

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

ELIMINACIÓN DE NITRÓGENO AMONIACAL Y NITRATOS USANDO GRÁNULOS AEROBIOS

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE: **MAESTRA EN INGENIERÍA** INGENIERÍA AMBIENTAL - AGUA PRESENTA

I.Q. YAZMIN LUCERO COBOS BECERRA

TUTOR:

Dr. Simón González Martínez



2009



JURADO ASIGNADO:

Presidente:	Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Secretario:	Dr. Marco Garzón Zúñiga
Vocal:	Dr. Simón González Martínez
1er. Suplente:	Dr. Jorge Gómez Hernández
2do. Suplente:	Dra. Marisela Bernal González

Lugar donde se realizó la tesis:

Laboratorio de Ingeniería Ambiental, edificio 5, Instituto de Ingeniería, UNAM.

TUTOR DE TESIS:

Dr. Simón González Martínez **FIRMA**





DEDICATORIA

A Dios por darme la vida para poder alcanzar todas mis metas

6

A mis padres, Gloria y Gilberto, quienes siempre me han apoyado para alcanzar todos mis sueños y seguir adelante con mi carrera, por estar junto a mi brindándome todo el amor y sabiduría.

6

A mi hermano, "Fonso", por su apoyo, sus chistes y risas que siempre me alegran.

6

A Iván por su amor y apoyo incondicional a lo largo de esta etapa de mi vida.

6

A mi abuela Giraciela, por tenerme en sus oraciones y por su amor; a mis tías y tíos, quienes me apoyan siempre y me dan muchos ánimos para cumplir alcanzar todo lo que me propongo.

6

A "Nelsiton" por sus palabras que siempre me hacen sonreir y alegran mi vida.





AGRADECIMIENTOS

- ★ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México por la beca recibida para realizar mis estudios de maestría.
- ★ Al Dr. Simón González por todos los consejos recibidos, por su apoyo académico, por su paciencia, muchísimas gracias por dirigir esta tesis.
- ★ Al Dr. Oscar González por su valioso apoyo académico y técnico, por su paciencia, que me ayudaron muchísimo en el desarrollo de esta tesis.
- ★ A los Doctores Marco Garzón y Jorge Gómez por todos sus consejos para mejorar este trabajo de tesis, gracias por participar en el comité tutoral.
- ★ A las Doctoras Petia Mijaylova y Marisela Bernal, por sus aportes para el mejoramiento de este trabajo de investigación.
- ★ A la Técnica de Laboratorio, Lupita Urquiza, quien fue un gran apoyo moral y técnico en el desarrollo de este trabajo, muchas gracias por tu ayuda y consejos.
- ★ Al personal Técnico del laboratorio de Ing. Ambiental, Roberto Briones, Soledad Lucario, Victoria Navarrete, gracias por toda su colaboración.
- ★ A mis compañeros de cubículo, Roberto, Circe, Mariana, Rosa, David, gracias por sus risas y consejos.
- ★ A México por recibirme tan gratamente, por dejarme crecer personal y académicamente, por darme esta gran oportunidad de cumplir mis metas y continuar con mi carrera.





TABLA DE CONTENIDO

RESU	MEN	Pág
1. IN	TRODUCCIÓN	1
1.1 Oł	vjetivos	4
1.2 Al	cance principal	4
2. TE Di	CNOLOGÍAS DE BIOGRANULACIÓN PARA EL TRATAMIENTO E AGUA RESIDUAL	5
2.1 M	ecanismo de la granulación aerobia	6
2.2 Fa	ctores que afectan la granulación aerobia	8
2.2.1	Composición del sustrato	9
2.2.2	Tiempo de sedimentación	10
2.2.3	Carga orgánica	12
2.2.4	Oxígeno disuelto y su difusión al interior del gránulo	12
2.2.5	Esfuerzo hidrodinámico de corte	14
2.2.6	Volumen de recambio en el reactor	15
2.2.7	Tiempo de retencion hidraulica	17
2.2.8	Fase de ayuno en la granulación aerobia	1/
2.2.9	Presencia de Calcio (Ca ⁺²) en la alimentación	18
2.2.10	Estrategia intermitente de alimentacion	19
2.2.11	pH y temperatura	19
2.2.12	Procedencia del inoculo	19
2.2.13	Configuracion del reactor	20
2.3 In	hibición de la granulación aerobia	22

2.4 Características de los gránulos aerobios



23



2.4.1	Morfología	24
2.4.2	Sedimentabilidad	24
2.4.3	Densidad y consistencia	25
2.4.4	Hidrofobicidad celular superficial	25
2.4.5	Contenido de sustancias poliméricas extracelulares (EPS)	26
2.4.6	Tasa específica de utilización de oxígeno	27
2.4.7	Estabilidad al almacenamiento	28
2.5 Es	tructura y diversidad microbiana en los gránulos aerobios	29
2.5.1	Estructura microbiana	29
2.5.2	Diversidad microbiana	30
2.5.3	Presencia de bacterias filamentosas	33
2.6 A1	plicaciones de la granulación aerobia	38
2.6.1	Tratamiento de aguas residuales con alta carga contaminante	38
2.6.2	Remoción simultánea de materia orgánica y nitrógeno	39
2.6.3	Remoción biológica de fósforo	40
2.6.4	Tratamiento de aguas residuales que contienen fenol	41
2.6.5	Remoción de material particulado	42
	, , ,	
3. RI	EMOCIÓN DE NITRÓGENO MEDIANTE GRÁNULOS AEROBIOS	44
3.1 Ni	trificación y desnitrificación	46
3.2 Gi	anulación aerobia en reactores SBR para remoción de nitrógeno	48
3.3 Ca	racterísticas de los reactores SBR	55
4. M	ETODOLOGÍA	59
4.1 Cı	ultivo de gránulos aerobios	60
	C C C C C C C C C C C C C C C C C C C	
4.2 Re	eactor SBR airlift Características del reactor	60 62
7.2.1		02
4.3 Co	omposición del agua residual sintética	63
4.4 La	carga orgánica como parámetro de operación	64
4.5 Es	trategia del trabajo experimental	65
4.6 M	uestreos	67
4.7 Té	ecnicas analíticas	68





5. R	ESULTADOS	70
5.1 R	esultados en el reactor SBR convencional	70
5.1.1	Morfología y capacidad de sedimentación de los gránulos	71
5.1.2	Demanda química de oxígeno y carga orgánica	73
5.1.3	Sólidos suspendidos totales en el reactor e índice volumétrico de lodos	74
5.1.4	Nitrógeno amoniacal, nitrato y nitrito	75
5.2 O	peración del reactor airlift SBAR	76
5.2.1	Morfología de los gránulos aerobios	78
5.2.2	Comportamiento de la carga orgánica (C.O)	78
5.2.3	Sólidos suspendidos totales (SST) y tiempo de retención celular (TRC)	82
5.2.4	Índice volumétrico de lodos (IVL)	85
5.2.5	Demanda química de oxígeno (DQO_d)	87
5.2.6	Tasa de específica de remoción de materia orgánica	90
5.2.7	Fósforo como ortofosfato (P-PO ₄ -3)	92
5.3 R	emoción del nitrógeno del agua residual	93
5.4 Pe	erfiles de DQO _d , N-NH ₄ , N-NO ₃ y OD	101
5.4.1	Perfiles bajo condiciones aerobias	102
5.4.2	Perfiles bajo condiciones aerobias/anóxicas	104
5.5 C	antidad de nitrógeno Kjeldhal y SST en la biomasa	109
6. C	ONCLUSIONES	111
7. B	IBLIOGRAFÍA	115
ANE	XOS	123





