacterias sésiles (formadoras de biofilm), creciendo en colonias de microorganismos adheridas a superficies sólidas

Se ha reportado que el 99% de todas las células bacterianas existen en calidad de biofilms, y tan solo el 1% vive en estado planctónico. Este singular comportamiento tiene consecuencias en el modo de analizar la supervivencia de las células procariotas tanto en ambientes naturales o industriales como en el organismo humano.

En un principio, el estudio de los biofilms estuvo ligado al ensuciamiento biológico que causaba problemas en la industria definiéndose a los biofilms o biopelículas como una comunidad de bacterias adheridas a una superficie sólida inmersa en un medio líquido. Se puede definir a una biopelícula como “una comunidad microbiana sésil, caracterizada por células que están adheridas irreversiblemente a un sustrato o interfase, o unas con otras, encerradas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas han producido, y que exhiben un fenotipo alterado en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica” (Díaz, 2011; Donlan, 2002).

Las biopelículas no son solamente simples cúmulos de material polimérico dentro del cual se encuentran embebidas aleatoriamente las células microbianas sin ningún tipo de organización.

1.1.3.1 Estructura de la biopelícula

Las bacterias sésiles crecen dentro de microcolonias embebidas en una matriz polimérica que incluye canales abiertos. Este tipo de estructura abierta permite que el agua, presente en el ambiente en donde se desarrolla la biopelícula, pueda penetrar a través de los canales y por lo tanto los nutrientes lleguen a zonas profundas de la micro colonia dentro de su comunidad, permite que estas comunidades desarrollen un espesor y una complejidad considerable mientras que las células individuales que las componen se mantienen en óptimas condiciones nutricionales, en muchas ubicaciones dentro de la misma (Díaz, 2011).

La formación de la biopelícula puede ocurrir por tres mecanismos. Uno de ellos es la división binaria de células adheridas (Givskov et al., 2015). El segundo mecanismo es la redistribución de las células adheridas mediante la movilidad superficial. Es decir, que a medida que las células se dividen, las células hijas se desplazan sobre la superficie para formar cúmulos celulares, de manera similar a lo que ocurre en la formación de colonias en las placas de agar. El tercero es la agregación es la captación de células planctónicas a partir del fluido hacia el biofilm desarrollado (Tolker-Nielsen, 2000).

1.1.3.2 Etapas del desarrollo de la biopelícula

El desarrollo de la biopelícula se lleva a cabo por medio de 5 etapas consecutivas que se describen a continuación (Davey & O'toole, 2000; Michael Dunne Jr., 2002).

Etapas 1. Acondicionamiento de la superficie

La primera etapa comienza con la adsorción de una fina capa orgánica en el sustrato, esta película puede cambiar drásticamente las características fisicoquímicas del sustrato dependiendo del tipo de moléculas adsorbidas sobre la superficie, posteriormente empieza el transporte de microorganismos hacia una superficie.

Existen factores externos que afectan la adhesión de las bacterias desde un medio líquido sobre un sólido (Bryers, 2009):

- Factores físicos: los factores físicos más importantes son la tensión de corte, temperatura, rugosidad, topografía y carga superficial. Estos factores influyen en el transporte, los fenómenos interfaciales, el desprendimiento y las reacciones en la interfase.
- Factores químicos: la composición de la superficie del sustrato, la composición del medio en el que se desarrolla el biofilm, el pH, el oxígeno disuelto.

La materia orgánica presente en el agua se adsorbe sobre las superficies y forma lo que se conoce como “película condicionante”, cambiando las propiedades químicas y físicas de la interfase sustrato/fluido y tornándola más amigable para la adhesión bacteriana.

Etapas 2. Adhesión reversible

La segunda etapa corresponde a la adhesión reversible de microorganismos, la repulsión neta entre la superficie celular y el sustrato puede ser superada por interacciones moleculares específicas mediadas por apéndices extracelulares (por ejemplo, pilis, fimbrias y flagelos). Muchas de estas células son capaces de movilizarse independientemente gracias a los apéndices celulares llamados pilis con movimientos del tipo contracciones o deslizamiento. Estas células todavía no se encuentran en proceso de diferenciación y pueden abandonar la superficie para volver al estado planctónico. Durante esta etapa reversible, las bacterias

presentan ciertos comportamientos específicos como, por ejemplo, rodar, reptar, formación de agregados e hileras bacterianas (Díaz, 2011).

La adhesión reversible de bacterias a una superficie o a un sustrato puede ser de dos maneras:

- Activa: la motilidad, otorgada por los flagelos, fimbrias y pilis tipo IV, ayudaría a la bacteria a alcanzar la superficie en las etapas iniciales de la adhesión, siendo su función principal vencer las fuerzas de repulsión más que actuar como adherente. Sin embargo, la motilidad no parece ser un requisito esencial para el acercamiento al sustrato, puesto que bacterias Gram-positivas inmóviles, como estafilococos, estreptococos y micobacterias, también poseen la capacidad de formar biofilms. En caso de las bacterias Gram-positivas se ha descrito, en esta primera etapa, la participación de proteínas de superficie. Una vez que llegan a la superficie pueden desplazarse sobre ella mediante movimientos individuales o grupales.
- Pasiva: Factores externos tales como la gravedad, difusión, precipitación de partículas y dinámica de fluidos pueden favorecer la adhesión de los microorganismos a cualquier superficie.

Las propiedades fisicoquímicas de la superficie también pueden ejercer una fuerte influencia en el grado y extensión de la adhesión, pueden también influir, variaciones en la velocidad de flujo, temperatura del agua, y concentración de nutrientes.

Frecuentemente, se tiende a predecir o interpretar el mecanismo de adhesión microbiana mediante los conceptos desarrollados en la literatura de coloides (Verwey, 1947). Al respecto debe tenerse en cuenta que generalmente, se considera que las fuerzas de largo alcance gobiernan la velocidad de deposición de una partícula coloidal cargada sobre una superficie. Estas fuerzas incluyen las interacciones de Van Der Waals de largo alcance y las fuerzas electrostáticas de doble capa que constituyen la base de la teoría DLVO (*Derjaguin, Landau, Verwey y Overbeek*) (Verwey, 1947). Las fuerzas de Van Der Waals son generalmente atractivas y resultan de las interacciones entre dipolos inducidos entre moléculas de la partícula coloidal y moléculas de la superficie. Las fuerzas eléctricas de doble capa se generan a partir del solapamiento de las nubes electrónicas de los contraiones de las superficies cargadas y el cambio en la energía libre a medida que las

superficies se alejan o se acercan. El resultado es una fuerza neta de atracción entre superficies cargadas opuestamente y una fuerza neta repulsiva entre superficies de cargas de igual signo.

Etapas 3. Adhesión irreversible

La tercera etapa comienza con la exudación del material polimérico extracelular (EPS) y la adhesión irreversiblemente, las células adheridas que inician la formación del biofilm sobre una superficie están rodeadas por pequeñas cantidades de EPS. Este material polimérico está compuesto por polisacáridos, proteínas y ácidos nucleicos.

El cambio desde la adhesión reversible a irreversible se produce por la transición desde una interacción débil de la célula con el sustrato hasta un enlace permanente, frecuentemente mediado por la presencia de polímeros y apéndices extracelulares. Investigaciones recientes sugieren que la transición hasta la adhesión permanente a una superficie está acompañada por cambios fisiológicos profundos (Stoodley et al., 2002). En esta segunda fase de adhesión, predominan las reacciones moleculares entre las estructuras superficiales bacterianas y la superficie del sustrato. Estas reacciones implican una adhesión firme entre la bacteria y la superficie mediada por estructuras poliméricas superficiales como, por ejemplo, cápsulas, fibrilas, fimbrias, pilis y EPS. La adhesión irreversible específica puede ser definida como la unión específica entre las adhesinas bacterianas (un componente específico molecular de la superficie bacteriana) y un receptor del sustrato (un componente específico de la superficie del material o tejido superficial) estando menos afectada por factores ambientales (pH, electrolitos, temperatura) (Díaz, 2011).

Las cápsulas bacterianas son estructuras superficiales compuestas por polisacáridos y proteínas. En varios trabajos se ha sugerido que los polisacáridos y proteínas de la superficie celular pueden actuar como adhesinas bacterianas. El sello distintivo que diferencia a los biofilms de las bacterias simplemente adheridas a una superficie es que los biofilms contienen EPS que rodea a las bacterias residentes. El EPS microbiano consiste en polímeros biosintéticos que pueden variar su composición química y también polisacáridos sustituidos y no sustituidos, proteínas sustituidas y no sustituidas, ácidos nucleicos y fosfolípidos (Sheng et al., 2010).

Etapas 4. Maduración del biofilm

La cuarta etapa comienza con la maduración del biofilm y el desarrollo de la estructura típica de las microcolonias con los espacios intracelulares o canales, muchas células alteran sus procesos fisiológicos (por ejemplo, crecer anaeróbicamente en las zonas profundas del biofilm) en respuesta a las condiciones particulares del ambiente dentro del biofilm.

La densidad global y la complejidad del biofilm aumenta a medida que los organismos adheridos se replican, mueren y los componentes extracelulares de las bacterias interactúan con las moléculas orgánicas e inorgánicas presentes en el medio ambiente circundante.

El potencial crecimiento de cualquier biofilm está limitado por la disponibilidad de nutrientes en el ambiente inmediato, la penetración de estos nutrientes dentro del biofilm y la eliminación de residuos. Otros factores que pueden controlar la maduración del biofilm son el pH interno, la penetración de oxígeno, fuentes de carbono y la osmolaridad.

Etapas 5. Desprendimiento de micro colonias

Finalmente, la quinta etapa comienza, cuando algunas microcolonias pueden desprenderse de la superficie o pueden liberarse células individuales revirtiendo su estado a bacterias planctónicas que se desprenden de la matriz polimérica dejando espacios entre las microcolonias que pueden actuar como canales dentro de la estructura del biofilm. Esta serie de etapas consecutivas no necesariamente se encuentran sincronizadas a través de todo el biofilm, sino que generalmente ocurren de manera tal que, en cualquier momento, una región de las colonias está ocupada por biofilm en distintos estados de desarrollo.

El término desprendimiento es un término que se utiliza para describir la liberación de células (ya sea individualmente o en grupos) de un biofilm o sustrato. El desprendimiento activo es un evento fisiológicamente regulado.

Los tres principales mecanismos para generar el desprendimiento serían:

- Erosión: remoción continua de pequeñas partes del biofilm.
- Separación: remoción rápida y masiva.
- Abrasión: liberación por colisión de partículas suspendidas en el líquido circundante del biofilm.

La separación es menos frecuente que la erosión, y se piensa que derivaría de la disminución de nutrientes u oxígeno en el interior del biofilm. Se observa preferentemente en biofilms voluminosos, que se han desarrollado en medioambientes ricos en nutrientes.

La separación y erosión proporcionarían los mecanismos para que las bacterias migren desde zonas densamente colonizadas a áreas desnudas que podrían favorecer mejor su desarrollo, logrando así formar nuevos biofilms en sitios distantes.

1.1.3.3 Efecto de la hidrodinámica en la biopelícula

La velocidad de flujo inmediatamente adyacente a la interfaz de sustrato/líquido es despreciable. Esta zona de flujo insignificante se denomina capa límite hidrodinámica. Su grosor depende de la velocidad lineal; cuanto mayor sea la velocidad, más delgada será la capa límite. La región fuera de la capa límite se caracteriza por una mezcla sustancial o turbulencia. Para regímenes de flujo caracterizados como laminares o mínimamente turbulentos, la capa límite hidrodinámica puede afectar sustancialmente las interacciones célula-sustrato. Las células se comportan como partículas en un líquido, y la velocidad de asentamiento y asociación con una superficie sumergida dependerá en gran medida de las características de velocidad del líquido. Bajo velocidades lineales muy bajas, las células deben atravesar la capa límite hidrodinámica considerable, y la asociación con la superficie dependerá en gran parte del tamaño de la célula y la motilidad de la célula. A medida que aumenta la velocidad, la capa límite disminuye y las células se verán sometidas a turbulencias y mezclas cada vez mayores. Por lo tanto, se esperaría que las velocidades lineales más altas se equipararan a una asociación más rápida con la superficie, al menos hasta que las velocidades sean lo suficientemente altas para ejercer fuerzas de corte sustanciales en las celdas de unión (Donlan, 2002).

1.1.4 Mucílago de nopal

Los nopales poseen una sustancia viscosa conocida como mucilago o hidrocoloide, que está constituido por carbohidratos de alto peso molecular. Contiene principalmente dos polímeros naturales orgánicos: amilosa (polímero de la glucosa con unión 1-4 tipo alfa consigo misma) y amilopectina (polímero también de la glucosa, pero con uniones 1-6). El mucilago de nopal es un polisacárido con peso molecular promedio de 13×10^6 g/mol, altamente ramificado. Cuenta con 5 monosacáridos diferentes: arabinosa, galactosa, xilosa, ramnosa, y ácido galacturónico (Orozco Silvas, 2017).

Las aplicaciones del mucílago de nopal con fundamento en conocimiento empírico son muy diversas (Vargas Rodríguez et al., 2016). En la actualidad el mucílago de nopal se ha convertido en caso de estudio de diferentes ámbitos científicos, como lo son el área de la construcción donde se ha utilizado el mucílago como adhesivo en pinturas en una técnica denominada a la cal (Vargas et al., 2012); así mismo se ha investigado las propiedades de durabilidad y análisis microestructural del hormigón y la pasta de cemento al ser enriquecidos con mucílago de nopal como aditivo natural (Ramírez-Arellanes et al., 2012). En el área de la medicina ha sido objeto de estudio por la disminución de la glucosa sanguínea para pacientes con diabetes mellitus II (Santos et al., 2009); a partir del mucílago de nopal se han realizado extractos y aislamientos de polisacáridos con actividad hipoglucemiante (Alarcón-Aguilar et al., 2003). En el área alimenticia se han realizado estudios sobre el recubrimiento con películas comestibles elaboradas a partir de mucílago de nopal (González-González, 2011; Mendoza et al., 2014). Respecto al tratamiento de aguas residuales el mucílago de nopal ha generado resultados positivos en complemento con $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ para la eliminación de la turbidez (Contreras Lozano et al., 2015; Vaca Mier et al., 2014).

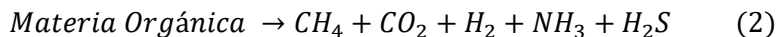
1.1.5 Anaerobiosis

La digestión anaeróbica se ha utilizado mucho tiempo para la estabilización de los lodos de aguas residuales. Tiempo después, fue utilizado con éxito para el tratamiento de aguas residuales industriales y domésticas. Esto fue posible gracias a una mejor comprensión de la microbiología de este proceso y a través de diseños mejorados del reactor (Bitton, 2005).

En el proceso de digestión anaerobia, la materia orgánica contenida en la mezcla de lodos primarios y biológicos se convierte biológicamente, bajo condiciones anaerobias, en metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2). El lodo estabilizado, que se extrae del proceso, tiene un bajo contenido en materia orgánica y patógenos, y no es putrescible (Metcalf & Eddy, 2014).

1.1.5.1 Microbiología del proceso

Los consorcios de microorganismos, en su mayoría bacterias y metanógenos, participan en la transformación de compuestos orgánicos complejos de alto peso molecular en metano. Además, las interacciones sinérgicas entre los diversos grupos de microorganismos están implicadas en la digestión anaerobia de desechos. La reacción global se muestra en la ecuación 2.



Aunque algunos hongos y protozoos se pueden encontrar en los digestores anaeróbicos, las bacterias y los metanógenos son, sin duda, los microorganismos dominantes. Un gran número de bacterias anaeróbicas estrictas y facultativas (por ejemplo, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*) están implicadas en la hidrólisis y fermentación de compuestos orgánicos (Bitton, 2005).

Cuatro categorías de microorganismos están involucradas en la transformación de materiales complejos en moléculas simples como el metano y el dióxido de carbono, que se describen a continuación.

Bacterias Hidrolíticas

Los consorcios de bacterias anaeróbicas descomponen las moléculas orgánicas complejas (por ejemplo, proteínas, celulosa, lignina, lípidos) en moléculas monómeras solubles, como aminoácidos, glucosa, ácidos grasos y glicerol. Este proceso se da a través de la vía enzimática (celulasas, proteasas y lipasas) de los compuestos de alto peso molecular en compuestos que puedan servir como fuentes de energía y de carbono celular. Los monómeros están directamente disponibles para el siguiente grupo de bacterias (Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2014).

Bacterias Acidogénicas fermentativas

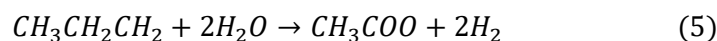
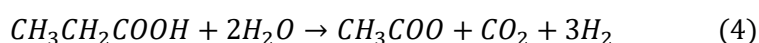
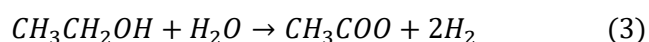
Las bacterias acidogénicas (es decir, formadoras de ácido) por ejemplo, *Clostridium*, convierten los azúcares, aminoácidos y ácidos grasos en ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, propiónico, fórmico, láctico, butírico o succínico), alcoholes y cetonas (por ejemplo, etanol, metanol, glicerol, acetona), acetatos, CO₂ y H₂. El acetato es el principal producto de la fermentación de carbohidratos. Los productos formados varían con el tipo de bacteria y con las condiciones de cultivo (temperatura, pH, potencial redox) (Bitton, 2005).