LISTA DE FIGURAS

		Pág.
Figura 2.1	Proceso de granulación aerobia desde la inoculación hasta la obtención de gránulos (a) día 7 – lodos activados, (b) día 22, (c) día 52, (d) estado estacionario (McSwain <i>et al</i> , 2004b)	8
Figura 2.2	Microestructuras de gránulos aerobios alimentados con (a) glucosa y (b) acetato. (Tay <i>et al</i> , 2001a)	10
Figura 2.3	Influencia del tiempo de sedimentación en la granulación; en un reactor SBR. (Beun <i>et al</i> , 2002; McSwain, 2005)	11
Figura 2.4	Perfiles de Oxígeno Disuelto – OD en gránulos con diferentes radios: Condiciones de presencia de sustrato O Condiciones de ausencia de sustrato. (Li <i>et al</i> , 2008a)	14
Figura 2.5	Esquema de un reactor SBR. (Wang <i>et al</i> , 2006)	16
Figura 2.6	Patrones de flujo en un reactor SBR de flujo ascendente (a) y un reactor completamente mezclado (b). (Liu y Tay, 2002)	21
Figura 2.7	Representación esquemática de las sustancias poliméricas extracelulares que influyen en la granulación. (Liu <i>et al</i> , 2004c)	26
Figura 2.8	Análisis de la estructura de un gránulo aerobio, distribución de la biomasa en un gránulo maduro (NSO = verde, organismos nitrificantes; EUB = azul, organismos heterotróficos; PAO = rojo, organismos acumuladores de fósforo). (De Kreuk <i>et al</i> , 2005a; De Kreuk y De Bruin, 2004)	30
Figura 2.9	(a) Sección granular teñida (verde = células vivas; rojo = células muertas). (b) distribución de la biomasa dentro de un gránulo maduro – simulación realizada con un modelo ASM de lodo granular aerobio. (c) distribución de la biomasa en un granulo madura de acuerdo con una simulación en 2D basada en modelamiento de la granulacion aerobia (rojo = PAOs – acumuladoras de fósforo; verde = oxidantes de NH ₄ ⁺ ; amarillo = oxidantes de NO ₂ ⁻ ; gris = inerte). (De Kreuk <i>et al</i> , 2007)	32





- **Figura 2.10** Coexistencia de bacterias filamentosas y no-filamentosas en gránulos 33 cultivados con acetato. (Liu y Liu, 2006)
- **Figura 2.11** Crecimiento excesivo de microorganismos filamentosos en gránulos aerobios 34 cultivados con agua residual doméstica. (Liu y Liu, 2006)
- **Figura 2.12** Fluctuación del tiempo de retención celular en un reactor SBR para 35 granulación aerobia. (Liu y Liu, 2006)
- **Figura 2.13** Cambios en la relación So/Xo, en la operación de un reactor SBR para 36 granulación aerobia. (Liu y Liu, 2006)
- **Figura 2.14** Tasa de crecimiento específico de bacterias filamentosas y bacterias formadoras de flóculos vs. Concentración de sustrato. (Liu y Liu, 2006)
- **Figura 2.15** Morfología de los gránulos alimentados con glucosa a diferentes cargas 38 orgánicas. (a) 6 kg DQO.m⁻³.día⁻¹ (b) 15 kg DQO.m⁻³.día⁻¹. (Moy *et al*, 2002)
- **Figura 2.16** Morfología del lodo (a) inóculo; (b) gránulos aerobios obtenidos con una 39 relación N/DQO de 5/100; (c) N/DQO = 10/100; (d) N/DQO = 20/100; (e) N/DQO = 30/100; Barra: 1mm. (Yang *et al*, 2003)
- Figura 2.17 Morfología de gránulos desarrollados a diferentes relaciones P/DQO (a) 1/100; (b) 2.5/100; (c) 5/100; (d) 7.5/100; (e) 10/100. Barra: 2 mm. (Lin *et al*, 2003) 40
- **Figura 2.18** Evolución de la granulación aerobia a partir de agua residual con alto contenido de material orgánico particulado (izquierda: primera semana de operación derecha: cuarta semana de operación. (Schwarzenbeck *et al*, 2004)
- **Figura 3.1** Representación esquemática de la estructura en capas de los gránulos 46 aerobios (De Kreuk, 2006)
- Figura 3.2 Perfiles de concentración de sustrato al interior de los gránulos aerobios en un reactor SBR. a. Periodo de abundancia de sustrato. b. periodo de escasez de sustrato. Ac=Acetato de sodio, PHB=Poli-β-hidroxibutirato, δ0=Penetración del oxígeno dentro del gránulo. (De Kreuk, 2006)
- **Figura 3.3** Decrecimiento de la zona anóxica con el decrecimiento del tamaño del gránulo, teniendo una concentración de OD constante. a). Gránulo grande, 50 b). Gránulo pequeño. (De Kreuk *et al*, 2005a)
- **Figura 3.4** Perfiles de nitrificación y remoción de DQO mediante gránulos aerobios en reactores SBR operados a diferentes relaciones N/DQO; R1 = 5/100, R2 = 10/100, R3 = 20/100, R4 = 30/100. (Yang *et al*, 2003) 51
- **Figura 3.5** Representación esquemática de la nitrificación/desnitrificación simultánea ₅₂ en gránulos aerobios. (Li *et al*, 2008a)





Figura 3.6	Diferentes vistas de los gránulos maduros cultivados bajo condiciones alternantes aerobias - anóxicas. (Qin <i>et al</i> , 2005).	53
Figura 3.7	Perfiles de nitrógeno y DQO en reactores SBR (R1 – R4) usando una fuente de carbono externa. (a) R1 = 0.15 kg N-NH ₄ ⁺ /m ³ .d, (b) R2 = 0.25 kg N-NH ₄ ⁺ .m ⁻³ .d ⁻¹ , (c) R3 = 0.35 kg N-NH ₄ ⁺ .m ⁻³ .d ⁻¹ , (d) R4 = 0.45 kg N-NH ₄ ⁺ .m ⁻³ .d ⁻¹ . \blacksquare DQO; \diamond N-NH ₄ ; \triangle N-NO ₂ ; \blacktriangle N-NO ₃ . (Qin <i>et al</i> , 2006)	54
Figura 3.8	Operación de un reactor SBR. La configuración de las fases depende de los objetivos del tratamiento. (McSwain, 2005; Irvine y Ketchum, 1989)	56
Figura 4.1	Zonas en un reactor airlift. (Wang et al, 2005b)	61
Figura 4.2	Reactor airlift, diseñado y construido para esta investigación.	62
Figura 4.3	Etapas de un ciclo de operación del reactor airlift	66
Figura 5.1	Gránulos aerobios obtenidos en un reactor SBR. a). 36 días b). 66 días c). 87 días.	72
Figura 5.2	Prueba de sedimentación de los gránulos aerobios a). 0 s b). 10 s c). 30s d). 50s e). 70s. f). 90s	72
Figura 5.3	DQO _d en el influente y efluente	73
Figura 5.4	Carga orgánica en el tiempo	73
Figura 5.5	Sólidos suspendidos totales en el reactor e índice volumétrico de lodos - IVL	74
Figura 5.6	Nitrógeno amoniacal en influente y efluente, nitrato y nitrito en el efluente	75
Figura 5.7	Reactor SBAR a nivel laboratorio	77
Figura 5.8	Morfología de los gránulos aerobios en el reactor <i>airlift</i> . a) 35 días b) 43 días c) 52 días.	78
Figura 5.9	Valores de carga orgánica en el reactor airlift SBR	79
Figura 5.10	Comportamiento de la carga orgánica y sólidos suspendidos totales en el reactor	80
Figura 5.11	Morfología de lodo granular (nuevo arranque). a) día 91. b) día 126. c) día 140	81
Figura 5.12	Comportamiento en el tiempo de los SST en el reactor y efluente y tiempo de retención celular (d)	83
Figura 5.13	Presencia de gránulos (parte inferior) y flóculos (parte superior) durante la fase de sedimentación en el reactor <i>airlift</i>	84
Figura 5.14	Comportamiento del tiempo de retención celular de acuerdo con la carga	85



orgánica

Figura 5.15	Comportamiento en el tiempo del índice volumétrico de lodos	86
Figura 5.16	DQO _d en influente y efluente y remoción	87
Figura 5.17	Comportamiento de la remoción de DQO_d con respecto a la carga orgánica	89
Figura 5.18	Comportamiento de la tasa de remoción de DQO_{d} con respecto a la carga orgánica	91
Figura 5.19	Fósforo (como ortofosfato) alimentado al reactor y en el efluente	92
Figura 5.20	Comportamiento de los compuestos nitrogenados en el influente y efluente	94
Figura 5.21	Comportamiento de la carga de nitrógeno amoniacal en el tiempo	95
Figura 5.22	Comportamiento de la remoción de nitrógeno amoniacal con respecto a la carga de nitrógeno amoniacal	96
Figura 5.23	Comportamiento de la remoción de nitrógeno amoniacal con respecto a la carga orgánica	97
Figura 5.24	Remoción de nitrógeno inorgánica con respecto a la carga orgánica	98
Figura 5.25	Variación de la proporción de amonio-amoníaco con el pH (Chevallier y Toribio, 2006)	100
Figura 5.26	Temperatura, concentración de oxígeno disuelto y pH en el reactor	101
Figura 5.27	Perfiles de concentración de N-NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ (a) y DQO (b) – bajo condiciones aerobias con una carga orgánica promedio de 0.36 kgDQO.kgSST ⁻¹ .d ⁻¹	103
Figura 5.28	Perfiles de concentración de N-NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ (a) y DQO (b) – bajo condiciones aerobias/anóxicas con una carga orgánica promedio de 0.43 kgDQO.kgSST ⁻ 1 .d ⁻¹	106
Figura 5.29	Perfiles de concentración de N-NH ₄ ⁺ , NO ₃ ⁻ (a) y DQO (b) – bajo condiciones aerobias/anóxicas con una carga orgánica de $0.26 \text{ kgDQO.kgSST}^{-1}$.d ⁻¹	108





LISTA DE TABLAS

		Pág.
Tabla 3.1	Efectos de la exposición cíclica de los microorganismos a las diferentes condiciones en la operación del reactor (Wilderer <i>et al</i> , 2001)	57
Tabla 4.1	Horarios y duración del ciclo de operación en un día – reactor SBR	60
Tabla 4.2	Composición del agua residual sintética	63
Tabla 4.3	Horarios y duración del ciclo de operación en un día – reactor SBAR	67
Tabla 4.4	Carga orgánica durante las etapas de la experimentación	67
Tabla 4.5	Tipo y frecuencia de muestreo	68
Tabla 4.6	Técnicas Analíticas para la determinación de variables de seguimiento del sistema	69
Tabla 5.1	Parámetros de operación para el reactor SBR	71
Tabla 5.2	Parámetros de operación para el reactor SBAR	77
Tabla 5.3	Determinaciones de NK (nitrógeno Kjeldhal) y SST	109
Tabla I	Resultados obtenidos para el reactor SBR convencional para el cultivo de gránulos aerobios.	124
Tabla II	Resultados obtenidos para el reactor SBAR	126





RESUMEN

Titulo: Eliminación de nitrógeno amoniacal y nitratos usando gránulos aerobios.

El uso de sistemas con biomasa granular obtenida en condiciones aerobias/anóxicas es relativamente reciente. Diversos estudios reportan el hallazgo de zonas aerobias y anóxicas en el interior de los gránulos. La oxidación de la materia orgánica y la nitrificación se producen en la parte externa del gránulo donde se dan condiciones aerobias, mientras que la desnitrificación se realizará en la parte interna. Por tanto, dentro del gránulo tendrá lugar una distribución de diferentes poblaciones autótrofas y heterótrofas.

Este trabajo tuvo como objetivo analizar y evaluar las características de un sistema de gránulos aerobios a nivel de laboratorio para eliminar nitrógeno amoniacal y nitrato ajustando las condiciones de operación.

Los gránulos aerobios fueron cultivados durante100 días en un reactor SBR convencional bajo una carga orgánica promedio de 0.40 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (0.70 kgDQO.m⁻³.d⁻¹). Los gránulos presentaban buena sedimentabilidad, consistencia y una forma definida con un IVL entre 45 y 48 ml/g y un tiempo de sedimentación de 1.5 min. Seguidamente, se inoculó un reactor SBR *airlift* con los gránulos obtenidos y se ajustaron las condiciones de operación para lograr la remoción del nitrógeno amoniacal del agua residual. El reactor SBR *airlift* fue operado durante 173 días. Inicialmente se operó bajo condiciones aerobias con una carga orgánica promedio de 0.36 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (0.36 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) y se obtuvo una remoción de DQO_d y de nitrógeno amoniacal de 80 y 79 %, respectivamente. Después, sustituyendo aire por nitrógeno, se implementó una fase anóxica en la operación del reactor con el fin de lograr la efectiva remoción del nitrógeno del agua residual mediante nitrificación y desnitrificación.

Bajo condiciones aerobias/anóxicas, bajo cargas orgánicas de 0.43 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (0.44 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) y 0.26 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (0.19 kgDQO.m⁻³.d⁻¹), se lograron satisfactoriamente la nitrificación y desnitrificación sin la adición de un sustrato exógeno durante la fase anóxica.