Bacterias Acetogénicas

Las bacterias acetogénicas (acetato y bacterias productoras de H₂) como *Syntrobacter wolinii* y *Syntrophomonas wolfei* convierten los ácidos grasos (por ejemplo, ácido propiónico, butírico) y alcoholes en acetato, hidrógeno y dióxido de carbono, que son utilizados por los metanógenos. Este grupo requiere bajas tensiones de hidrógeno para la conversión de ácidos grasos, lo que requiere un monitoreo cercano de la concentración de

hidrógeno. Bajo una presión parcial de H_2 relativamente alta, la formación de acetato se reduce y el sustrato se convierte en ácido propiónico, ácido butírico y etanol en lugar de metano. Existe una relación simbiótica entre las bacterias acetogénicas y los metanógenos. Los metanógenos ayudan a lograr la baja tensión de hidrogeno requerida por las bacterias acetogénicas. Los métodos en línea para medir la concentración de AGV totales (ácidos grasos volátiles) e hidrógeno disuelto están disponibles y pueden servir como buenas herramientas de monitoreo para el funcionamiento de los procesos de digestión anaeróbica.

El etanol, el ácido propiónico y el ácido butírico se convierten en ácido acético mediante bacterias acetogénicas de acuerdo con las siguientes reacciones:



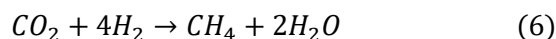
Metanógenos

Los metanógenos meticulosos ocurren naturalmente en sedimentos profundos o en el rumen de los herbívoros. Los microorganismos metanogénicos crecen lentamente en las aguas residuales y sus tiempos de generación varían desde 3 días a $35^\circ C$, hasta 50 días a $10^\circ C$.

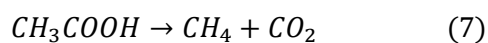
Los metanógenos usan un número limitado de sustratos que incluyen acetato, H_2 , CO_2 , metanol y metilaminas. Todos estos sustratos se reducen a metilCoM ($CH_3-S-CoM$), que se convierte en CH_4 mediante la reductasa de metilCoM.

Los metanógenos se subdividen en dos categorías:

- Los metanógenos hidrogenotróficos (es decir, los quimiolitotrofos que utilizan hidrógeno) convierten el hidrógeno y el dióxido de carbono en metano:



- Los metanógenos acetotróficos, también llamados metanógenos acetoclastos o de división de acetato, convierten el acetato en metano y CO_2 .



Los dos pasos naturales de las operaciones bioquímicas anaerobias que involucran la metanogénesis se describen en la Figura 6.

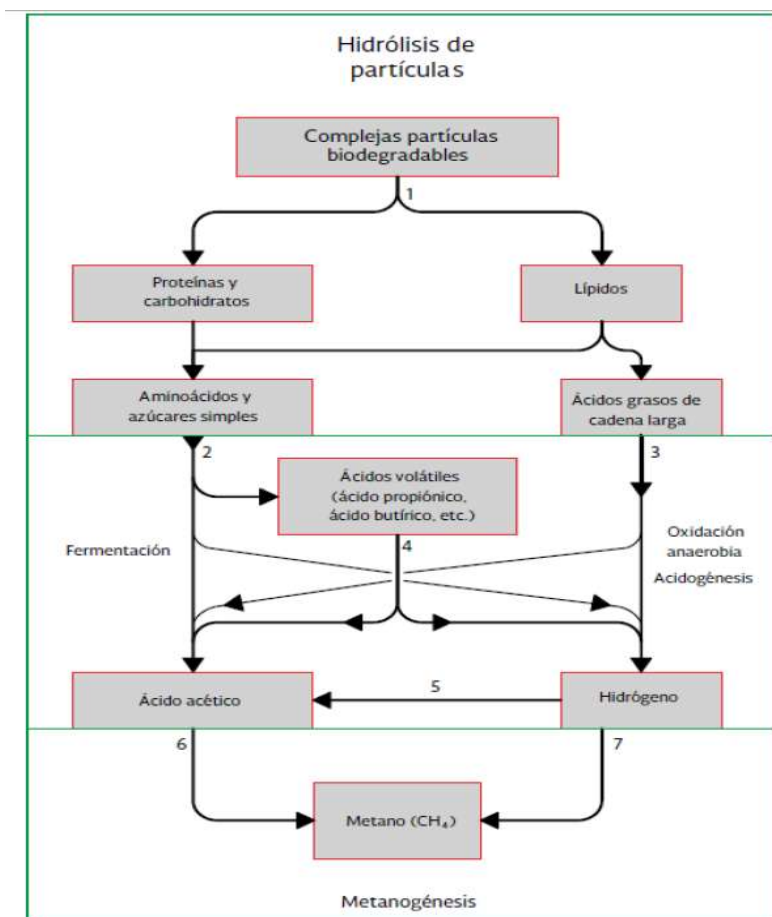


Figura 6. Etapas de la degradación de compuestos complejos en el proceso anaerobio (Grady et al., 2011).

1.1.5.2 Factores que controlan la digestión anaeróbica

Las bacterias metanogénicas, las cuales son responsables de la mayor parte de la estabilización de las aguas residuales en el tratamiento anaerobio, crecen lentamente en comparación a los microorganismos aerobios, por lo que requieren un tiempo mayor para ajustarse a los cambios en las cargas orgánicas, temperatura u otras condiciones ambientales. Por esta razón, es recomendable que el diseño y operación sean adecuados para alcanzar las condiciones ambientales óptimas a fin de obtener un tratamiento eficiente. Bajo condiciones normales el tratamiento anaerobio requiere un control mínimo (CONAGUA, 2015). Los factores ambientales más importantes para el control de los procesos anaerobios son: el tiempo de retención de sólidos, temperatura, alcalinidad, pH,

presencia de sustancias inhibitorias, biodisponibilidad de nutrientes, la composición química de las aguas residuales, la competencia de los metanógenos con las bacterias reductoras de sulfato, la presencia de sustancias tóxicas y metales traza (Bitton, 2005; Metcalf & Eddy, 2014).

Temperatura

La producción de metano se ha documentado en un amplio rango de temperaturas que oscilan entre 0 y 97°C. Aunque los metanógenos psicrófilos no se han aislado, las cepas termófilas que operan en un rango óptimo de 50-75°C ocurren en aguas termales.

En las plantas de tratamiento de aguas residuales municipales, la digestión anaeróbica se realiza en el rango mesófilo a temperaturas de 25°C hasta 40°C, con un nivel óptimo de aproximadamente 35°C. La digestión termófila opera en rangos de temperatura de 50-65°C. Permite mayores tasas de carga y también es propicio para una mayor destrucción de patógenos.

Tiempo de Retención Hidráulica

El tiempo de retención hidráulica (TRH), que depende de las características de las aguas residuales y de las condiciones ambientales, debe ser lo suficientemente largo como para permitir el metabolismo de los microorganismos anaeróbicos en los digestores. Los digestores basados en el crecimiento adjunto tienen una TRH más baja (1-10 días) que aquellos basados en el crecimiento disperso (10-60 días). Los tiempos de retención de los digestores mesófilos y termófilos varían entre 25 y 35 días, pero pueden ser más bajos.

pH

La mayoría de los metanógenos funcionan óptimamente en un rango de pH de 6.7-7.4, pero óptimamente en pH de 7.0-7.2, y el proceso puede fallar si el pH está cerca de 6.0. Las bacterias acidogénicas producen ácidos orgánicos que tienden a disminuir el pH del biorreactor. En condiciones normales, esta reducción de pH se regula mediante bicarbonato producido por metanógenos. Bajo condiciones ambientales adversas, la capacidad de amortiguación del sistema puede alterarse, lo que eventualmente detiene la producción de metano. La acidez es más inhibitoria para los metanógenos que para las bacterias acidogénicas. Un aumento en el nivel de ácidos volátiles, por lo tanto, sirve como un indicador temprano de alteración del sistema.

Las aplicaciones que se han reportado de configuraciones de reactores de biopelículas anaerobios son: el diseño de un reactor de flujo ascendente empacado con el residuo de la fabricación de coque (sílice y alúmina principalmente) en la fase inicial del crecimiento de la biopelícula, se alimentó con una tasa de carga orgánica volumétrica de $6 \text{ g DQO} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$, obteniendo eficiencias de remoción de 90%, posteriormente la eficiencia del reactor se deterioró repentinamente, los ácidos grasos volátiles (AGV'S) se acumularon en el efluente y la actividad metanogénica de la biopelícula disminuyó. Este fenómeno se debió a una limitación de micronutrientes, especialmente cobalto y níquel. Después de la complementación de una solución mineral, se restauró la actividad metanogénica óptima y la eliminación de DQO. Se requirió la suplementación de nutrientes para seguir aumentando la tasa de carga orgánica hasta que el reactor alcanzara una tasa de carga orgánica volumétrica de $20 \text{ g DQO} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{día}^{-1}$ con más del 90% de eficiencia de eliminación de carbono (Cresson et al., 2006); se realizó el diseño de un reactor anaerobio de flujo ascendente empacado con esferas del alcohol polivinílico, la configuración del sistema de tratamiento se dividió en dos reactores en serie, en el primero se logra la etapa acidogénica y en el segundo la metanogénica. La temperatura se mantuvo a $35 \pm 3^\circ\text{C}$, se alimentó con agua residual sintética con una relación DQO:N:P de 100:5:1 utilizando melaza como fuente de carbono. Se evaluaron los rendimientos del sistema general y los reactores individuales aplicando diferentes combinaciones de tiempos de retención hidráulico, mostrando que 36 horas fue el tiempo ideal para el reactor acetogénico (Pandey & Sarkar, 2017).

1.1.6 Tipos de bombas

Las bombas son máquinas en las cuales se produce una transformación de la energía mecánica en energía hidráulica (velocidad y presión) comunicada al fluido que circula por ellas.

Atendiendo al principio de funcionamiento, pueden clasificarse en los siguientes grupos:

- Bombas de desplazamiento positivo o volumétricas
- Turbobombas
- Bombas sumergibles
- Bombas de diafragma

Bombas de desplazamiento positivo

En ellas se cede energía de presión al fluido mediante volúmenes confinados. Se produce un llenado y vaciado periódico desde una serie de cámaras, produciéndose el trasiego de cantidades discretas del fluido desde la aspiración hasta la impulsión. Pueden a su vez subdividirse en alternativas y rotativas. Dentro del primer grupo se encuentran las bombas de pistones y émbolos, al segundo pertenecen las bombas de engranajes, tornillo, lóbulos y paletas.

Turbobombas

La turbobomba es una máquina hidráulica que cede energía al fluido mediante la variación del momento cinético producido en el impulsor o rodete. Atendiendo a la dirección del flujo a la salida del impulsor, pueden clasificarse en:

- Centrífugas: el flujo a la salida del impulsor tiene dirección perpendicular al eje (flujo radial).
- Axiales: dirección de la salida del flujo es paralela al eje (flujo axial).
- Helicocentrífugas: el flujo es intermedio entre radial y axial (flujo mixto).

La forma del impulsor y de la carcasa son variables según el tipo de bomba centrífuga. En las bombas de flujo radial el líquido entra axialmente en el impulsor por la boquilla de aspiración y se descarga radialmente hacia la carcasa. En las bombas de flujo mixto el líquido entra axialmente en el impulsor y se descarga en una dirección entre la radial y la axial. En las bombas de flujo axial el líquido entra y sale del impulsor axialmente.

Bombas sumergibles

Como su nombre lo indica, motor y bomba se encuentran bajo la superficie libre del líquido. Suponen una solución para el bombeo en el caso de instalaciones con poco NPSH (*Net positive suction Head*) disponible o alturas de aspiración excesivamente elevadas.

Bombas de diafragma

También conocida como bomba de membrana, el aumento de la presión se realiza por el empuje de una pared elástica (membrana o diafragma), que varía el volumen de la cámara, aumentándolo o disminuyéndolo alternativamente. Las válvulas de retención controlan que el movimiento del fluido se realice de la zona de menor presión a la de mayor presión.

Estas bomba no poseen cierres mecánicos ni empaquetaduras ya que son las principales causas de roturas en condiciones de trabajo severas, debido a la resistencia a la corrosión y a no ser necesario purgarlas para que funcionen, son utilizadas en las industrias para el movimiento de prácticamente cualquier líquido. Su principal uso es en la dosificación.

A partir de la revisión bibliográfica que se presentó anteriormente, se determina que los procesos de tratamiento de aguas residuales más utilizados en México no toman en cuenta la viabilidad técnica y económica para su correcto funcionamiento. Así mismo el sistema de filtros biológicos que es donde entran los procesos de biopelícula no se ha explotado a pesar del potencial que tienen.

Por lo anterior se propone un reactor de biopelículas con un soporte diseñado especialmente para tener una configuración donde la dinámica de flujo evite el arrastre y lavado de la biopelícula, dicho reactor tendrá un tiempo de retención hidráulico específico para poder realizar la reacción de acetogénesis, evitando la producción de biogás.

1.2 Justificación

Los esfuerzos por implementar novedosos sistemas de tratamiento son insuficientes cuando se ven rebasados por las dificultades técnicas y costos operativos. El presente trabajo propone implementar un sistema de un reactor de anaerobio de lecho fijo con un soporte impreso en 3D, que sea eficiente y funcional, para brindar una etapa de remoción de altas cargas orgánicas previo al proceso de tratamiento y de esta manera generar condiciones estables de operación que permitan cumplir con la normatividad vigente, y disminuir los costos energéticos y operativos.

1.3 Planteamiento del problema

Cuando las aguas residuales con altas cargas orgánicas son tratadas por los métodos convencionales de lodos activados o cualquier sistema biológico que no esté diseñado para estas cargas, se generan problemas operativos en los reactores biológicos por la desestabilización e inactivación de la biomasa encargada de depurar el agua, además de que se presenta la dificultad para la separación de esta. Una propuesta de solución para la problemática anteriormente expuesta es desarrollar un sistema de tratamiento que sea capaz de soportar altas cargas orgánicas, variaciones en la concentración de los contaminantes y capacidad de mantener la concentración de biomasa independientemente del tipo de alimentación (continua o intermitente), para disminuir los problemas operativos por esta causa.

1.4 Hipótesis

La aplicación de mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*) como anclaje de biopelículas en estructuras 3D base ácido poliláctico permitirá encontrar las mejores condiciones para generar un sistema experimental para ser utilizado en el tratamiento de aguas residuales con alta carga orgánica.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Diseñar un sistema experimental que permita evaluar la remoción de la carga orgánica presente en el agua residual mediante el depósito de bacterias en soportes impresos en 3D, aplicando mucílago de nopal, en un reactor anaerobio de lecho empacado.

1.5.2 Objetivos específicos

- Construir un reactor tipo pistón con alimentación en flujo ascendente.
- Generar un soporte impreso en 3D base ácido poliláctico.
- Evaluar el mucilago de nopal como adhesivo de las bacterias para la formación de una biopelícula en un soporte impreso en 3D.
- Generar un soporte impreso en 3D con adhesión de biopelículas de bacterias anaerobias.

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1 Diseño y construcción del reactor

La construcción del reactor se realizó de forma rectangular con dimensiones de 14 x 14 cm de base y altura de 50 cm, con un volumen efectivo de 7.8 litros, en material de acrílico de 6 mm de espesor, la alimentación del reactor está ubicada en una de las paredes a 2 cm de altura de la base del reactor, la descarga se encuentra situada en la pared opuesta a la alimentación a 46 cm de altura, en el interior del reactor se habilitó una placa perforada para homogeneizar el flujo a 5 cm altura.

2.2 Diseño e impresión 3D del soporte

En la Figura 7 se muestra el diagrama de flujo para el diseño e impresión del soporte 3D; para el diseño se utilizó el software SolidWorks®, y la impresión de la estructura se realizó en una impresora 3D marca Ender modelo 1000 con condiciones de trabajo de 200°C para fundición del filamento de ácido poliláctico (PLA) transparente, de 1.75 mm de diámetro.

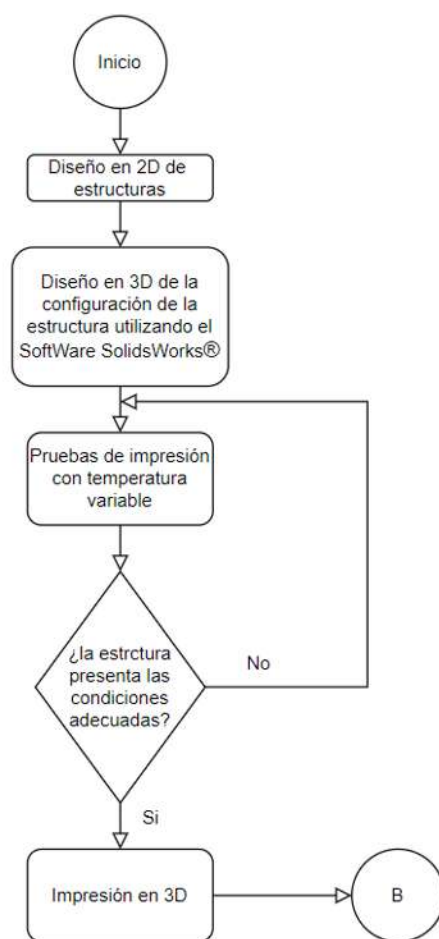


Figura 7. Diagrama de flujo de la metodología utilizada para el diseño e impresión 3D del soporte.