En la etapa final de experimentación, bajo una carga orgánica de 0.17 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (0.19 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) se observaron gránulos aerobios inestables que presentaban una forma poco regular con un IVL entre 50 y 100 ml/g que eventualmente se desintegraron obteniéndose un lodo en su mayor parte floculento y se obtuvo una remoción de DQO_d de 80 %.

El tiempo de retención celular se comportó de acuerdo con la carga orgánica de la siguiente manera: a medida que la carga orgánica aumenta, el tiempo de retención celular disminuye y viceversa.

Al disminuir la carga orgánica disminuyó la carga de nitrógeno amoniacal y por tanto aumentó la remoción de nitrógeno amoniacal.

Palabras clave: gránulos aerobios, carga orgánica, nitrificación, desnitrificación.





ABSTRACT

Title: "Ammonium and nitrate removal using aerobic granules".

The use of granular biomass systems under aerobic/anoxic conditions is relatively recent. Several studies report the presence of aerobic and anoxic zones within the granules. The oxidation of organic matter and nitrification occur in the granule exterior that offer aerobic conditions, while denitrification is carried out inside. Therefore, within the granule will be a different distribution of autotrophic and heterotrophic populations.

The aim of this study was to analyze and evaluate the characteristics of a system of aerobic granules at laboratory scale to remove ammonium and nitrate by adjusting the operating conditions.

The aerobic granules were cultivated over 100 days in a conventional SBR reactor with a COD loading rate of 0.40 kgCOD.kgTSS⁻¹.d⁻¹ (0.70 kgCOD.m⁻³.d⁻¹). The granules presented good settle ability, consistency and well defined shape with an IVL between 45 and 48 ml/g and sedimentation time of 1.5 min. After, a Sequencing Batch Airlift Reactor (SBAR) was inoculated with obtained granules and operating conditions were adjusted to achieve the removal of ammonium from wastewater. The SBAR was operated for 173 days, initially with a COD loading rate of 0.36 kgCOD.kgTSS⁻¹.d⁻¹ (0.36 kgCOD.m⁻³.d⁻¹), it was obtained an ammonium and COD_{dissolved} removal rate of 80 and 79 %, respectively. After replacing air by nitrogen gas, it was implemented an anoxic phase in the operation of the reactor to achieve the effective removal of ammonium from wastewater by nitrification and denitrification.

Under alternating aerobic/anoxic conditions with COD loading rate of 0.43 kgCOD.kgTSS⁻¹.d⁻¹ (0.44 kgCOD.m⁻³.d⁻¹) and 0.26 kgCOD.kgTSS⁻¹.d⁻¹ (0.19 kgCOD.m⁻³.d⁻¹), it was successfully achieved nitrification and denitrification without adding an exogenous substrate during anoxic phase.

In the final experimental stage with a COD loading rate of 0.17 kgCOD.kgTSS⁻¹.d⁻¹ (0.19 kgCOD.m⁻³.d⁻¹) unstable aerobic granules with an irregular shape and an IVL between 50 and 100 ml/g were obtained. The granular sludge was eventually disintegrated in a mostly flocculent sludge. It was obtained a COD_{dissolved} removal rate of 80 %.

The cell retention time behaved in accordance with the organic load in the following way: As the organic load increases, the cell retention time decreases and vice versa.

By reducing the COD loading rate, decreased the ammonium loading rate and therefore the ammonium removal was increased.

Keywords: aerobic granules, organic load, nitrification, denitrification.





1. INTRODUCCIÓN

Muchas plantas de tratamiento de aguas residuales alrededor del mundo utilizan procesos de lodos activados para tratamiento secundario; en ellos, el agua residual contiene material particulado suspendido y disuelto, ésta es mezclada con lodos biológicamente activados en tanques aireados, y la biomasa consume los constituyentes orgánicos e inorgánicos del agua residual como fuentes de carbono y nutrientes. En muchas plantas de tratamiento convencional, el agua residual entra y deja el reactor de lodos activados continuamente, el cual puede denominarse como reactor continuamente agitado (CSTR - Continuos Stir Tank Reactor) o reactor de flujo completamente mezclado (CMFR - Complete Mix Flow Reactor). El efluente del tanque de lodos activados pasa a un sedimentador donde la biomasa es separada del agua residual tratada por acción de la gravedad. El tiempo de sedimentación depende de la estructura física de la biomasa, y éste es un factor limitante para el dimensionamiento de la planta de aguas de tratamiento debido a que altos tiempos de sedimentación implican volúmenes grandes para los tanques de sedimentación. Cuando la biomasa se encuentra en forma de flóculos densos, estos sedimentan rápidamente bajo condiciones estables, permitiendo que el efluente sea descargado libre de ésta. En caso contrario, cuando la biomasa se encuentra en forma de flóculos ligeros y filamentosos, la





separación del efluente tratado es más difícil; y éste es descargado junto con la biomasa, causando que el sistema colapse. Por lo tanto, la eficacia de los procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales depende de la selección y crecimiento de microorganismos metabólicamente efectivos y de la eficacia en la separación de dichos microorganismos del efluente tratado (McSwain, 2005).

Como una alternativa a los reactores de flujo completamente mezclado (CMFR) se han desarrollado procesos periódicos empleando reactores secuenciales discontinuos SBR (Sequencing Batch Reactor). Este proceso se lleva a cabo por fases, las cuales implican la alimentación intermitente, seguida de una fase de aireación, una fase de sedimentación de la biomasa y finalmente una fase en la cual se drena el efluente tratado del sistema. En varios estudios se ha encontrado un amplio intervalo de beneficios y aplicaciones de los reactores tipo SBR, usados también para el control del crecimiento de microorganismos filamentosos, el mejoramiento de la sedimentabilidad del lodo usado y la obtención de estructuras más compactas dando lugar a la formación de gránulos aerobios (Liu y Liu, 2006; Qin y Liu, 2006; Qin *et al*, 2004a; Beun *et al*, 1999; Morgenroth *et al*, 1997).

Durante los últimos 20 años de investigaciones en el campo de tratamiento biológico de aguas residuales se ha evidenciado que el uso de biopelículas es más eficiente en el tratamiento del agua residual que los sistemas de lodos activados (Adav *et al*, 2008). Los <u>gránulos aerobios</u> han sido descritos como agregados de células auto-inmovilizadas en una forma casi esférica, y son considerados como un caso especial de crecimiento de biopelícula (Liu y Tay, 2004; Beun *et al*, 2000). En general los gránulos aerobios poseen un amplio intervalo de propiedades benéficas para el tratamiento de aguas residuales comparado con el proceso convencional de lodos activados; éstas incluyen una estructura regular, densa y fuerte, buena sedimentabilidad, alta retención de la biomasa y la habilidad para soportar altas cargas orgánicas (Li *et al*, 2006; De Bruin *et al*, 2004; Liu y Tay, 2004; Etterer y Wilderer, 2001). Aunque la granulación aerobia en aguas residuales es relativamente nueva, la granulación anaerobia usando reactores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) es uno de los procesos de auto-inmovilización de células más conocido y ha sido ampliamente aplicado en el tratamiento anaerobio de aguas residuales. En investigaciones tanto de la granulación





aerobia como de la anaerobia se ha encontrado gran variedad de especies microbianas presentes incluyendo bacterias metanogénicas, acidogénicas, nitrificantes, heterótrofas con la capacidad de desnitrificar que son capaces de formar gránulos (Qin y Liu, 2006; Morgenroth, 1997). Estas investigaciones han conducido a concluir que la granulación no es una función de las especies bacterianas presentes sino de las condiciones de operación del reactor (Li *et al*, 2007; Jang *et al*, 2003; Beun *et al*, 1999).