2.3 Evaluación del mucílago de nopal como adherente.

En la adhesión de los microorganismos anaerobios se utilizó como precursor el mucílago de nopal (*Opuntia ficus indica*).

2.3.1 Extracción de mucílago de nopal

Para la extracción del mucílago se utilizó nopal de la variedad *Opuntia ficus indica* tipo nopal verdura, en la Figura 8 se muestra el diagrama de flujo utilizado para la metodología planteada, la cual se realizó mediante un proceso que consistió en las siguientes etapas: a) el nopal troceado se molió a 5400 rpm durante 1 minuto en una licuadora marca Oster modelo 2114099; b) el producto de la molienda se filtró a un vacío de 0.2 atm, en un embudo buchner y matraz kitasato, en una malla Tyler 50 de acero inoxidable, de donde se obtuvo el filtrado de mucílago.

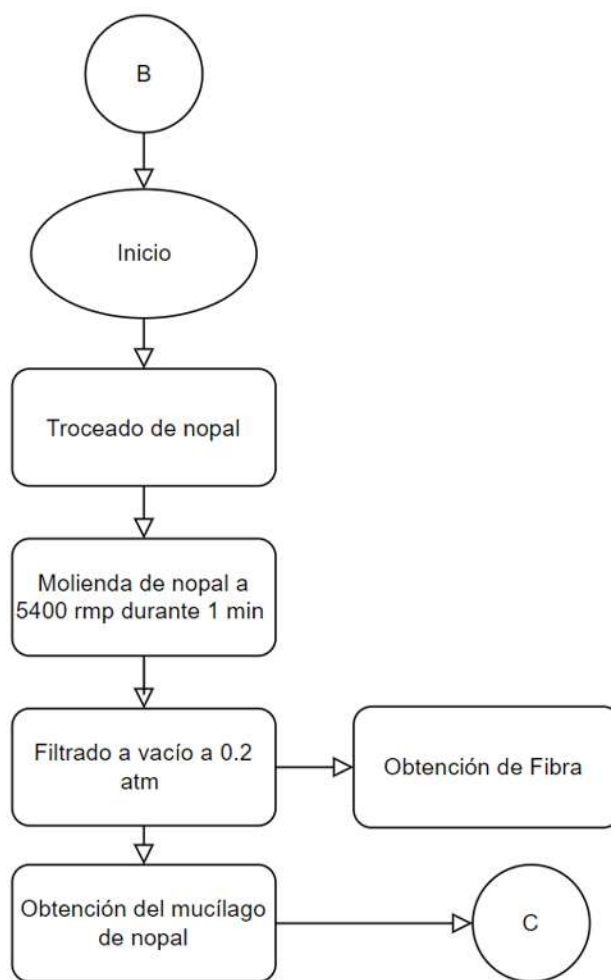


Figura 8. Diagrama de flujo utilizado para la extracción de mucílago de nopal.

2.3.2 Caracterización de mucílago de nopal

El mucílago se caracterizó mediante las pruebas de: Demanda Química de Oxígeno, Fosforo Total, Nitrógeno Total, pH, Conductividad, y grados brix.

2.3.3 Inmersión de los soportes 3D en mucílago de nopal

Se realizó un proceso de inmersión a los soportes impresos en 3D en mucílago de nopal, siguiendo la metodología mostrada en el del diagrama de flujo (Figura 9), con diferentes tiempos de contacto (tiempo 0, 2, 4, 8, 16, 24 horas respectivamente); el exceso de mucílago fue retirado por escurrimiento, y posteriormente la estructura 3D con el mucílago adherido se sometió a secado a 40°C durante 24 horas, y la adherencia del se evaluó a través de la diferencia de peso y su presencia se confirmó con la toma de micrografías; este proceso se realizó por triplicado (a, b y c).

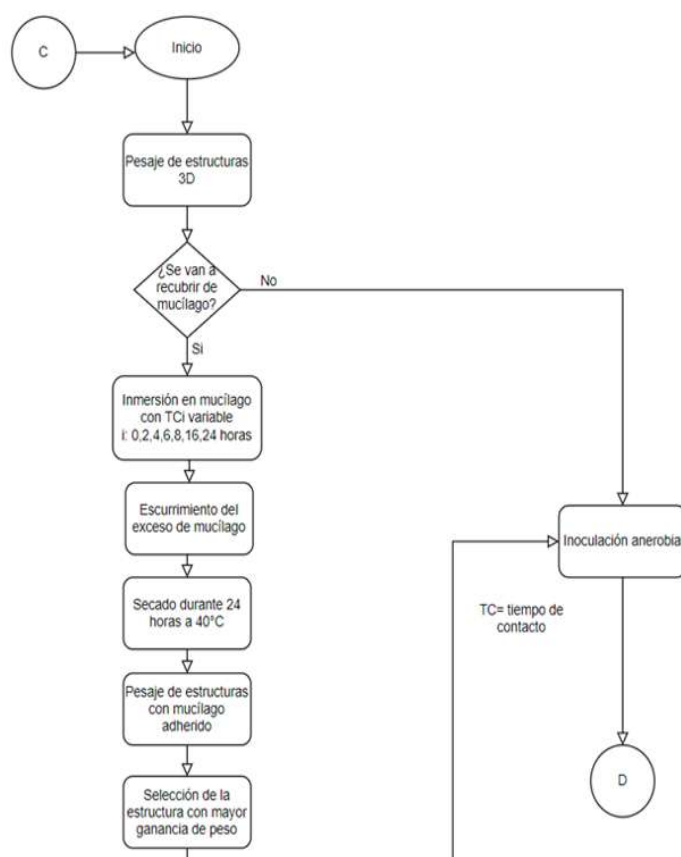


Figura 9. Diagrama de flujo utilizado para la inmersión de estructuras 3D en mucílago de nopal.

2.4 Inoculación de los soportes con bacterias anaerobias

2.4.1 Caracterización de inóculo anaerobio

El inóculo utilizado para las pruebas fue recolectado de un reactor anaerobio de la planta de tratamiento de aguas residuales de la empresa GEA AMBIENTAL, ubicada en la ciudad de Morelia, Michoacán latitud 19.675361, longitud -101.215463, y su caracterización se determinó mediante las pruebas de relación alfa, pH, Demanda Química de Oxígeno, fósforo total, sólidos en todas sus formas y ácidos grasos volátiles.

Tabla 1. Métodos utilizados para los parámetros cuantificados en la metodología.

Parámetro	Método/Norma
Ácidos grasos volátiles	Método 8196 HACH
Alcalinidad	NMX-AA-036-SCFI-2001
Conductividad	NMX-AA-093-SCFI-200
Demanda química de oxígeno	Método 8000 HACH
Fosforo	Método 10127 HACH
Grados Brix	Método refractométrico
Nitrógeno	Método 10242 HACH
pH	NMX-AA-005-SCFI-2011
Relación alfa	Método potenciométrico
Sólidos Totales	NMX-AA-034-SCFI-2015
Temperatura	NMX-AA-007-SCFI-2001

2.4.2 Enriquecimiento de inóculo anaerobio

Debido a que la concentración de los parámetros de alcalinidad y relación alfa (α) se encontraron por debajo de los valores recomendados (Khanal, 2008) se procedió a realizar el enriquecimiento del inóculo (Figura 10) alimentando estiércol de cerdo a una concentración de $650 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ cada 15 días durante los primeros 50 días, posteriormente se incrementó la frecuencia de alimentación a cada 8 días durante los últimos 70 días de la prueba, el seguimiento de la evolución de la calidad del inóculo se realizó con las pruebas de alcalinidad, pH, relación α y ácidos grasos volátiles con una frecuencia de 72 horas.

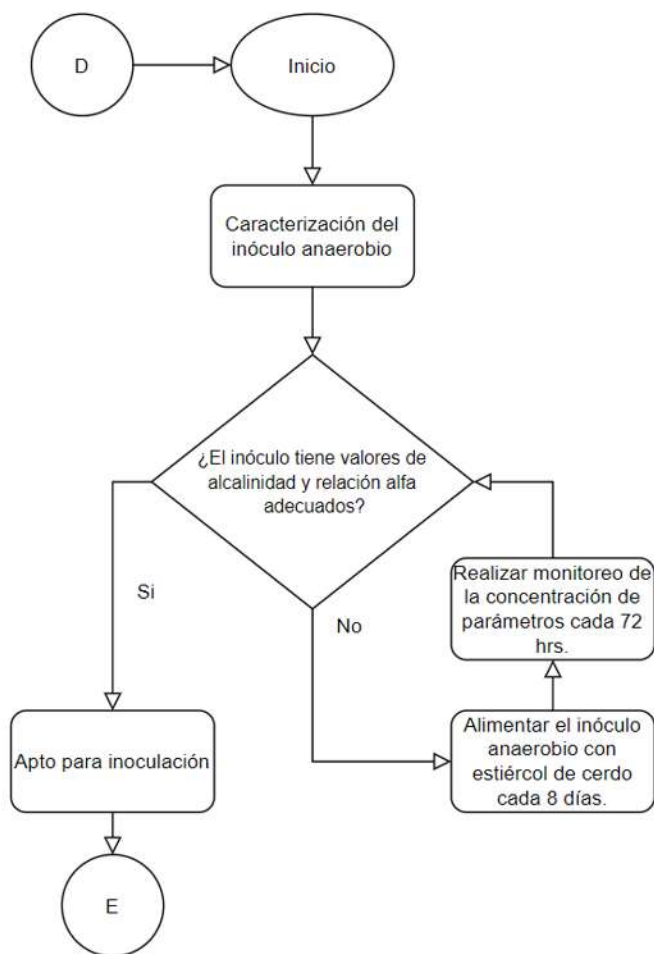


Figura 10. Diagrama de flujo utilizado para caracterización y enriquecimiento del inóculo anaerobio

2.4.3 Adhesión de bacterias anaerobias a soportes 3D

La adhesión de las bacterias anaerobias a los soportes 3D se estableció mediante la metodología planteada en el diagrama de flujo que se observa en la Figura 11, para lo cual se utilizaron cuatro contenedores de 1.2 litros, con 1000 mililitros de lodo anaerobio enriquecido, en donde se colocaron 12 muestras del soporte 3D en cada uno; con el fin de evaluar el efecto de alimentar los consorcios microbianos durante la prueba a dos contenedores se les alimentó con 200 mL de estiércol de cerdo con frecuencia de cada 8 días, mientras que a los otros dos contenedores no se les agregó estiércol. A uno de los contenedores de inóculo con alimentación de estiércol, se le agregaron muestras de soporte 3D con mucílago (CMCA) y al otro se le agregaron soportes 3D sin mucílago (SMCA). A uno de los contenedores sin alimentación de estiércol, se le agregaron soportes 3D con

mucílago (CMSA) y al otro se le agregaron soportes 3D sin mucílago (SMSA). Para determinar el tiempo óptimo de formación de la biopelícula a temperatura controlada de 25 °C, se extrajeron 2 soportes de cada uno de los contenedores a los 1, 2, 4, 8, 16 y 32 días posteriores a la inmersión. A los soportes extraídos, se les realizó un proceso de secado a 25°C durante 24 horas, para posteriormente evaluar el crecimiento de la biopelícula por el método de diferencia de peso, e imágenes obtenidas en un microscopio óptico modelo DM125 (100-240V 50/60Hz) con lámpara S-Led W1. De las estructuras obtenidas se seleccionó la que presentó mayor ganancia de peso por considerarse que tuvo la mayor formación de película.

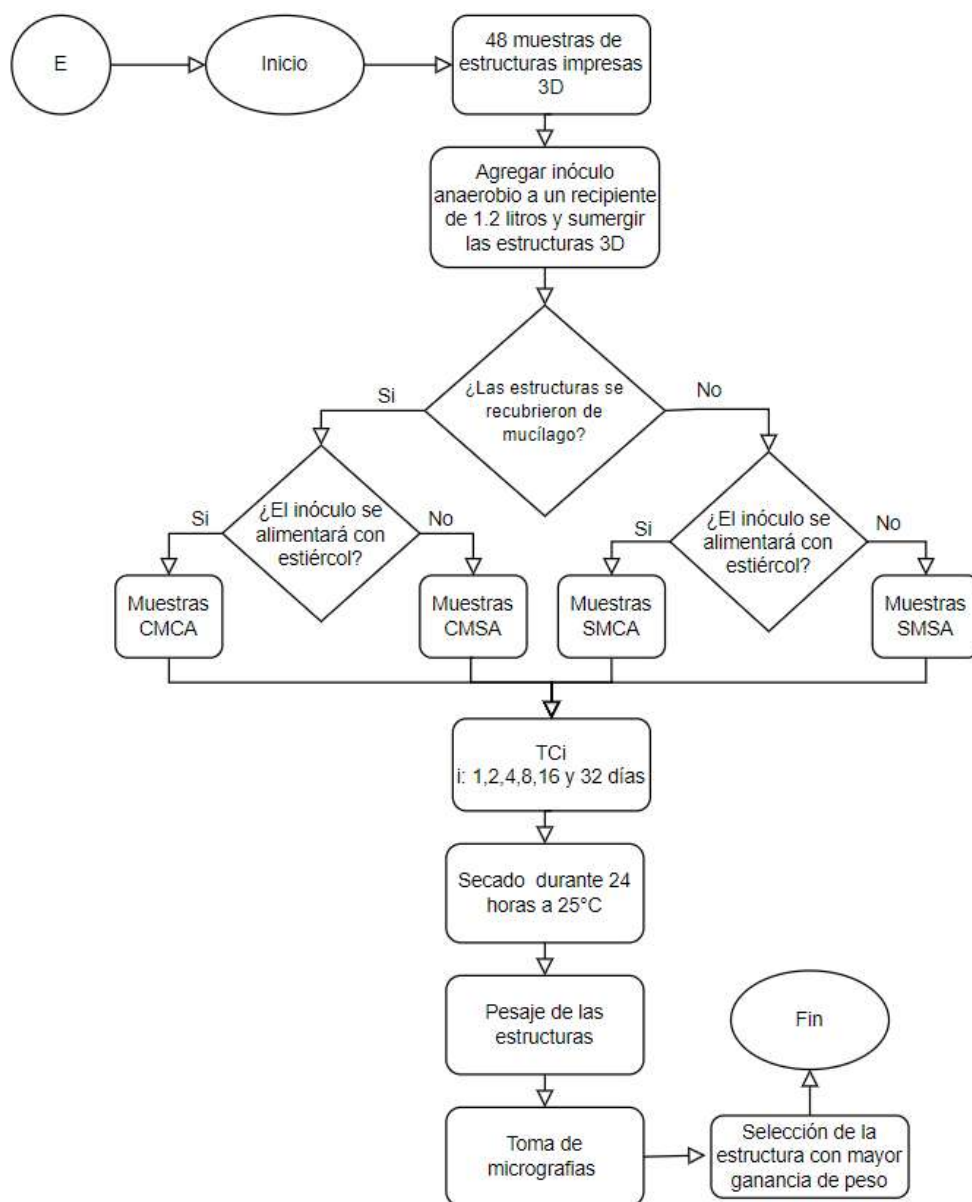


Figura 11. Diagrama de flujo utilizado para la inoculación de microorganismos anaerobios en estructuras 3D.

2.5 Caracterización de bomba de pulsos

La alimentación al sistema propuesto se realizará por medio de una bomba de pulsos de marca de la bomba es LMI Milton Roy con especificaciones de trabajo de 120 V ac. 50/60 Hz, 1.4 A, modelo #P141-358TI, serial #11113280948-15 y caudal máximo de $2.19 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ y una presión de 250 psi; para la evaluación de la dinámica de flujo se realizó la caracterización del caudal que entrega, en función de su velocidad de pulsos y strock (fuerza de pulsos).

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Diseño y construcción del reactor

En la Figura 12 se muestra el diseño realizado para la construcción del reactor, el cual cuenta con las siguientes dimensiones, base cuadrada de 14 cm, altura de 50 cm, volumen total de 8.45 L con volumen efectivo de 7.77 L.

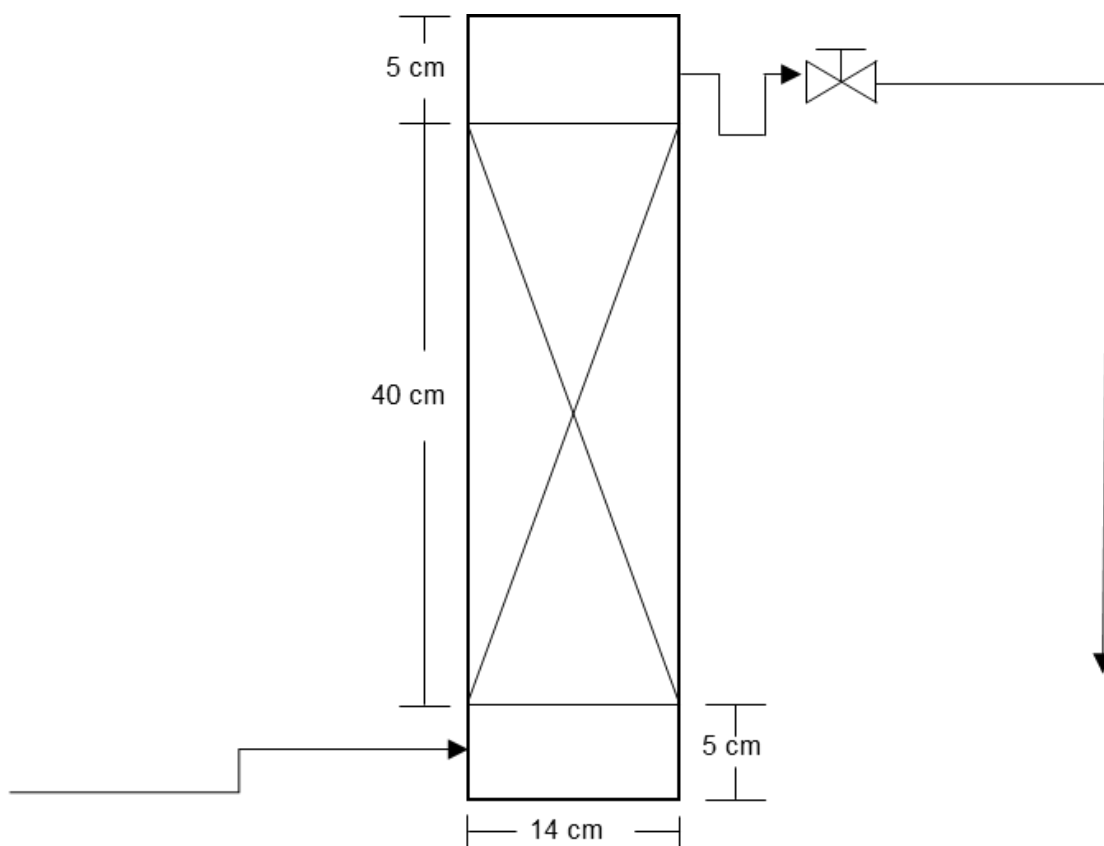


Figura 12. Diagrama de diseño de Reactor

En la Figura 13 se muestra el reactor construido con acrílico, en donde se observa la alimentación que se encuentra ubicada a 2 cm de la base; a 5 cm de altura se encuentra una placa difusora con 16 orificios de 3/8 pulgada (0.952 cm) de diámetro, distribuidos en forma cuadrada, con 1 pulgada de separación entre ellos. A los 46 cm de altura se encuentra la salida del efluente tratado, el cual está conectado a una trampa de gases.



Figura 13. Reactor de acrílico de base cuadrada.

3.2 Diseño e impresión 3D del soporte

De las pruebas de impresión en 3D realizadas, se obtuvo una impresión de 12.5 cm x 12.5 cm (Figura 14), con las siguientes características: tiene forma cuadriculada con claros de 1 cm² y ejes de 0.5 cm de espesor, la cuadrícula en los diferentes niveles se encuentra desfasada 1/3 parte de manera horizontal y vertical respecto a la capa inferior, esto con el fin de evitar corrientes en corto circuito (Figura 15); la estructura impresa individual, cuenta con 0.5 cm de espesor en la base, altura de los postes es de 1.3 cm, de los cuales 0.3 cm fungen como pivote de ensamble con la capa superior (Figura 16).

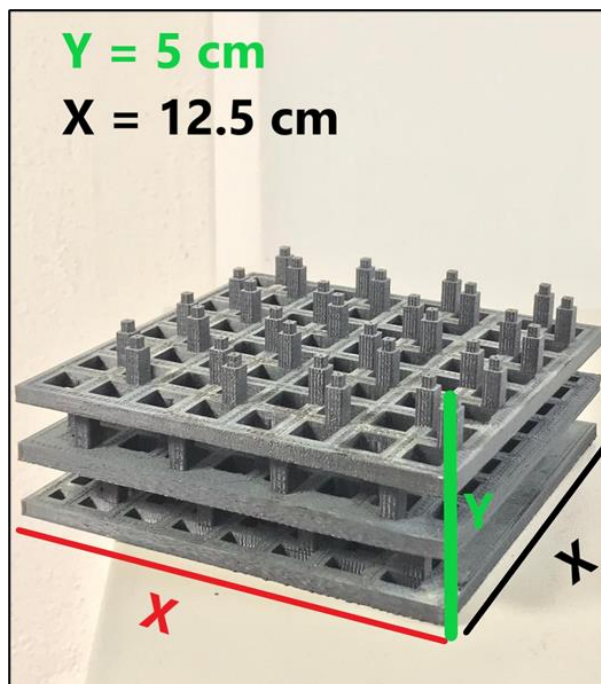


Figura 14. Vista superior de las estructuras impresas en 3D.

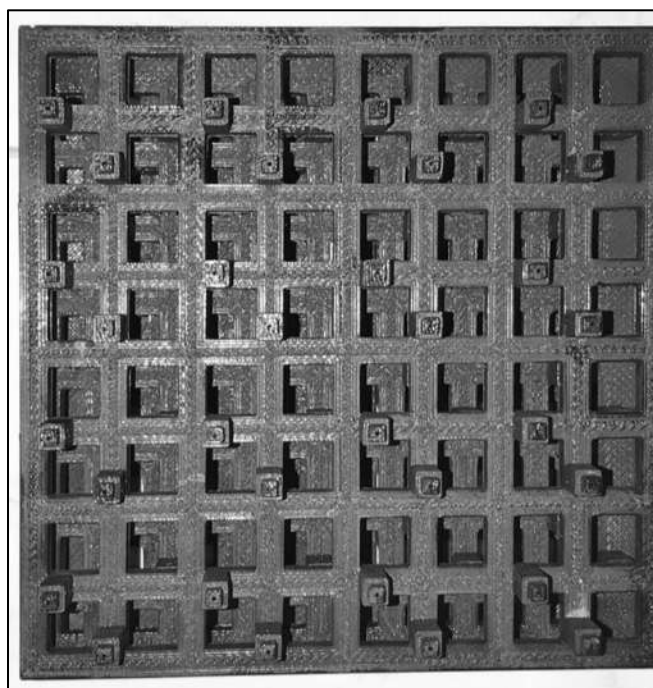


Figura 15. Vista en planta de la estructura impresa en 3D.

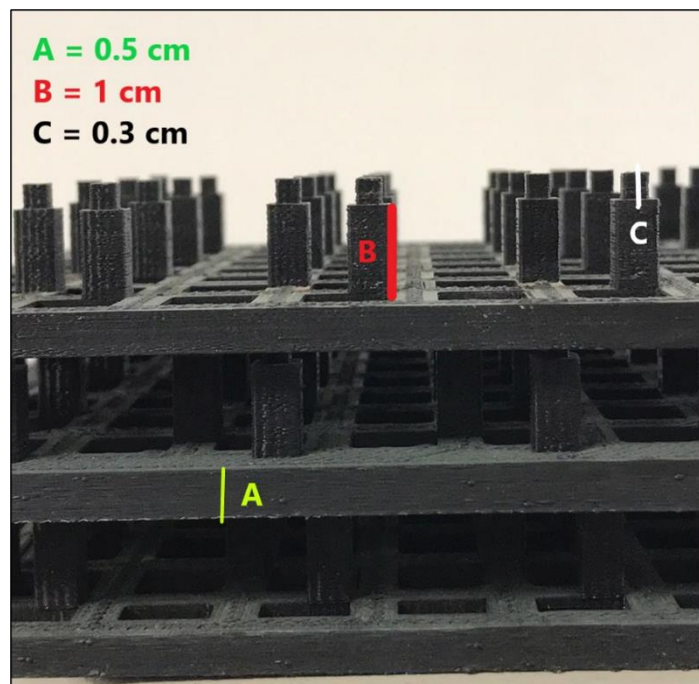


Figura 16. Vista frontal de las estructuras impresas en 3D.

3.3 Evaluación del mucílago de nopal como adherente

3.3.1 Extracción y caracterización del mucílago de nopal

En la Figura 16 se muestran los resultados del proceso de extracción del mucílago de Nopal, en el cual se obtuvo el rendimiento de 450 ml de mucílago por cada kg de nopal. Los resultados de la caracterización del mucílago se muestran en la Tabla 2, en la cual se observa que el mucílago tiene un pH ácido (5.2) que favorece la segregación de polímeros (PHA'S y PHB'S) por parte de los microorganismos, grados brix de 1.5% que indican la presencia de azúcares, lo cual concuerda con lo reportado por (Orozco Silvas, 2017), que menciona que el mucílago contiene el polisacárido compuesto por arabinosa, galactosa, xilosa, ramnosa, y ácido galacturónico; en lo que respecta al contenido de materia orgánica medida como DQO ($17,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Nitrógeno medido como Nitrógeno total ($200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y Fosforo medido como Fosforo Total ($222 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), se presentó una deficiencia de Nitrógeno con respecto a la relación recomendada por (Pandey & Sarkar, 2017), para que los microorganismos anaerobios realicen sus funciones metabólicas.



Figura 17. Proceso de extracción de mucílago de nopal

Tabla 2. Resultados de los parámetros caracterizados en el mucílago de nopal.

Parámetro	Valor
Temperatura	20°C
pH	5.29
Grados brix	1.5%
Demanda química de oxígeno	17,000 mg·L ⁻¹
Nitrógeno total	200 mg·L ⁻¹
Fosforo Total	222 mg·L ⁻¹

3.3.2 Inmersión de los soportes 3D a mucílago de nopal

En la Figura 18 se observa que en términos generales la ganancia de peso por adhesión del mucílago se va incrementando conforme aumenta el tiempo de inmersión, para la inmersión rápida se obtuvo una ganancia promedio de 0.01 gramos, y para 2, 4, 8, 16 y 24 fue de 0.02, 0.021, 0.018, 0.024 y 0.036 respectivamente.

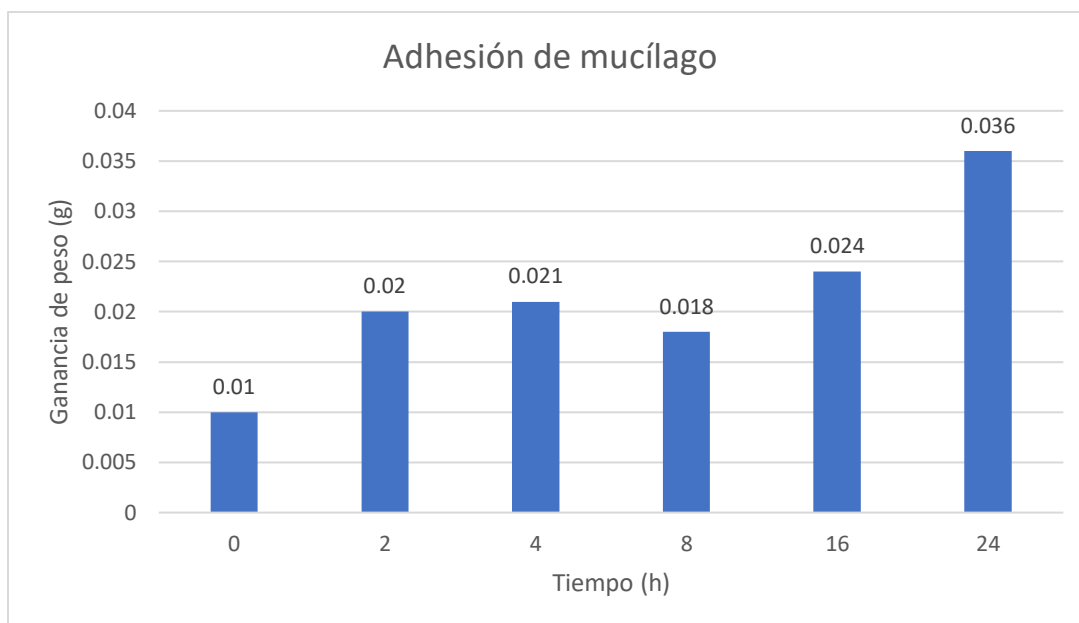


Figura 18. Ganancia de peso en la adhesión de mucílago.

En la Figura 19 se muestra una fotografía de las estructuras 3D con el mucílago adherido, en ellas se observa un color verdoso que corresponde a la clorofila que se queda atrapada en la capa de mucílago, también se observa un incremento en la tonalidad en las zonas más rugosas (Figura 20) de la estructura 3D condición que hace inferir que estos puntos pueden promover el anclaje del mucílago. Para caso de la muestra B no se observa la coloración verdosa se presenta una textura cristalina característico del mucílago libre de clorofila.

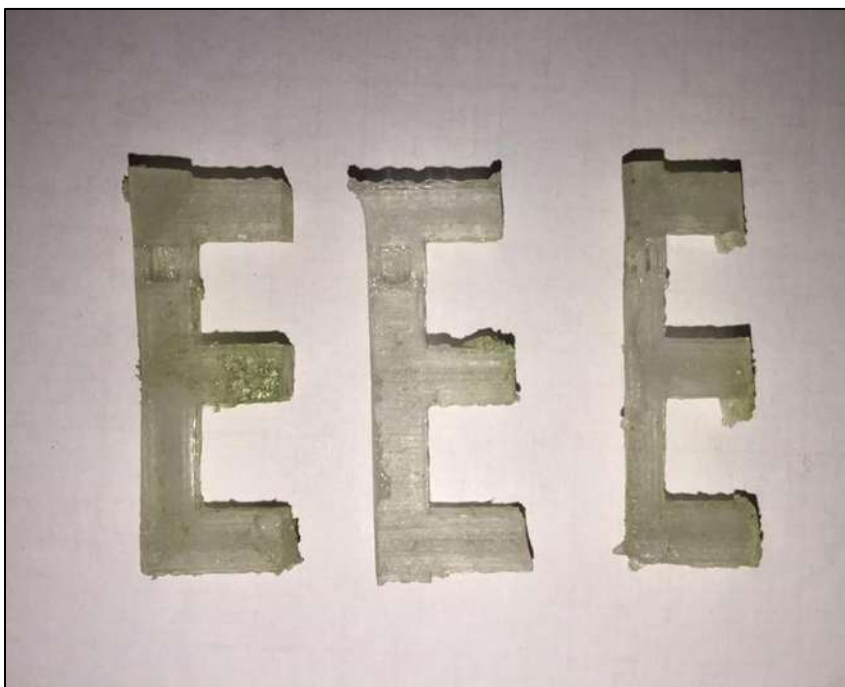


Figura 19. Ilustración de las pruebas de inmersión en mucílago al tiempo Contacto.

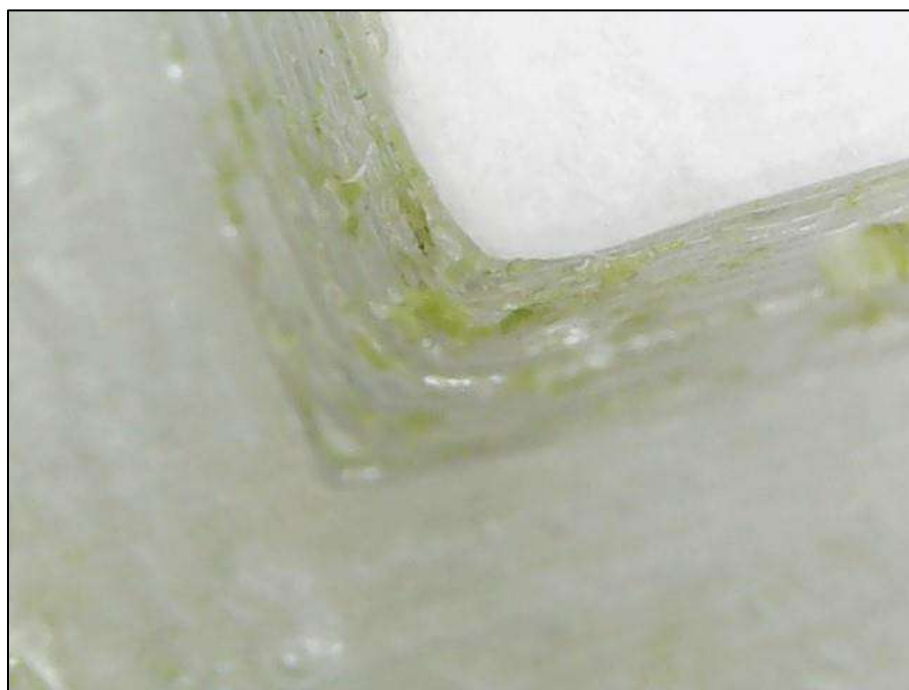


Figura 20. Micrografía de la estructura 3D en la prueba de inmersión en mucílago al tiempo Contacto.

3.4 Inoculación de los soportes con bacterias anaerobias

3.4.1 Caracterización de inóculo anaerobio

En la Tabla 3 se muestran los resultados de la caracterización realizada al inóculo anaerobio, en la cual se observa que el valor de la relación α es de 0.2 y la alcalinidad es de $900 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, valores que se encuentran por debajo de lo recomendado por (Pérez & Torres, 2008) e indican que el lodo no cuenta con capacidad buffer, por lo que se procedió al enriquecimiento de este; como lo reportan (Álvarez et al., 2013) el funcionamiento de un biorreactor está determinado por el inóculo utilizado durante su arranque, alimentando estiércol de cerdo y dejándolo en adaptación durante 15 días, posterior a este lapso se comenzaron a realizar el monitoreo de los parámetros.