La granulación aerobia ha sido reportada en reactores continuos *Airlift* de Biopelícula (BAS) que poseen un material de soporte para adhesión de la biopelícula (Beun *et al*, 2002). Sin embargo, la granulación aerobia de biomasa suspendida es principalmente reportada en sistemas SBR; hasta ahora, la investigación de los factores necesarios en la granulación aerobia se ha centrado en el efecto del tiempo de sedimentación, del esfuerzo cortante, la carga orgánica, la composición del sustrato, la temperatura de operación, el efecto de condiciones de ayuno y alimentación intermitente en el ciclo de operación de los reactores SBR, la tasa de recambio en el reactor, la velocidad del flujo del aire y el diseño del reactor en la formación y estructura de los gránulos aerobios (Adav *et al*, 2008; Chen *et al*, 2007a; Zitomer *et al*, 2007; Li *et al*, 2006, Liu y Tay, 2006; De Kreuk *et al*, 2005b; Liu *et al*, 2005a, b; McSwain *et al*, 2004a; Liu y Tay, 2004; Liu y Tay, 2002).

En general, se reportan estudios realizados con gránulos aerobios para el tratamiento de agua residual sintética usando como fuentes de carbono: acetato de sodio, glucosa, etanol, fenol, sucrosa (Adav *et al*, 2008; Li *et al*, 2007; De Kreuk *et al*, 2005b; Liu *et al*, 2005a; Etterer y Wilderer, 2001; Beun *et al*, 1999; Peng *et al*, 1999). Sin embargo, en años recientes se ha investigado el desarrollo de gránulos aerobios capaces de participar en la eliminación de nutrientes (N y P) usando reactores SBR y se ha encontrado que algunas bacterias heterótrofas y nitrificantes pueden coexistir satisfactoriamente en los gránulos formados. Investigaciones realizadas muestran que los problemas que se presentan en los sistemas de biomasa suspendida para la eliminación de nutrientes, tales como abultamiento del lodo, grandes áreas requeridas para el tratamiento, lavado de la biomasa nitrificante, la necesidad de un clarificador secundario para la liberación del P y alta producción de lodos podrían superarse con el desarrollo y aplicación de gránulos para remover N y gránulos





acumuladores de P (Qin y Liu, 2006; Cassidy y Belia, 2005; De Kreuk *et al*, 2005a; Liu y Tay, 2004; Gieseke *et al*, 2002).

En este estudio se busca analizar y evaluar las características de un sistema de gránulos aerobios cultivados para eliminar nitrógeno amoniacal y nitrato ajustando condiciones de operación, teniendo en cuenta la densidad, tamaño y forma de los gránulos, con el fin de controlar las variables que determinan la operación y efectiva formación de éstos. Para esto se determinarán las condiciones bajo las cuales los gránulos aerobios logran la oxidación de nitrógeno amoniacal a nitrato y las condiciones anóxicas con las que el nitrato es reducido a nitrógeno molecular.

1.1 Objetivos

⇒ <u>Objetivo General</u>

Analizar y evaluar las características de un sistema de gránulos aerobios para eliminar nitrógeno amoniacal y nitrato ajustando las condiciones de operación.

1.2 Alcance principal

El trabajo experimental se realizará a nivel laboratorio y se utilizará un reactor *airlift* el cual será alimentado con agua residual sintética; en este reactor se logrará la formación de gránulos aerobios capaces de remover el nitrógeno del agua residual. El principal parámetro de operación que se tendrá en cuenta es la carga orgánica (kgDQO.kgSST-1.d-1).





2. TECNOLOGÍAS DE BIOGRANULACIÓN PARA EL TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL

La biogranulación implica interacciones célula a célula que incluyen fenómenos físicos, químicos y biológicos; en ella se obtienen gránulos que se forman a través de autoinmovilización por parte de los microorganismos. Estos gránulos son densos consorcios microbianos agrupados en los cuales se presentan diferentes especies y posee muchos microorganismos por gramo de biomasa, los cuales parecen desempeñar diferentes papeles en la degradación del agua residual. A diferencia del proceso convencional de lodos activados, los gránulos poseen una estructura fuerte, regular y densa con buenas propiedades de sedimentación, los cuales permiten una alta retención de biomasa soportando aguas residuales altamente contaminadas y choques de carga orgánica.

La biogranulación puede ser llevada a cabo en condiciones aerobias o anaerobias. La formación de los gránulos anaerobios ha sido la más estudiada y reconocida en los reactores UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket) que han sido aplicados en varias plantas alrededor del mundo (Lettinga *et al*, 1980). Los lodos anaerobios granulares están formados por gran variedad de comunidades bacterianas que típicamente incluyen enormes cantidades de





organismos contenidos en los gránulos formados. Ninguna de las especies involucradas es capaz de llevar a cabo la degradación completa del influente a tratar; por ello este proceso implica la interacción entre todas las especies residentes. Es así que los reactores de lodos granulares son utilizados en los tratamientos biológicos de aguas residuales debido al gran numero de microorganismos que pueden ser mantenidos dentro de éstos. Lo anterior implica que la transformación de los contaminantes es rápida; por lo tanto, grandes cantidades de agua residual pueden ser tratadas en biorreactores compactos. En los reactores de lodos granulares, el gran tamaño y la alta densidad de los gránulos causa que éstos sedimenten rápidamente, lo cual simplifica la separación del agua tratada de la biomasa.

La tecnología de la granulación anaerobia podría presentar algunas desventajas que incluyen la necesidad de un periodo largo de arranque, una temperatura de operación relativamente alta; además, esta tecnología no es adecuada para el tratamiento de aguas residuales con baja carga contaminante y tampoco lo es para la remoción de nutrientes (N y P). Debido a esto, se ha estudiado la granulación aerobia en reactores SBR y ha sido utilizada para el tratamiento de aguas residuales que contienen una alta cantidad de materia orgánica, nitrógeno, fósforo y sustancias tóxicas (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2004).