Tabla 3 Resultados de la caracterización previa en inóculo anaerobio

Parámetro	Valor
Relación alfa	0.2
Alcalinidad	$900 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

3.4.2 Enriquecimiento de inóculo anaerobio

En la Figura 21 se muestra que durante los primeros 30 días el pH se mantuvo en valores superiores a 6.5 que es el mínimo recomendado, entre el día 30 y 50 se presentó disminución del pH por debajo del valor de 6.5, lo cual es atribuible a la actividad microbiana del lodo especialmente en la fase acidogénica, por lo que en este periodo se inició la adición de Ca(OH)_2 con el fin de neutralizar los AGV's formados, entre el día 50 y el día 60 se presentó incremento en el pH hasta alcanzar valores de 6.8; sin embargo, a partir del día 60 y hasta el día 90 se presentó disminución del pH hasta 6.1 por efecto del cambio del estiércol de cerdo alimentado, por lo que fue necesario esperar la adaptación del inóculo al nuevo estiércol, a partir del día 111 se tuvo un pH mayor a 6.5.

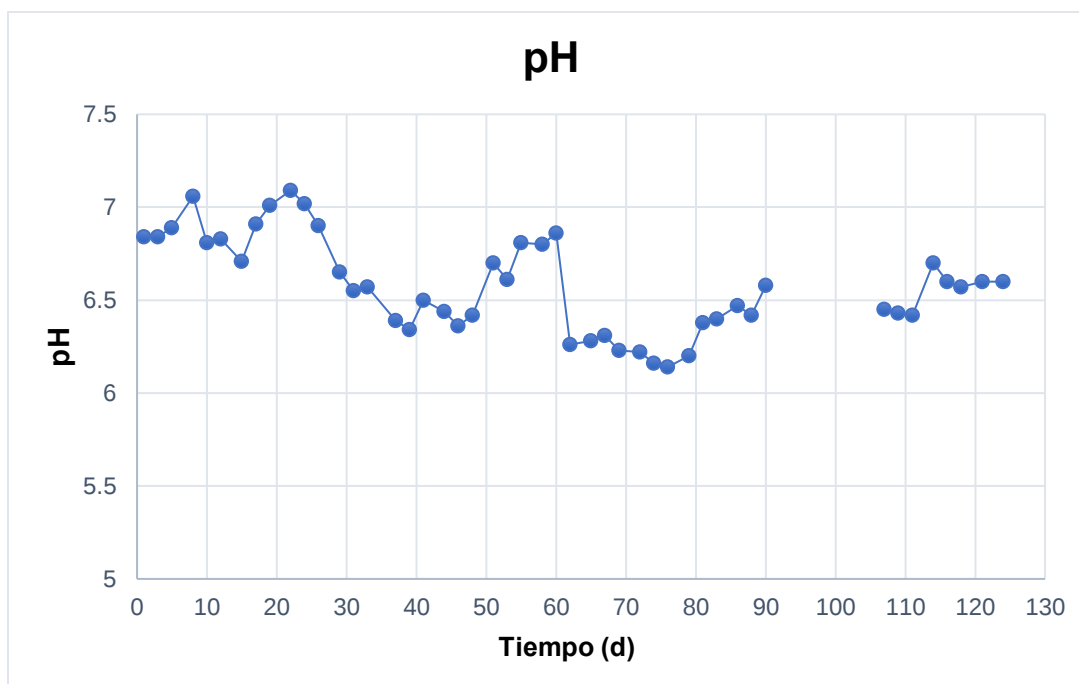


Figura 21. Valores de la concentración de pH durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.

En la Figura 22 se muestran los valores obtenidos durante el seguimiento al parámetro de la alcalinidad en el proceso de enriquecimiento del inóculo anaerobio, en el día 1 se obtuvo un valor de $35,000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, de manera inmediata este valor descendió en el día 5 hasta los $17,000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. Autores como (Raposo et al., 2006) han reportado que los valores deseables de alcalinidad se mantienen por encima de los $9,000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, siempre y cuando las variaciones de estos valores no sean repentinas. En el día 8 la concentración de la alcalinidad se elevó y se mantuvo estable en un rango de $26,000 - 30,000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ durante 11 días. En el día 33 la alcalinidad disminuyó hasta una concentración de $9,900 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, la cual sigue en un valor deseable sin embargo la variación de una medición anterior que se encontraba en los $36,000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, refleja un inóculo inestable. Durante 20 posteriores la concentración de la alcalinidad tuvo variaciones superiores a los $10,000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$. Para tratar de disminuir estas variaciones abruptas se adiciono $\text{Ca}(\text{OH})_2$ como lo sugiere (Cajigas et al., 2005) y como resultado se obtuvo una elevación en la concentración de la alcalinidad la cual llegó a $56,000 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, 14 días transcurrieron para que disminuyera la alcalinidad a concentraciones reportadas anteriormente. Finalmente se obtuvo una estabilización en los

últimos 17 días de la prueba donde las variaciones de la concentración de alcalinidad no superaron una variación mayor a 2,000 mg CaCO₃·L⁻¹ entre prueba.

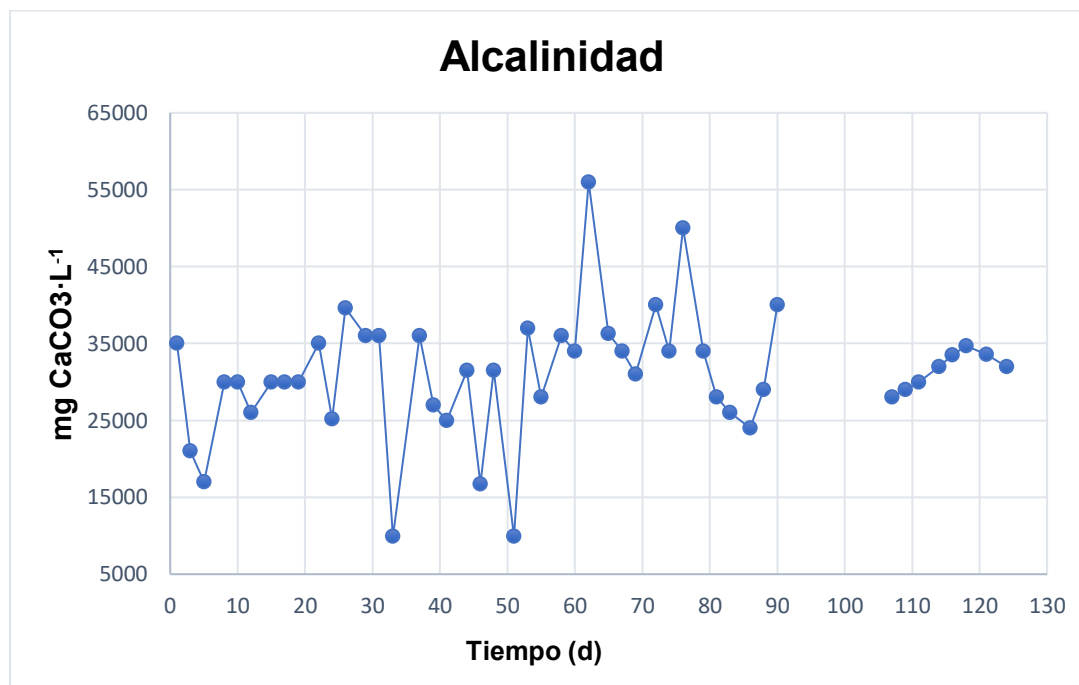


Figura 22. Valores de la concentración de la alcalinidad durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.

En la Figura 23 se muestra que los valores de la relación α durante el seguimiento realizado al enriquecimiento del inóculo anaerobio presentaron un comportamiento cíclico de incremento y disminución en los intervalos de 0.41 a 0.58 durante 80 días, posteriormente se observa una tendencia de estabilización e incremento en la relación α debido a que la variación en los valores no es apreciable por la proximidad que hay entre estos, a partir del día 108 se obtuvieron valores mayores a 0.5 a pesar de que no se alimentó el inóculo durante los días 90 al 108, este efecto puede ser atribuible a que las fases hidrolíticas y acidogénicas disminuyeron por la falta de materia orgánica y se incrementó la actividad microbiana en las fases acetogénica y metanogénica. De las variaciones de la relación α observadas se presentaron periodos en los cuales este valor es inferior al 0.5 reportado por (Padilla, 2010).

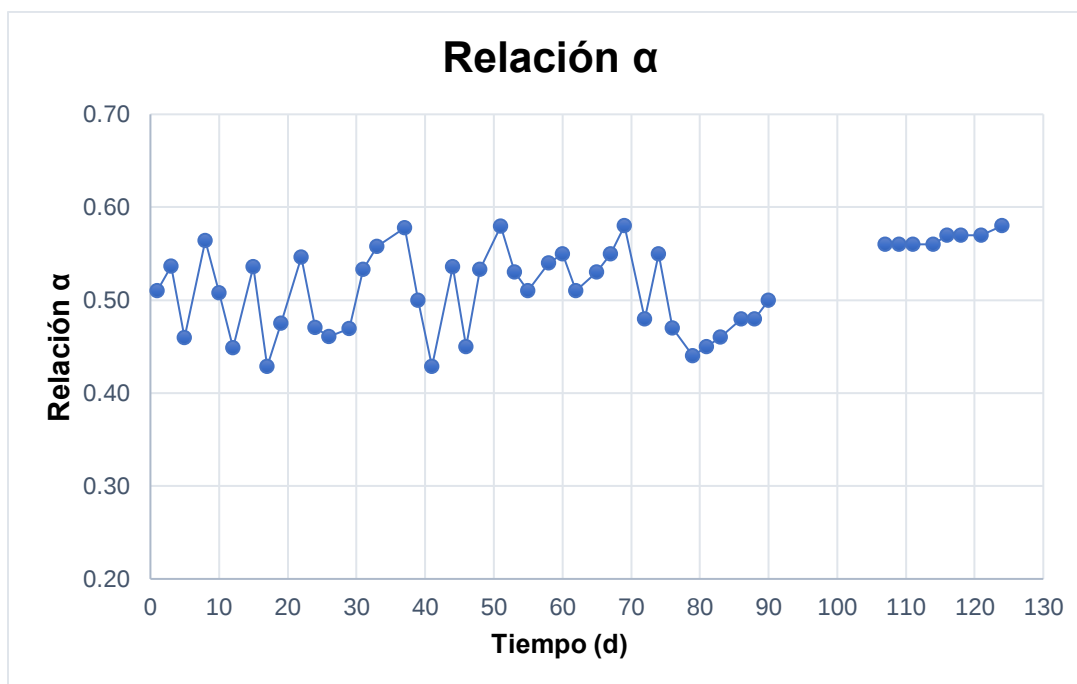


Figura 23. Valores de la relación alfa durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.

En la Figura 24 se muestran los valores de la variación de la concentración de ácidos grasos volátiles (AGV'S) durante el enriquecimiento del inóculo anaerobio autores han reportado concentraciones máximas de producción de ácido acético de $450 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, mencionando que las concentraciones deseables se encuentran entre 50 y $250 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Padilla, 2010) sin embargo, existen autores que reportan valores de concentración de ácido butírico por encima de los $4,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Zhao et al., 2010). Cabe resaltar que las concentraciones reportadas de alcalinidad no superan los $2,300 \text{ mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$. La concentración mínima de ácidos grasos volátiles es de $10,000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, lo cual no se ha reportado en literatura, así mismo obtuvimos valores de concentraciones de alcalinidad con una media de $31,252 \text{ mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$ (Figura 22). Por otro lado (Khanal, 2008) reporta una relación con la cual se puede evaluar la estabilidad de un proceso anaerobio, dicha relación la llama AGV's/ALC con un valor deseable entre 0.1 a 0.3.



Figura 24. Valores de la concentración de AGV'S durante el seguimiento del enriquecimiento del inóculo.

Al observar las Figuras 21, 22, 23 y 24 , durante los últimos 15 días de la prueba podemos concluir que se obtuvo un inóculo anaerobio estabilizado por las pocas variaciones que se reportaron en los parámetros analizados.

3.4.3 Adhesión bacterias anaerobias a soportes 3D

En la Figura 25 se muestra el crecimiento de la biopelícula cuando se utiliza el mucílago de nopal y se alimenta el inóculo con estiércol, en la cual se observó que en el primer día de inmersión de la estructura 3D hubo un crecimiento de la biopelícula al depositarse 0.09 gramos en promedio, lo cual es atribuible a que la los microorganismos en estado planctónico (acuoso) presentaron la fase de adhesión reversible, efecto que se observa en los resultados del día 2 donde el promedio de peso disminuyó a 0.07 gramos de biopelícula, donde los microorganismos cambiaron de su estado sésil (adheridos a una superficie) por un estado planctónico; a partir del día 4 se observó un crecimiento de la biopelícula por adhesión irreversible de los microorganismos en la cual se produce la matriz polimérica extracelular (PHA's y PHB's) que sirve para el anclaje y cumulo de más

microorganismos en estado planctónico y generar la maduración de la biopelícula. El grado de acumulación de la biopelícula con respecto a los días 4, 8, 16 y 32 fue de 0.09, 0.21, 0.22 y 0.25 gramos respectivamente; la utilización de mucílago como pretratamiento de la estructura 3D y la alimentación del inóculo, generaron un efecto positivo en la adhesión y crecimiento de la biopelícula, debido a que en esta prueba se presentó la mayor ganancia de peso a los 32 días.

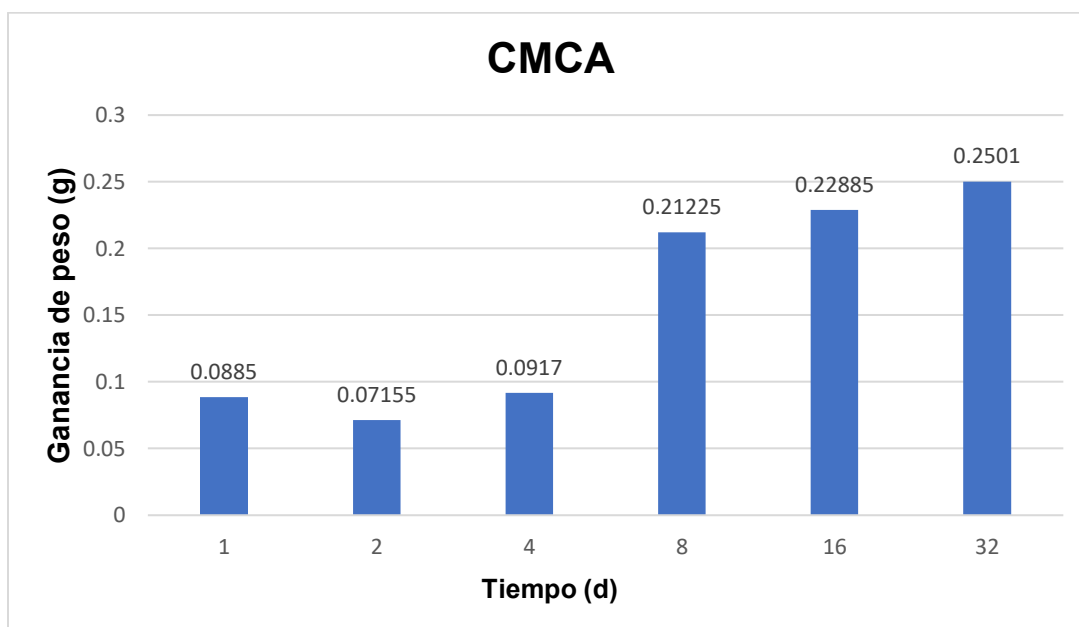


Figura 25. Formación de la biopelícula en las estructuras 3D pretratadas con mucílago de nopal e inóculo alimentado.

En la Figura 26 se observa el crecimiento de la biopelícula de manera visual en las estructuras impresas en 3D pretratadas con mucílago de nopal y alimentando el inóculo con estiércol, se puede observar que el inóculo anaerobio recubrió en su totalidad la estructura 3D y en zonas muy puntuales se puede observar el tono cristalino de la estructura. En la Figura 27 se observa una micrografía de la estructura, donde se aprecia la manera en la que la mayor cantidad de mucílago se deposita en las zonas mas irregulares de la estructura.

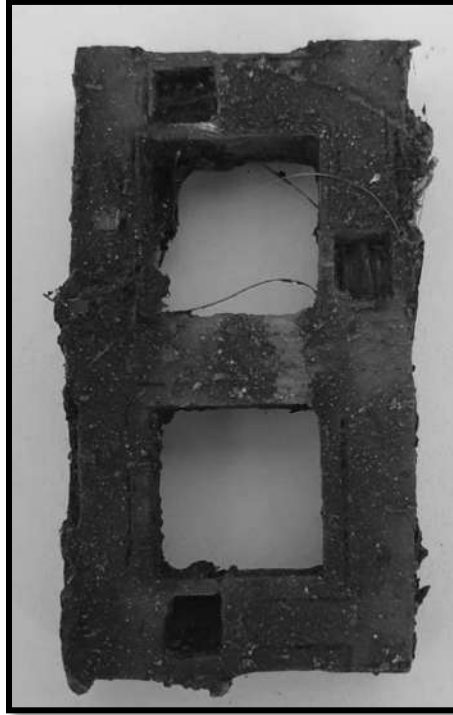


Figura 26 Ilustración de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo alimentado a los 16 días.