2.1 Mecanismo de la granulación aerobia

La granulación aerobia ha sido reconocida como un proceso de auto-inmovilización de microorganismos sin el uso de un soporte similar a la formación de biopelículas. La formación de los gránulos aerobios es un proceso que implica varias etapas para la adecuada agregación de los microorganismos, la cual implica la participación de fuerzas fisicoquímicas y biológicas. De acuerdo con lo anterior se han propuesto una serie de etapas para la formación de los gránulos aerobios (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2002):

 <u>Etapa 1</u>: Movimiento físico para iniciar el contacto bacteria – bacteria por fuerzas hidrodinámicas, de difusión, de gravedad, termodinámicas como el movimiento browniano y movilidad celular; las células pueden moverse mediante flagelos, cilios y





seudópodos. Se ha encontrado que dicha movilidad celular es importante en la interacción inicial con la superficie y el movimiento a través de ésta en la formación de biopelículas.

Etapa 2: Fuerzas de atracción iniciales que mantienen estable el contacto bacteria – bacteria, éstas incluyen *fuerzas físicas* como fuerzas de Van der Waals (fuerzas debido a cargas electrostáticas), tensión superficial, energía libre en la superficie, hidrofobicidad celular, puentes entre bacterias debido a organismos filamentosos, *fuerzas químicas* como puentes de hidrógeno, formación de pares iónicos y puentes intermoleculares, *fuerzas bioquímicas* como deshidratación de la superficie celular y fusión de la membrana celular bacteriana.

En esta etapa, la hidrofobicidad celular juega un papel importante en la iniciación de la granulación aerobia (Liu *et al*, 2004a; 2003b; Van Loosdrecht *et al*; 1987). De acuerdo con la teoría termodinámica, el incremento de la hidrofobicidad celular causa un decrecimiento en la energía libre de Gibbs en exceso de la superficie microbiana, esto promoverá las interacciones célula – célula y por lo tanto sirve como una fuerza impulsora para la auto-agregación bacteriana. Además, en esta etapa las bacterias filamentosas ayudan en la construcción de la estructura tridimensional de los gránulos, la cual provee una estructura estable para el crecimiento de las bacterias adheridas (Liu *et al*, 2004b).

- Etapa 3: Fuerzas microbianas para formar agregados bacterianos maduros. En esta etapa se presenta la producción de polímeros extracelulares (exopolisacáridos EPS); además, se presentan cambios metabólicos y competencia inducida por las condiciones ambientales, las cuales facilitan las interacciones microbianas célula célula que finalmente dan como resultado gránulos con alta densidad de células adheridas (Chen *et al*, 2007b; Liu *et al*, 2005b).
- <u>Etapa 4</u>: Estabilidad de la estructura tridimensional formada de los gránulos aerobios mediante los esfuerzos hidrodinámicos cortantes. La forma y tamaño de los gránulos





resultará de la interacción entre éstos y el esfuerzo de corte, las especies microbianas presentes y la carga orgánica empleada en el reactor.

Para que los agregados microbianos se formen se deben tener en cuenta ciertos factores que influyen en sus características y estructura. En estudios realizados se ha demostrado que el esfuerzo hidrodinámico de corte juega un papel importante en la estructura y metabolismo de los gránulos aerobios. Además, se ha encontrado que ejercer presión de selección sobre el sistema, es también un factor que influencia la formación y estabilidad de los gránulos aerobios (Liu *et al*, 2005b; Wang *et al*, 2004).

Los gránulos aerobios pueden ser descritos como agregados microbianos densos y compactos con una forma casi esférica (Yang *et al*; 2004a; Liu y Tay, 2002). La granulación microbiana puede ser definida como la agrupación de células para formar asociaciones multicelulares, estables bajo condiciones fisiológicas definidas. Los resultados obtenidos a través de las investigaciones realizadas indican que la granulación aerobia es un proceso gradual desde la inoculación hasta la obtención de agregados compactos y gránulos maduros como se observa en la figura 2.1 (Liu y Tay, 2004; Tay *et al*, 2001a).



Figura 2.1. Proceso de granulación aerobia desde la inoculación hasta la obtención de gránulos (a) día 7 – lodos activados, (b) día 22, (c) día 52, (d) estado estacionario. *Fuente: McSwain et al,* 2004*b*.

2.2 Factores que afectan la granulación aerobia

Muchos factores son los responsables de la formación y estabilidad de los gránulos aerobios, pero a lo largo de las investigaciones realizadas no se ha determinado cuál factor es el más dominante. Recientes estudios se han centrado en el estudio de temas tales como:





- a) la apariencia y consistencia de los agregados obtenidos
- b) la selección mediante la velocidad y tiempo de sedimentación
- c) el esfuerzo cortante aplicado
- d) la tasa de crecimiento de los microorganismos
- e) el gradiente de sustrato dentro del gránulo
- f) la difusión de oxígeno dentro del gránulo
- g) la concentración de sustancias poliméricas extracelulares (EPS)
- h) el tipo de sustrato alimentado
- i) la relación C/N y N/P

La formación de gránulos aerobios a nivel de laboratorio generalmente ocurre con un régimen de estricta selección para obtener buenos resultados en la sedimentabilidad y morfología de éstos manteniendo cortos tiempos de sedimentación. Los agregados microbianos obtenidos son mantenidos en el reactor, mientras los demás organismos serán evacuados con el efluente. Para la obtención efectiva de gránulos aerobios cultivados se deben tener en cuenta diversos factores que influyen en su apariencia, densidad, consistencia, estructura y diversidad microbiana.

2.2.1 Composición del sustrato

Los gránulos aerobios han sido cultivados en una gran variedad de sustratos tales como glucosa, acetato, etanol, fenol y agua residual sintética. Sin embargo, la estructura de los gránulos obtenidos parece estar relacionada con la fuente de carbono proporcionada, influenciando la estabilidad y composición microbiana de los mismos (Jiang *et al*, 2004, 2002; Moy *et al*, 2002; Tay *et al*, 2001a; Beun *et al*, 1999; Peng *et al*, 1999). En los gránulos alimentados con glucosa proliferaron estructuras filamentosas mientras en los gránulos alimentados con acetato se observó una estructura más compacta (ver figura 2.2).







Figura 2.2. Microestructuras de gránulos aerobios alimentados con (a) glucosa y (b) acetato. *Fuente: Tay et al,* 2001*a.*

Además, se han cultivado gránulos aerobios para nitrificación en presencia de sustratos inorgánicos (Tsuneda *et al*, 2003; Tay *et al*, 2002c). Estos gránulos nitrificantes mostraron una excelente habilidad para la nitrificación. Recientemente, se han desarrollado gránulos aerobios a escala laboratorio en un reactor SBR para el tratamiento de aguas residuales con materia orgánica particulada (Schwarzenbeck *et al*, 2004).

Actualmente, las investigaciones en granulación aerobia se han centrado en las características, formación y estabilidad de los gránulos aerobios, usando sustratos tales como agua residual domestica, agua residual proveniente de lugares de sacrificio de animales, agua residual de la industria cervecera y de la industria del papel; con ello buscando una amplia aplicación de esta tecnología (Adav *et al*, 2008; Hailei *et al*, 2006; Cassidy y Belia, 2005; Schwarzenbeck *et al*, 2005; Arrojo *et al*, 2004).