Figura 27 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo alimentado a los 16 días.

En la Figura 28 se muestra el crecimiento de la biopelícula cuando se utiliza el mucílago de nopal y no se alimenta el estiércol, en la cual se observó que en el primer día de inmersión de la estructura 3D hubo un crecimiento de la biopelícula al depositarse 0.11 gramos en promedio, es la mayor ganancia de peso que se registró en el primer día en toda la prueba, este comportamiento es atribuible a la utilización de mucílago de nopal que es un polisacárido y a su vez a la falta de alimentación lo que promovió que mayor cantidad de microorganismos realizaran la fase de adhesión reversible; en los días 2 y 4 se observó una disminución del peso a 0.10 y 0.06 gramos respectivamente, a los 8 días se registró un incremento de 0.21 gramos de biopelícula, lo que nos confirmó que la biopelícula se encontraba en la fase reversible; en los días 16 y 32 se registró una disminución de la biopelícula a 0.13 gramos en promedio cada muestra, este comportamiento se atribuye a la maduración de la biopelícula. Se pudo observar que la falta de alimentación permitió un crecimiento más rápido de la biopelícula en los primeros días de la prueba debido a que la falta de nutrientes permitió que se desarrollaran la matriz polimérica extracelular, sin embargo; en los últimos días la falta de estos provocó que el inóculo anaerobio alcanzara la fase endógena con lo que los microorganismos perdieron funciones metabólicas.

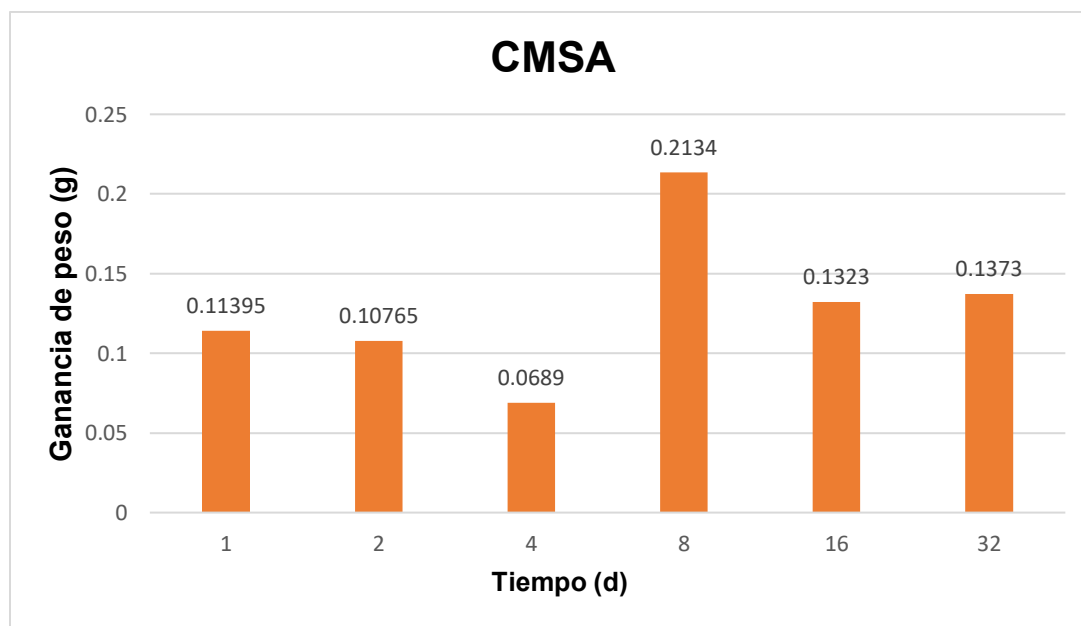


Figura 28. Formación de la biopelícula en las estructuras 3D pretratadas con mucílago de nopal e inóculo sin alimentación.

En la Figura 29 se observa el crecimiento de la biopelícula de manera visual en las estructuras impresas en 3D pretratadas con mucílago de nopal e inóculo sin alimentación, se puede observar que el inóculo anaerobio recubrió parcialmente la estructura 3D y en zonas mayoritarias puntuales se puede observar el tono cristalino de la estructura. En la Figura 27 se observa una micrografía de la estructura, donde se aprecia que no está cubierta en su totalidad por el inóculo.

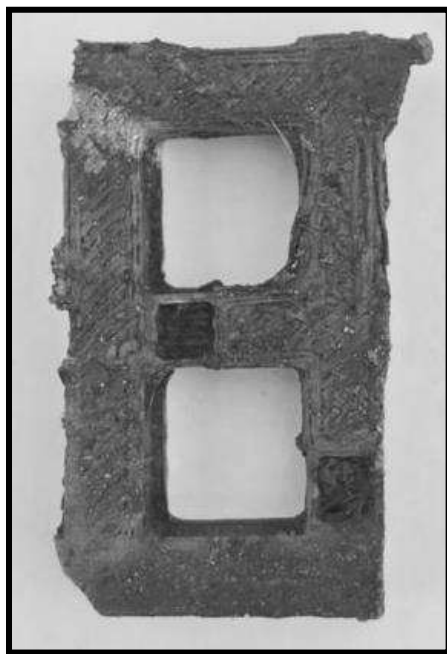


Figura 29. Ilustración de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo sin alimentación a los 16 días.



Figura 30 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D pretratadas con mucílago e inóculo sin alimentación a los 16 días.

En la Figura 31 se muestra el crecimiento de la biopelícula en las estructuras impresas en 3D que no tuvieron pretratamiento y el inóculo fue alimentado con estiércol, se observó un crecimiento de la biopelícula en el primer día con un depósito de 0.09 gramos en promedio, en el segundo día se registró un incremento de 0.11 gramos, en el día cuatro se registró una disminución de la biopelícula de 0.05 gramos, esto es atribuible a la adhesión reversible de la biopelícula; en el día 8 se registró un incremento de 0.1 gramos, posteriormente se registraron pesos similares los días 16 y 32 de 0.5 gramos, lo que nos indica que la biopelícula tuvo un proceso de maduración.

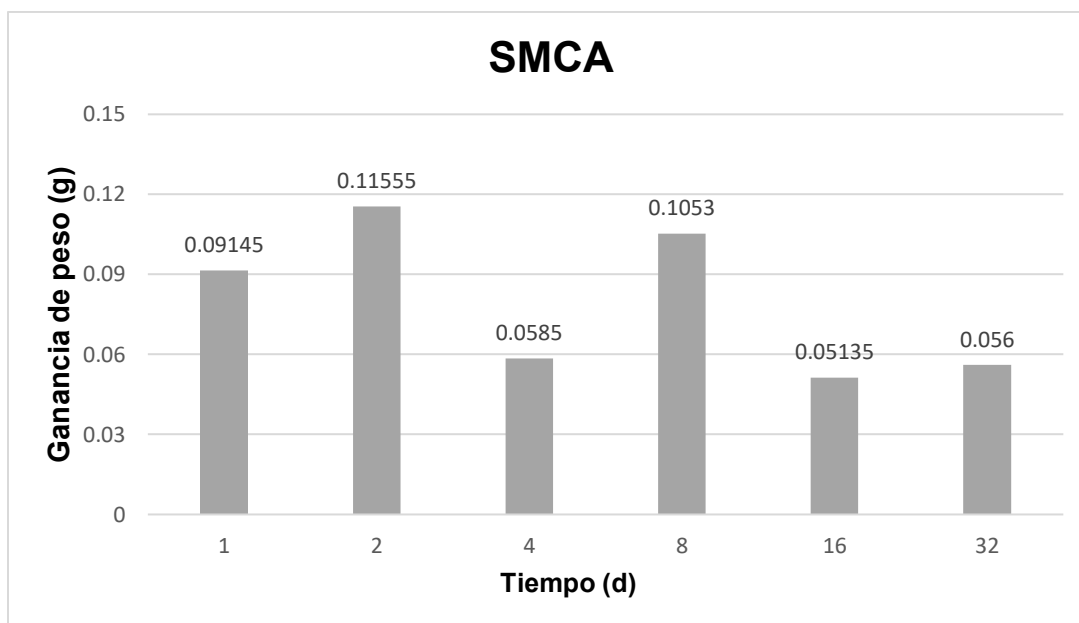


Figura 31. Formación de la biopelícula en las estructuras 3D sin pretratamiento de mucílago e inóculo alimentado.

En la Figura 32 se observa el crecimiento de la biopelícula de manera visual en las estructuras impresas en 3D sin pretratamiento y alimentando el inóculo con estiércol, se puede observar que el inóculo anaerobio recubrió parcialmente la estructura 3D y en zonas mayoritarias se puede observar el tono cristalino de la estructura. En la Figura 33 se observa una micrografía de la estructura, donde se aprecia que no está cubierta en su totalidad por el inóculo.



Figura 32 Ilustración de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento y alimentando el inóculo a los 16 días.



Figura 33 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento y alimentando el inóculo a los 16 días.

En la Figura 34 se muestra el crecimiento de la biopelícula en las estructuras impresas en 3D que no tuvieron pretratamiento e inóculo sin alimentación, se observó un crecimiento de la biopelícula en el primer día con un depósito de 0.5 gramos en promedio, posteriormente el segundo día aumento a 0.13 gramos, el día 3 disminuyó a 0.09 gramos, este efecto es atribuible a que la adhesión reversible permitió que los microorganismos cambiaran su estado planctónico a sésil y viceversa sin ningún anclaje, en los días 8 y 16 se registró un aumento de la biopelícula de 0.13 y 0.17 gramos respectivamente, finalmente el día 32 disminuyó la biopelícula a 0.11 gramos. Esta prueba presentó mejores promedios de crecimiento de biopelícula respecto a las muestras que no fueron pretratadas y el inóculo si fue alimentado (Figura 31), este comportamiento se debe a que la mejor producción de la matriz polimérica extracelular se presenta cuando los factores ambientales provocan un estrés en los microorganismos como la falta de nutrientes (el cual se dio en la falta de alimentación) (Gonzáles Gutiérrez, 2008; González-González, 2011) y el cambio de pH (el cual se dio al presentarse la fase endógena por la falta de alimentación) (González et al., 2013).

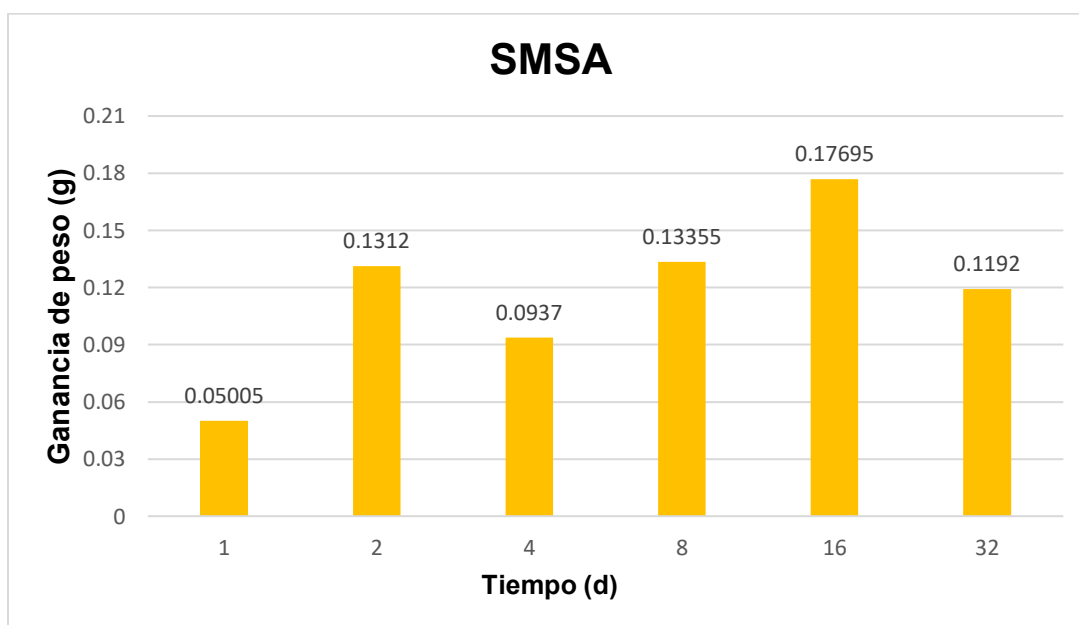


Figura 34. Formación de la biopelícula en las estructuras 3D sin pretratamiento de mucílago e inóculo sin alimentación.

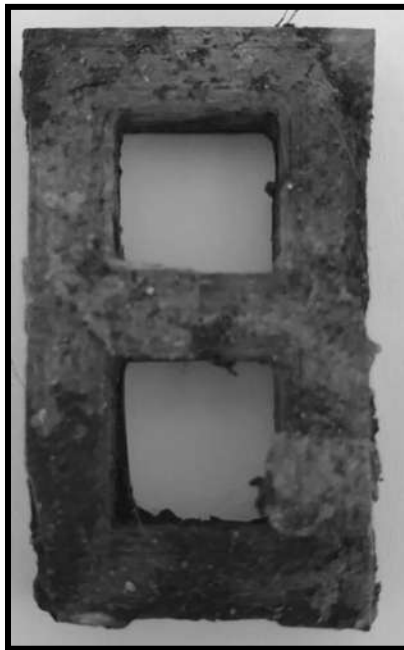


Figura 35. Ilustración de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento e inóculo sin alimentación a los 16 días.

En la Figura 35 se observa el crecimiento de la biopelícula de manera visual en las estructuras impresas en 3D sin pretratamiento e inóculo sin alimentación, se puede observar que el inóculo anaerobio recubrió parcialmente la estructura 3D y en zonas mayoritarias se puede observar el tono cristalino de la estructura. En la Figura 36 se observa una micrografía de la estructura, donde se aprecia que no está cubierta en su totalidad por el inóculo.



Figura 36 Micrografía de la formación de biopelícula en las estructuras impresas 3D sin pretratamiento e inóculo sin alimentación a los 16 días.

3.4.3.1 Evaluación de parámetros durante la inoculación

En la Figura 37 se muestra el comportamiento del pH durante la inoculación de las estructuras impresas en 3D, se observa que las muestras que fueron alimentadas con estiércol (CMCA y SMCA) mantuvieron un comportamiento deseable; las muestras SMCA registraron un promedio de 6.79 unidades de pH, las muestras CMCA registraron un promedio de 6.68 unidades de pH durante toda la prueba; el pH del mucílago de nopal es ligeramente ácido (5.2 unidades de pH) por lo que se atribuye la del pH durante los primeros 15 días de la prueba en las muestras CMCA. Las muestras que no fueron alimentadas con estiércol de cerdo (CMSA y SMSA) registraron una disminución en el valor del pH, este comportamiento se atribuye a la falta de alimento en el inóculo, lo cual provocó que los microorganismos metabolizaran las reservas de energía presentes dentro de sus células generando lisis celular (fase endógena) (Metcalf & Eddy, 2014) y a su vez generó que las proteínas que se encuentran dentro de las células sirvieran como alimento para los grupos de bacterias acetogénicas, generando una mayor producción de ácidos que provocó la

disminución en el pH (Bitton, 2005). El comportamiento del pH no tiene ninguna relación con la ganancia de peso en las estructuras.

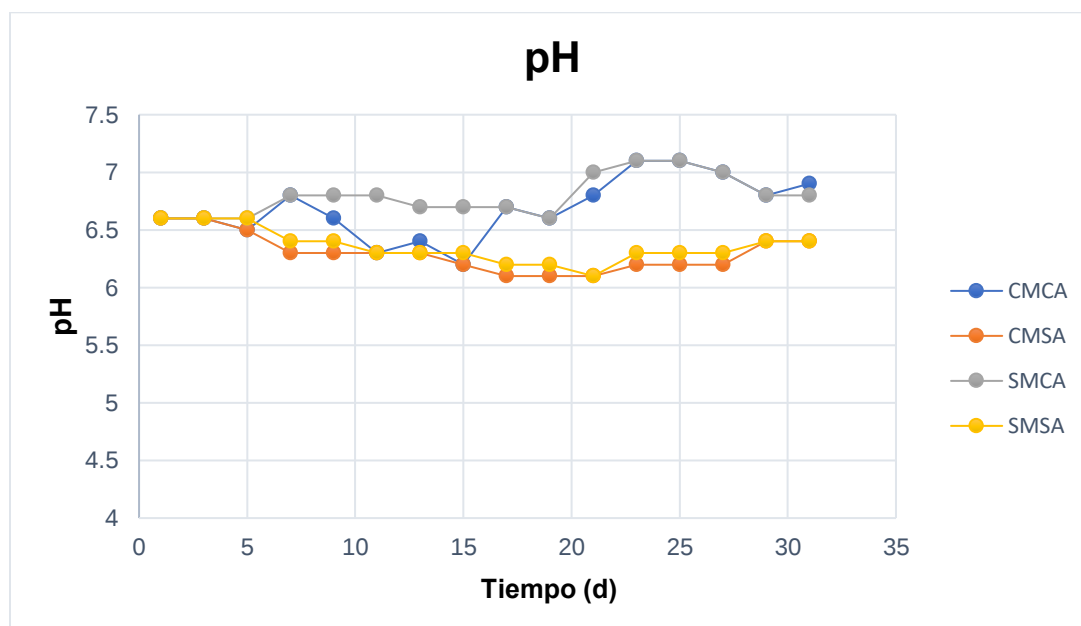


Figura 37. Comportamiento del pH durante el crecimiento de la biopelícula.

En la Figura 38 se muestra el comportamiento de la alcalinidad durante la inoculación de las estructuras impresas en 3D, las muestras que fueron alimentadas con estiércol de cerdo lograron mantener una concentración de $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ más alta respecto a las muestras que no fueron alimentadas con estiércol, las muestras CMCA registraron un promedio de $28,500 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$, posteriormente las muestras SMCA con un promedio de $24,700 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ durante toda la prueba; las concentraciones de $\text{mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ más bajas durante el seguimiento de la prueba se registraron en las muestras donde el inóculo no fue alimentado con estiércol SMSA y CMSA; el promedio más bajo registrado fue $24,700 \text{ mg CaCO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ los cuales se encuentran por encima de los valores recomendados. El Comportamiento de la alcalinidad está relacionado directamente con el valor del pH, al consumirse la alcalinidad se acciona la capacidad amortiguadora del sistema consumiendo

los iones H^+ manteniendo estable el pH (Cajigas et al., 2005). Este comportamiento de la alcalinidad no tiene ninguna relación con la ganancia de peso en las estructuras.

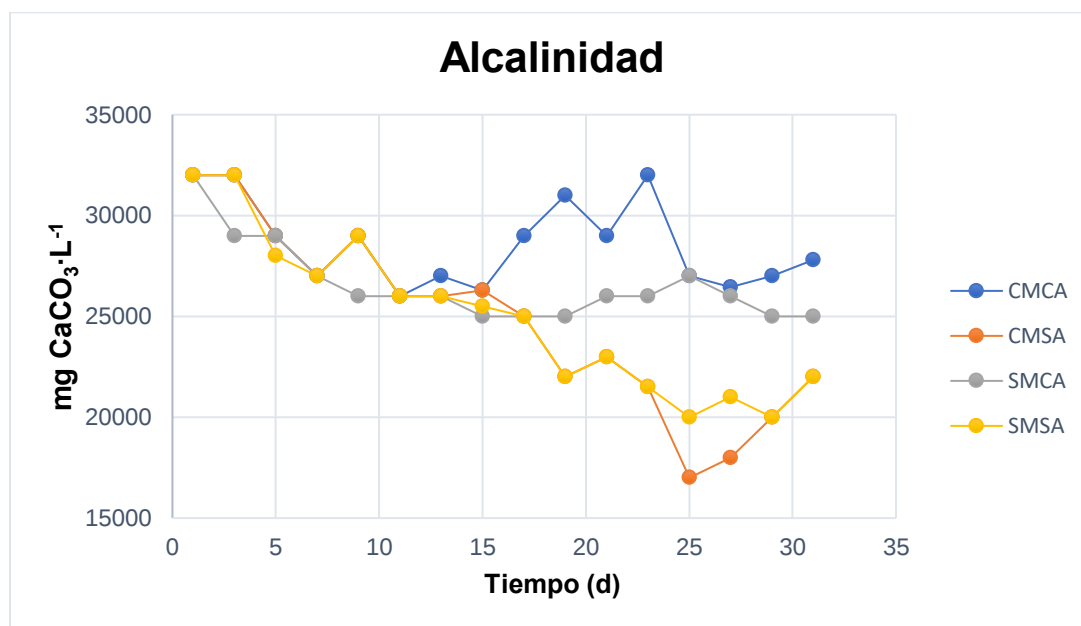


Figura 38. Comportamiento de la alcalinidad durante el crecimiento de la biopelícula.

En la Figura 39 se muestra el comportamiento de la relación α durante la inoculación de las estructuras impresas en 3D, las muestras que fueron alimentadas con estiércol lograron tener un valor más alto respecto en comparación con las muestras que no fueron alimentadas con estiércol, las estructuras CMCA registraron un promedio de 0.61 y las estructuras SMCA un promedio de 0.59 durante toda la prueba; las muestras CMSA y SMSA registraron un promedio de 0.51 durante toda la prueba; los promedios todas las muestras superan a los valores recomendados por (Padilla, 2010). La variación de la relación α no tiene relación con la adhesión de la biopelícula en las estructuras.

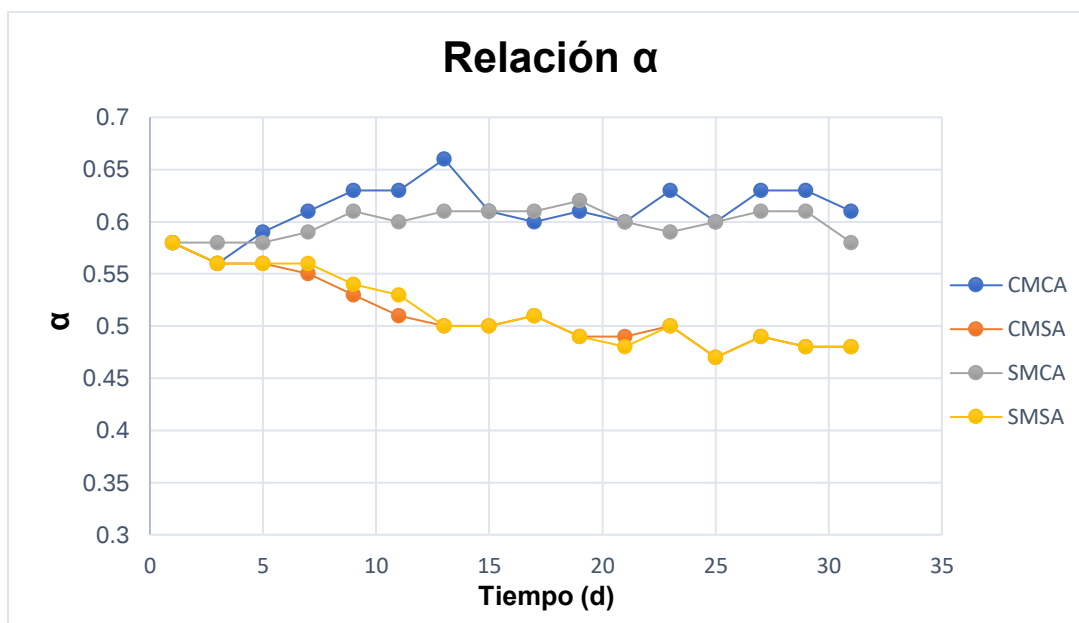


Figura 39. Comportamiento de la relación α durante el crecimiento de la biopelícula.

3.5 Caracterización de bomba de pulsos

La caracterización de la bomba se realizó en las configuraciones que presentaba la bomba a partir del stroke 40 y con velocidades 20, 40, 60, 80 y 100% respectivamente, utilizando el desplazamiento de volumen como método para determinar el caudal de entrega.

En la Figura 40 se muestra el comportamiento del caudal en todo el stroke 40 a las diferentes velocidades, generó caudales desde $0.5 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$, la R^2 nos da un valor de 0.99 por lo que se puede determinar que los valores obtenidos son confiables dada la línea de tendencia exponencial.

En la Figura 41 se muestran los valores obtenidos de caudal en el stroke 50, tiene una entrega de caudal que va desde $0.80 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$ hasta $5.55 \text{ L} \cdot \text{h}^{-1}$, el valor de la R^2 es de 0.99.

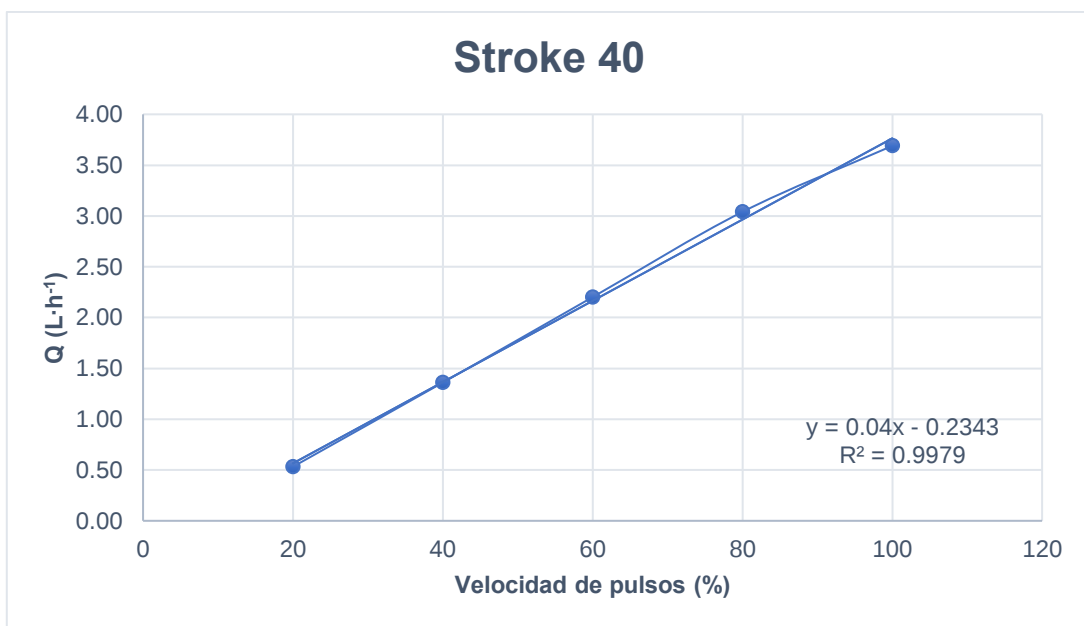


Figura 40. Valores de caudal en stroke 40.

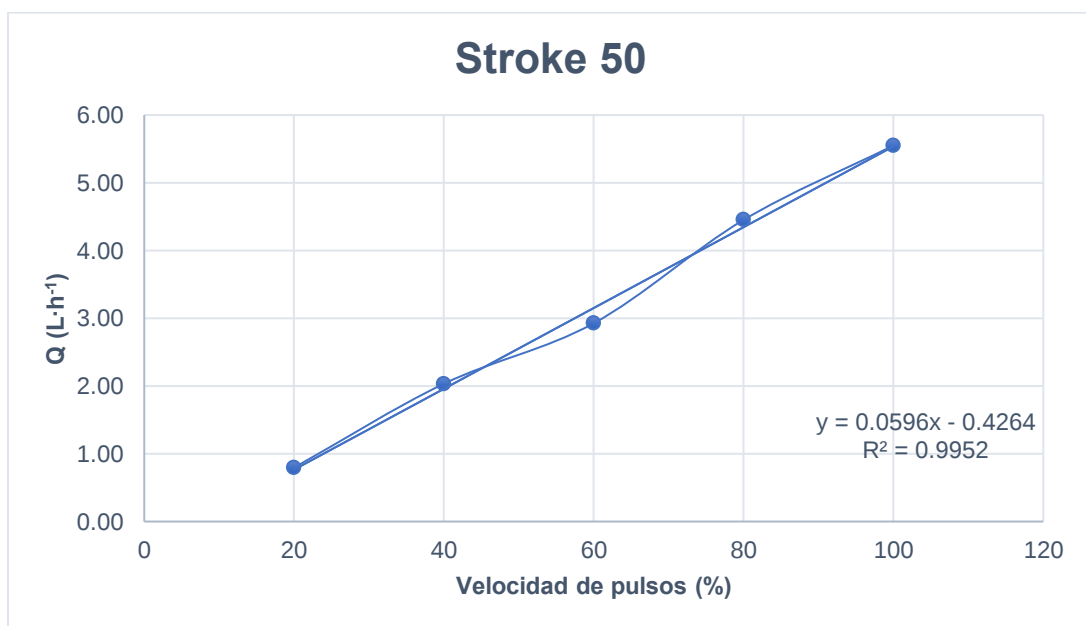


Figura 41. Valores de caudal en stroke 50.

De la misma manera fueron tomados todos los valores de caudal de cada uno de los strok´s obteniendo valores de R^2 superiores a 0.98 en todos los casos, con la recopilación de estos se realizó la curva de operación de la bomba.

En la Figura 42 se muestra la línea de operación de la bomba; en la configuración de stroke 40 velocidad 20, se obtuvo el caudal más bajo que es de 0.50 L·h⁻¹, en la configuración de stroke 100 velocidad 100, se obtuvo el caudal más alto que es de 8.9 L·h⁻¹. Se generaron 35 configuraciones distintas para diferentes capacidades de flujo.

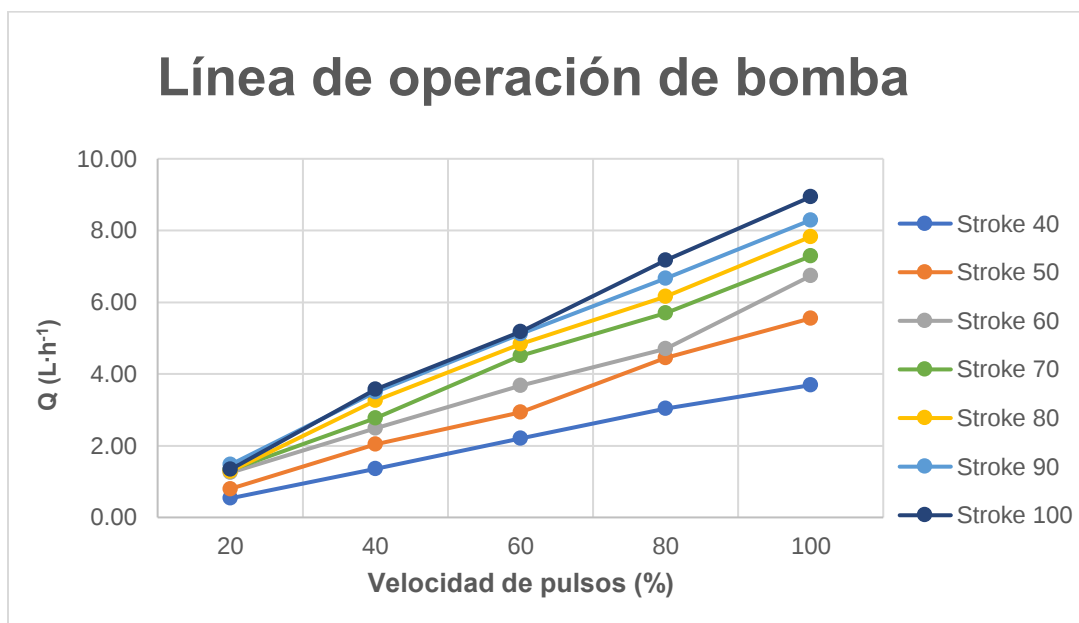


Figura 42. Líneas de operación de la bomba.

Una vez que se obtuvo la curva de operación de la bomba, se calculó el tiempo de retención hidráulico a partir de la siguiente ecuación:

$$TRH = \frac{V}{Q} \quad (8)$$

Donde:

TRH: Tiempo de retención hidráulico

V= Volumen

Q= Caudal

En la Figura 43 se muestran los tiempos de retención hidráulico dentro del reactor que varían desde 0.87 hasta 14.67 horas.

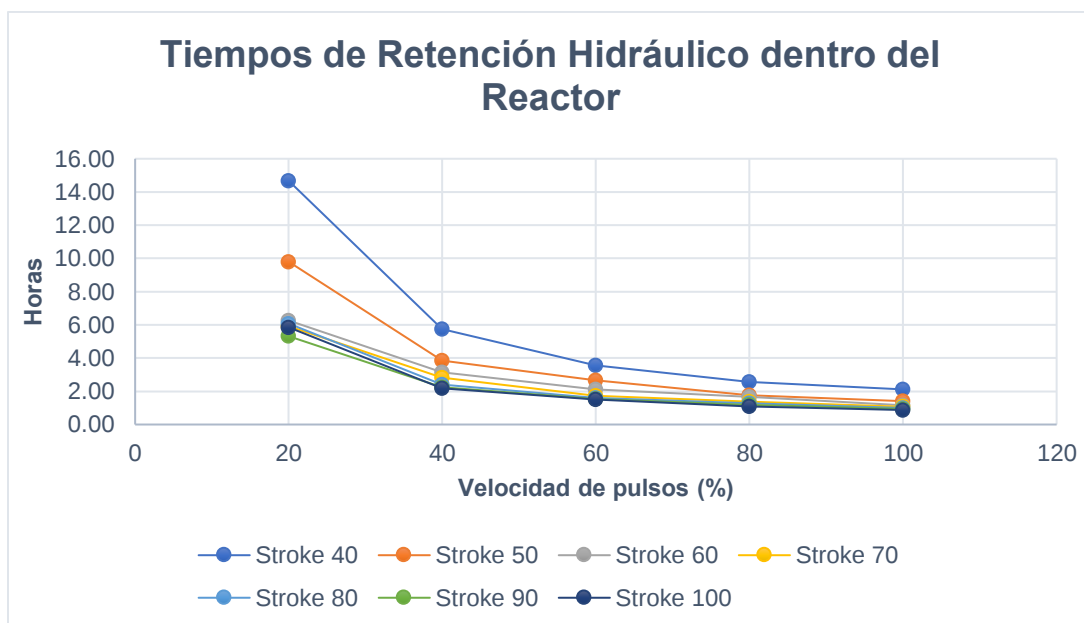


Figura 43. *Tiempos de retención hidráulico en las configuraciones de velocidad/strok.*

3.6 Desarrollo del sistema experimental

En la Figura 44 se muestra el diagrama de proceso para la operación del sistema experimental planteado, a) es el recipiente de alimentación donde se almacena el agua residual con altas cargas orgánicas; b) es la bomba de pulsos que dosifica el agua residual en los caudales obtenidos en el apartado 3.5; c) es el reactor de lecho fijo anaerobio donde los microorganismos tienen la capacidad de disminuir las altas cargas orgánicas; d) es el recipiente donde se recolecta el efluente tratado y se realiza el monitoreo de la capacidad de remoción de altas cargas orgánicas en el sistema.