2.2.2 Tiempo de sedimentación

En un reactor SBR, el agua residual es tratada en ciclos sucesivos cada uno de pocas horas de duración; al final de cada ciclo, la biomasa es sedimentada antes de drenar el efluente tratado. El tiempo de sedimentación de los gránulos actúa como un factor de selección hidráulica sobre los agregados microbianos. Observando la figura 2.3, un tiempo de sedimentación corto selecciona los gránulos bacterianos que sedimentan rápidamente mientras la biomasa que no lo hace es evacuada junto con el efluente del reactor.









Figura 2.3. Influencia del tiempo de sedimentación en la granulación; en un reactor SBR. *Fuente: Beun et al,* 2002; *McSwain,* 2005.

Qin *et al* (2004b) estudiaron el efecto de tiempos de sedimentación entre 5 – 20 min. teniendo una longitud fija de descarga del efluente a 0.63 m (longitud total del reactor 1.27 m). Obtuvieron gránulos aerobios en los reactores operados a tiempos inferiores a 15 min, mientras que a tiempos superiores solamente se formaron flóculos. Además, encontraron que a 5 min. de sedimentación los gránulos poseen una velocidad de 7.6 m/h; lo cual significa que las partículas que poseen una velocidad de sedimentación inferior a ésta serán evacuadas con el efluente después de dicho tiempo de sedimentación.

Usando tiempos de sedimentación cortos se ha observado que se estimula la producción de polisacáridos extracelulares y la hidrofobicidad celular se incrementa. Por ello es importante, fijar un adecuado tiempo de sedimentación que pueda actuar como un factor de selección sobre el sistema influyendo en la formación y características de los gránulos resultantes (Qin *et al*, 2004b; Tay *et al*, 2001a).

El tiempo de sedimentación puede influenciar dos procesos microbianos: (1) mejorar la selección microbiana a través de la evacuación de aquellos microorganismos con velocidades de sedimentación bajas e (2) incrementar la producción de EPS para mejorar la adhesión celular (McSwain *et al*, 2004b).





2.2.3 Carga orgánica

El papel que tiene la carga orgánica en la granulación anaerobia ha sido reconocido ampliamente debido a que a elevadas cargas orgánicas se facilita la formación de gránulos anaerobios en reactores UASB. Sin embargo, en la granulación aerobia se ha encontrado que los gránulos aerobios se forman en un amplio intervalo de cargas orgánicas, desde 2.5 a 15 kg de DQO.m⁻³.d⁻¹; al parecer esto no influye en la granulación aerobia (Liu *et al*, 2003a; Moy *et al*, 2002). Si bien la carga orgánica no influye en la formación de los gránulos aerobios, si tiene una influencia significativa en las características físicas de los mismos. Se ha observado que al incrementar la carga orgánica de 3 a 9 kg de DQO.m⁻³.d⁻¹ el tamaño de los gránulos aumenta pero también se ha observado que al aumentar la carga orgánica de se incrementa su porosidad y puede ocurrir su desintegración (Chen *et al*, 2008; Liu *et al*, 2003b).

Estudios realizados acerca del efecto de la carga orgánica sobre los gránulos aerobios muestran que éste es un parámetro operacional que puede influenciar significativamente la ecología microbiana y el desempeño del proceso en los sistemas de este tipo. La carga orgánica puede afectar el proceso de granulación mediante la selección y enriquecimiento de diferentes especies bacterianas e influenciar el tamaño de los gránulos obtenidos. Se ha encontrado que una carga orgánica moderada favorece el desarrollo de gránulos estables (Tay *et al*, 2004a, b). Además, se ha reportado que bajo cargas orgánicas muy altas los gránulos se vuelven inestables (Liu y Liu, 2006; Zheng *et al*, 2006; Chen *et al*, 2008). Sin embargo, una alta carga orgánica es deseable en los sistemas de tratamiento biológico con el fin de tratar aguas residuales con altas cargas contaminantes y bajos requerimientos de espacio en una planta de tratamiento (Chen *et al*, 2008).

2.2.4 Oxígeno Disuelto y su difusión al interior del gránulo

El oxígeno disuelto (OD), es una variable importante en la operación de los sistemas de tratamiento aerobio; en estudios realizados se ha observado que los gránulos aerobios pueden ser formados tanto en concentraciones bajas de OD (0.7 a 1.0 mg/l) como en





concentraciones altas (>2 mg/l); por lo tanto, ésta no es una variable decisiva en la formación de los gránulos (Peng *et al*, 1999).

Sin embargo, los gránulos aerobios poseen una estructura compacta, debido a esto podría esperarse que se presentara una limitación en cuanto a la transferencia de masa desde el líquido hacia éstos; lo cual afectaría la estabilidad de los gránulos y probablemente causaría una reducción en la capacidad de tratamiento del reactor. En general, el sustrato puede penetrar más profundo que el (OD) oxígeno disuelto dentro del gránulo; esto implica que el la concentración de OD podría ser una limitante del proceso de granulación en lugar de la concentración del sustrato (Li *et al*, 2008a; Mosquera-Corral *et al*, 2005).

Li *et al* (2008a) investigaron la difusión del oxígeno en los gránulos aerobios con diferentes tamaños bajo condiciones de presencia de sustrato y ausencia de éste. Los resultados que se obtuvieron en esta investigación demuestran que el OD penetra parcialmente hasta 500 µm desde la superficie del gránulo cuando un sustrato está presente. Por el contrario, no existe una limitación en cuanto a la difusión del oxígeno dentro del gránulo (para gránulos con radios inferiores a 2.20 mm), cuando no existe un sustrato presente. Este estudio se llevó a cabo midiendo la difusión del oxígeno en gránulos aerobios en presencia de acetato de sodio como sustrato y en su ausencia.

La figura 2.4 muestra los perfiles de OD medidos en gránulos aerobios con varios radios en el rango de 0.45 – 2.20 mm. Para gránulos aerobios con radio de 0.45 mm, el OD puede difundirse en todo el gránulos bajo condiciones tanto de presencia de sustrato como ausencia del mismo; mientras que la concentración de OD bajo condiciones de ausencia de sustrato es mayor que la medida para el caso donde hay un sustrato presente. Para gránulos con un radio de 0.9 mm, el OD penetra hasta el centro del gránulo cuando está en ausencia de sustrato, mientras que en presencia de éste la concentración de OD cae a cero a una profundidad de 0.5 mm, más allá de donde podría presentarse una zona anaerobia dentro del gránulo (Li *et al*, 2008a).







Figura 2.4. Perfiles de Oxígeno Disuelto – OD en gránulos con diferentes radios: ● Condiciones de presencia de sustrato O Condiciones de ausencia de sustrato. *Fuente: Li et al, 2008a.*

2.2.5 Esfuerzo hidrodinámico de corte

Los estudios que se han realizados indican que el esfuerzo de corte favorece no solo la formación de los gránulos aerobios y su estabilidad (Tay *et al*, 2001a; Shin *et al*, 1992) sino que provee el suficiente oxígeno para ayudar a suprimir el crecimiento de microorganismos filamentosos para obtener una mayor estabilidad operacional del sistema a largo plazo (Adav *et al*, 2008).