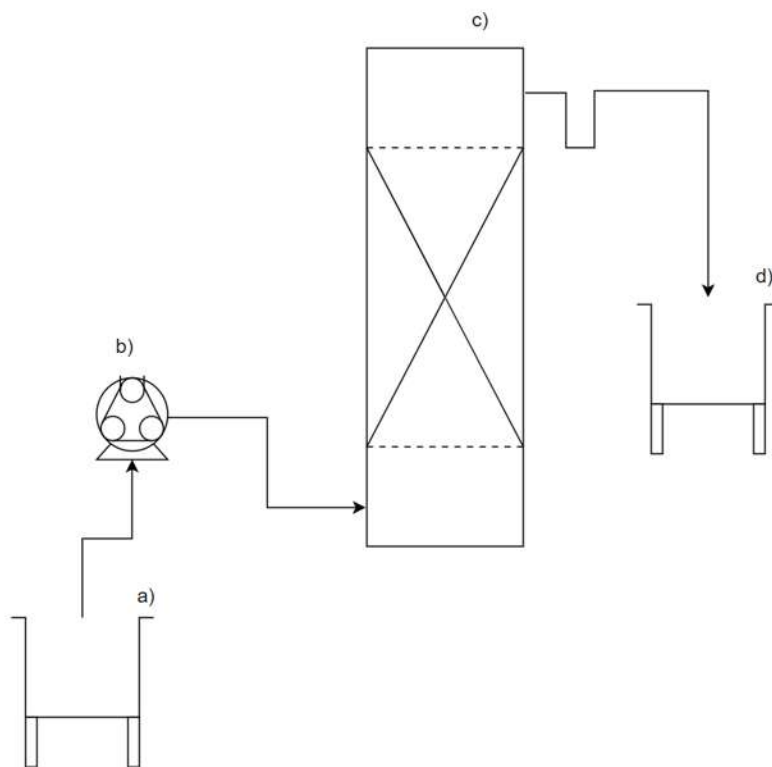


Figura 44. Diagrama de proceso para la operación del sistema experimental.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES

-
- El mucílago de nopal permitió que los microorganismos se adhirieran a la estructura 3D de ácido poliláctico de forma más eficiente debido a que se presentaron las mayores ganancias de peso de biopelícula de un 2% aproximadamente respecto a las que no fueron inmersas en mucílago.
 - Las mejores condiciones que permitieron la mayor ganancia de la biopelícula fueron con la inmersión de la estructura 3D, 24 horas en mucilago y 30 días en el inóculo con alimentación.
 - Fue posible generar un sistema experimental con el fin de ser utilizado en el tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de carga orgánica.
 - Cuando el inóculo no cuenta con las características adecuadas es necesario realizar una fase de enriquecimiento previo al proceso de la formación de la biopelícula.
 - Las estructuras impresas en 3D de ácido poliláctico presentan las características para ser empleadas como soporte de biopelículas.

CAPÍTULO V

5 TRABAJOS FUTUROS

-
- Realizar un análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM) a las muestras de las estructuras impresas en 3D (blanco, mucilago adherido y biopelícula formada).
 - Desarrollar la estructura 3D piramidal y formar la biopelícula con las mejores condiciones encontradas, colocarla dentro del reactor y evaluar su capacidad de remoción de altas cargas orgánicas.

CAPÍTULO VI

6 BIBLIOGRAFÍA

-
-
- Alarcón-Aguilar, F. ;, Valdes-arzate, A., & Xolalpa-molina, S. et al. (2003). Hypoglycemic Activity of Two Polysaccharides Isolated from. *Proc West Pharmacal Soc.*, 46, 139–142.
- Álvarez, L. Y., Vega, L. R., Pérez, D. C. R. M., C, D. C. R., & Rodríguez, D. C. S. (2013). Evaluation of the Anaerobic Biodegradability of the Wastewaters from Meat Procedure. *Biotecnología Industrial*, 295–307.
- Beaman, J. J., & Deckard, C. R. (1990). Selective Laser Sinterng with Assisted Powder Handling. In *Google Patents*.
<https://patents.google.com/patent/US4938816A/en%0Ahttps://patentimages.storage.googleapis.com/bf/cb/03/4cbcb828f78e25/US4938816.pdf>
- Bitton, G. (2005). *Wastewater Microbiology* (Third Edit). Wiley.
- Bryers, J. D. (2009). Biotechnology and Bioengineering: Introduction. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(2), 309–347. <https://doi.org/10.1002/bit.22227>
- Cajigas, A., Pérez, A., & Torres, P. (2005). IMPORTANCIA DEL pH Y LA ALCALINIDAD EN EL TRATAMIENTO ANAEROBIO DE LAS AGUAS RESIDUALES DEL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE ALMIDÓN DE YUCA. *Scientia Et Technica*, XI(27), 243–248. <https://doi.org/10.22517/23447214.6955>
- Comisión Nacional del Agua. (2011). *Agenda del Agua 2030*.
- Comisión Nacional del Agua. (2016). *Situación del Subsector Agua Potable, Drenaje y Saneamiento, edición 2016*.
- Comisión Nacional del Agua. (2018). *Estadísticas del agua en México 2018*.
- CONAGUA. (2015). *OPERACIÓN Y MANTENIMIENTO DE PLANTAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES MUNICIPALES: PROCESOS ANAEROBIOS* (C. N. del AGUA, Ed.; 1ERA EDICI).
- CONAGUA. (2016). *Manual de agua potable, alcantarillado y saneamiento Diseño de plantas de tratamiento de aguas residuales municipales : Filtros anaerobios de flujo ascendente* (1ra ed.). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Contreras Lozano, K. P., Aguas Mendoza, Y., Salcedo Mendoza, G., Olivero Verbel, R., & Mendoza Ortega, G. P. (2015). El Nopal (*Opuntia ficus-indica*) como coagulante natural

-
-
- complementario en la clarificación de agua. *Producción + Limpia*, 10(1), 40–50.
<https://doi.org/10.22507/pml.v10n1a3>
- Cresson, R., Carr, H., Delgen, J. P., & Bernet, N. (2006). Biofilm formation during the start-up period of an anaerobic biofilm reactor — Impact of nutrient complementation. *Biochemical Engineering Journal*, 30, 55–62. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2006.02.002>
- Davey, M. E., & O'toole, G. A. (2000). Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(4), 847–867. <https://doi.org/10.1128/membr.64.4.847-867.2000>
- Díaz, C. (2011). *Adherencia y colonización de Pseudomonas fluorescens sobre sustratos sólidos: influencia de la topografía y composición química del material*.
- Dong, Y., Fan, S. Q., Shen, Y., Yang, J. X., Yan, P., Chen, Y. P., Li, J., Guo, J. S., Duan, X. M., Fang, F., & Liu, S. Y. (2015). A Novel Bio-carrier Fabricated Using 3D Printing Technique for Wastewater Treatment. *Scientific Reports*, 5(July). <https://doi.org/10.1038/srep12400>
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881–890. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>
- Fogler, H. S. (1999). *Elementos de ingeniería de las reacciones químicas* (4ta Edición). Pearson.
- Fondo para la Comunicación y la Educación Ambiental A.C. (2016). *Agua en el planeta*. <https://agua.org.mx/en-el-planeta/>
- Givskov, M., Hentzer, M., Ersbøll, B. K., Heydorn, A., Sternberg, C., Nielsen, A. T., & Molin, S. (2015). Quantification of biofilm structures by the novel computer program comstat. *Microbiology*, 146(10), 2395–2407. <https://doi.org/10.1099/00221287-146-10-2395>
- González Gutiérrez, M. G. (2008). *Producción de poli-hidroxicanoatos por bacterias del género Bacillus de origen marino*. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/288/1/gonzalez_m.pdf
- González, Y., Meza, J. C., González, O., & Córdova, J. A. (2013). Síntesis y biodegradación de polihidroxicanoatos: plásticos de origen microbiano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 77–115.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992013000100007

- González-González, L. R. (2011). Desarrollo y evaluación de una película comestible obtenida del mucílago de nopal (*Opuntia ficus-indica*) utilizada para reducir la tasa de respiración de nopal verdura. *Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos*, 3, 131–138.
- Grady, L., Daigger, G., Love, N., & Filipe, C. (2011). *Biological Wastewater Treatment* (Third Edit). IWA Publishing.
- Gross, B. C., Erkal, J. L., Lockwood, S. Y., Chen, C., & Spence, D. M. (2014). Evaluation of 3D printing and its potential impact on biotechnology and the chemical sciences. *Analytical Chemistry*, 86(7), 3240–3253. <https://doi.org/10.1021/ac403397r>
- Gu, W., Wang, L., Liu, Y., Liang, P., Zhang, X., Li, Y., & Huang, X. (2020). Anammox bacteria enrichment and denitrification in moving bed biofilm reactors packed with different buoyant carriers: Performances and mechanisms. *Science of the Total Environment*, 719, 137277. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137277>
- Ignacio, J., Monzón, T., Esteban-garcía, A. N. A. L., & Florio, L. D. E. (2012). Tecnologías de biopelícula innovadoras para la depuración de aguas residuales : veinticinco años de investigación del Grupo de Ingeniería Ambiental de la Universidad de Cantabria. *Ingeniería Civil*, 61–73.
- Khanal, S. K. (2008). Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications. In *Anaerobic Biotechnology for Bioenergy Production: Principles and Applications* (firsts edi). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9780813804545>
- Ko, S. H., Pan, H., Grigoropoulos, C. P., Fréchet, J. M. J., Luscombe, C. K., & Poulikakos, D. (2008). Lithography-free high-resolution organic transistor arrays on polymer substrate by low energy selective laser ablation of inkjet-printed nanoparticle film. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 92(3), 579–587. <https://doi.org/10.1007/s00339-008-4597-9>
- Mendoza, B., Gómez, E., Hernández, E., Rodríguez, A., & Chavarría, N. (2014). Elaboración y caracterización de películas biodegradables a partir de mucilago de nopal-caseinato de sodio y mucilago de nopal-pectina. *Ciencias Agroquímicas, Handbook*, 129–136.

-
-
- Metcalfe, & Eddy. (2014). *Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery* (Fifth Edit). McGraw-Hill Education I.
- Michael Dunne Jr., W. (2002). Bacterial Adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 155–166. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.155>
- Orozco Silvas, E. (2017). *Elaboración y caracterización de películas de mucilago de nopal-pectina: efecto de la concentración del mucilago de nopal en las propiedades físicoquímicas y mecánicas*. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/67766/TesisEli%283%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Padilla, E. (2010). *Evaluación de un filtro anaerobio de flujo ascendente para tratar agua residual del rastro*.
- Pan, Y., Zhao, X., Zhou, C., & Chen, Y. (2012). Smooth surface fabrication in mask projection based stereolithography. *Journal of Manufacturing Processes*, 14(4), 460–470. <https://doi.org/10.1016/j.jmapro.2012.09.003>
- Pandey, S., & Sarkar, S. (2017). Anaerobic treatment of wastewater using a two-stage packed-bed reactor containing polyvinyl alcohol gel beads as biofilm carrier. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5(2), 1575–1585. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2017.02.013>
- 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. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=fua&AN=36430334&lang=es&site=ehost-live>
- Proano-Pena, G., Carrano, A. L., & Blersch, D. M. (2020). Analysis of very-high surface area 3D-printed media in a moving bed biofilm reactor for wastewater treatment. *PLoS ONE*, 15(8 August). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238386>
- Ramírez-Arellanes, S., Cano-Barrita, P. F. J., Julián-Caballero, F., & Gómez-Yáñez, C. (2012). Propiedades de durabilidad en hormigón y análisis microestructural en pastas de cemento con adición de mucílago de nopal como aditivo natural. *Materiales de Construcción*, 62(307), 327–341. <https://doi.org/10.3989/mc.2012.00211>

-
-
- Raposo, F., Banks, C. J., Siegert, I., Heaven, S., & Borja, R. (2006). Influence of inoculum to substrate ratio on the biochemical methane potential of maize in batch tests. *Process Biochemistry*, 41(6), 1444–1450. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.01.012>
- Sachs, E. M. ., Haggerty, J. S., Cima, M. J., & Williams, P. A. (1993). *THREE-DIMENDIONAL PRINTING TECHNIQUES* (Patent No. 5204055).
- Santos, D. B., Lorenzana-jiménez, M., Alfonso, G., & Guerrero, M. (2009). Utilidad del nopal para el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2. *Revista de La Facultad de Medicina (México)*, 49(004), 157–162.
- Sheng, G. P., Yu, H. Q., & Li, X. Y. (2010). Extracellular polymeric substances (EPS) of microbial aggregates in biological wastewater treatment systems: A review. *Biotechnology Advances*, 28(6), 882–894. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.08.001>
- Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annual Review of Microbiology*, 56(1), 187–209. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705>
- Tang, B., Zhao, Y., Bin, L., Huang, S., & Fu, F. (2017). Bioresource Technology Variation of the characteristics of bio fi lm on the semi-suspended bio-carrier produced by a 3D printing technique: Investigation of a whole growing cycle. *Bioresource Technology*, 244(100), 40–47. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.07.132>
- Tolker-Nielsen, T. et al. (2000). Development and dynamics of Pseudomonas sp. biofilms. *Journal of Bacteriology*, 182(22), 6482–6489. <https://doi.org/10.1128/JB.182.22.6482-6489.2000>
- Torres, E. (1994). *Proyecto de una planta de tratamiento de aguas residuales domésticas para reuso del agua en la agricultura*.
- Toyoda, M., & Matsuo, T. (1999). Computer program “TRIO-DRAW” for displaying ion trajectory and flight time. In *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* (Vol. 427, Issues 1–2). [https://doi.org/10.1016/S0168-9002\(98\)01570-8](https://doi.org/10.1016/S0168-9002(98)01570-8)
- Vaca Mier, M., López Callejas, R., Flores Rodríguez, J., Terres Peña, H., Lizardi Ramos, A., & Rojas Valencia, Ma. (2014). APLICACIÓN DEL NOPAL (*Opuntia ficus indica*)

-
-
- COMO COAGULANTE PRIMARIO DE AGUAS RESIDUALES. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, Desarrollo y Práctica*, 7(3), 210–216.
- Vargas, L., Arroyo, G., Jiménez, D., Hernández, A., López, O., Herrera, C., Gómez, E., & González, F. (2012). Adhesivo de nopal en pinturas a la cal. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 165–174. www.respyn.uanl.mx/especiales/2012/ee-04-2012/documentos/sesion_2/17.pdf
- Vargas Rodríguez, L., Arroyo Figueroa, G., Herrera Méndez, C. H., Pérez Nieto, A., García Vieyra, M. I., & Rodríguez Núñez, J. R. (2016). Propiedades Físicas del mucílago de Nopal. *Acta Universitaria*, 26(NE-1), 8–11. <https://doi.org/10.15174/au.2016.839>
- Verwey, E. J. W. (1947). Theory of the Stability of Lyophobic Colloids. *The Journal of Physical and Colloid Chemistry*, 51(3), 631–636. <https://doi.org/10.1021/j150453a001>
- Wang, Y., Zhou, Y., Lin, L., Corker, J., & Fan, M. (2020). Overview of 3D additive manufacturing (AM) and corresponding AM composites. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 139(July), 106114. <https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2020.106114>
- Wu, G., Langrana, N. A., Rangarajan, S., Mccuiston, R., Sadanji, R., Danforth, S., & Safari, A. (1999). Fabrication of Metal Components using FDM: Fused Deposition of Metals. *Proceedings of Solid Freeform Fabrication Symposium*, 775–782.
- Yan, X., & Gu, P. (1996). A review of rapid prototyping technologies and systems. *CAD Computer Aided Design*, 28(4), 307–318. [https://doi.org/10.1016/0010-4485\(95\)00035-6](https://doi.org/10.1016/0010-4485(95)00035-6)
- Zein, I., Hutmacher, D. W., Tan, K. C., & Teoh, S. H. (2002). Fused deposition modeling of novel scaffold architectures for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 23(4), 1169–1185. [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(01\)00232-0](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(01)00232-0)
- Zhao, M., Yan, Q., Ruan, W., Miao, H., Ren, H., & Xu, Y. (2010). Effects of butyric acid stress on anaerobic sludge for hydrogen production from kitchen wastes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 85(6), 866–871. <https://doi.org/10.1002/jctb.2380>