Se ha encontrado que se obtienen gránulos más regulares, redondos y compactos cuando se usan altos esfuerzos hidrodinámicos de corte; en donde los gránulos se forman en un valor límite de esfuerzo de corte en términos de velocidad del aire alrededor de 1.2 cm/s en un reactor SBR (Tay *et al*, 2001a). Además, se ha observado que la densidad y consistencia de los gránulos también está relacionada con el esfuerzo de corte aplicado. Estas observaciones pueden implicar que la estructura de los gránulos aerobios esta principalmente influenciada por el esfuerzo hidrodinámico de corte presente en el reactor. Sin embargo, se conoce que los polisacáridos extracelulares pueden actuar como mediadores tanto en la adhesión como en la cohesión de las células en los agregados microbianos; además, están involucrados en el mantenimiento de la integridad estructural de los gránulos.

Algunos autores como Chen *et al* (2007a), Liu y Tay (2006, 2002) y Tay *et al* (2001b) sugieren que la producción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS), que incluyen proteínas y polisacáridos de α y β -D-glucopiranosa, está íntimamente asociada con el esfuerzo de corte y la estabilidad de los gránulos aerobios, debido a que al aumentar el esfuerzo de corte las bacterias son estimuladas a producir EPS; ya que estos polímeros extracelulares sirven como una matriz estructural, que puede contribuir a la obtención de una estructura granular más fuerte y compacta.

2.2.6 Volumen de recambio en el reactor

Con el fin de interpretar cual es la influencia del volumen de recambio en un reactor SBR sobre el proceso de granulación aerobia, se ha propuesto el concepto de velocidad de sedimentación mínima $(V_s)_{min}$, la cual es función tanto del tiempo de sedimentación como del volumen de recambio.

Wang *et al* (2006) demostraron el efecto del volumen de recambio en un reactor SBR sobre la granulación aerobia a través de la selección de la velocidad mínima de sedimentación de los gránulos, así ésta serviría como un factor de selección de los mismos.





En un reactor SBR (ver figura 2.5), los gránulos deben recorrer una distancia L (distancia entre superficie del agua y el nivel de vaciado del reactor), la cual está proporcionalmente relacionada con el volumen de recambio del reactor. Así, para un tiempo de sedimentación (t) determinado, los gránulos con velocidad de sedimentación menor que L/t serán evacuados junto con el efluente durante el vaciado, mientras aquellos con una velocidad mayor que L/t serán retenidos. Esto puede indicar que hay una velocidad de sedimentación mínima (V_s)_{min} en el reactor SBR que puede ser definida por:

$$(V_s)_{min} = \frac{L}{t}$$
(2.1)

Donde $(V_s)_{min}$ podría ser un factor de selección sobre el sistema que puede mejorar la granulación aerobia e influir en las propiedades de los gránulos formados tales como el tamaño, la forma y el IVL (índice volumétrico de lodos) (Li *et al*, 2008b; Wang *et al*, 2006).



Figura 2.5. Esquema de un reactor SBR. Fuente: Wang et al, 2006.

La velocidad de sedimentación típica de los lodos activados convencionales es generalmente menor que 5 m/h (Wang *et al*, 2006; Giokas *et al*, 2003). Esto implica que en un reactor SBR operado con una (V_s)_{min} menor que la velocidad de sedimentación de los lodos activados convencionales, el lodo en suspensión no será efectivamente evacuado de éste. Estudios





realizados demuestran que el lodo en suspensión compite con los gránulos aerobios, lo cual conlleva a una inestabilidad y falla de la granulación aerobia (datos no publicados aún). Para lograr un mejoramiento del proceso de granulación debe tenerse una $(V_s)_{min}$ por encima de la velocidad del lodo en suspensión, por ello, debe ajustarse un volumen de recambio (en términos de L) en el reactor que cumpla con lo requerido para controlar $(V_s)_{min}$ (Li *et al*, 2008b; Wang *et al*, 2006).

2.2.7 Tiempo de retención hidráulico

El ciclo de operación de un reactor SBR representa la frecuencia con la cual, los sólidos son descargados a través del efluente, también llamada frecuencia de vaciado. Ésta se relaciona con el tiempo de retención hidráulica que se define como el volumen efectivo del reactor dividido por el caudal descargado del efluente. Un ciclo de tiempo corto, suprimirá el crecimiento de los sólidos suspendidos debido a la frecuencia de vaciado del material suspendido. Sin embargo, si el reactor es operado en ciclos demasiado cortos se observará una pérdida significativa de lodo debido a que la biomasa es evacuada junto con el efluente y el crecimiento bacteriano no es suficiente para asegurar la formación de los gránulos. Como resultado de esto, se obtiene un lavado completo de la biomasa y en consecuencia el colapso del sistema de granulación aerobia (Liu y Tay, 2004).

Se debe escoger un tiempo de retención hidráulica (TRH) lo suficientemente corto para evitar el crecimiento de los sólidos suspendidos, pero suficiente para el crecimiento microbiano y su acumulación. Ciclos de operación cortos estimulan la actividad microbiana, la producción de polímeros extracelulares y mejora la hidrofobicidad celular. El ciclo de tiempo en un reactor SBR puede actuar como un factor de presión sobre el sistema que ayudará a seleccionar los gránulos microbianos existentes en el mismo.

2.2.8 Fase de ayuno en la granulación aerobia

La operación de un reactor SBR se lleva a cabo mediante ciclos que comprenden varias fases tales como alimentación, aireación y reacción, sedimentación y descarga del agua tratada.





Como resultado de esto los microorganismos que crecen en el reactor están sujetos a fluctuaciones periódicas de las condiciones ambientales.

El periodo de aireación dentro del ciclo, consiste de dos fases: la fase de degradación en la cual el sustrato es consumido (hasta el mínimo), seguida de una fase de ayuno en la cual hay escasez de sustrato externo. Bajo las condiciones de ayuno, las bacterias se vuelven más hidrofóbicas lo cual facilita la adhesión microbiana. Es decir, la agregación microbiana, actúa como una estrategia en contra del ayuno. Se ha encontrado que los microorganismos son capaces de cambiar sus características superficiales cuando se enfrentan a la escasez de sustrato (Tay *et al*, 2001a). Bossier y Verstraete (1996) observaron que bajo condiciones de ayuno las bacterias se vuelven más hidrofóbicas lo que facilita la adhesión microbiana y formación de los gránulos. Esta fase de ayuno juega un papel importante en el proceso de formación de los gránulos, llevándolos a ser más fuertes y densos.

2.2.9 Presencia de Calcio (Ca⁺²) en la alimentación

En estudios realizados se ha reportado que la adición de Ca^{+2} acelera el proceso de granulación. Jiang *et al*, 2003; reporta que con la adición de 100 mg Ca^{+2}/l , la formación de los gránulos tomó 16 días, mientras que sin la presencia de Ca^{+2} tomó 32 días. Los gránulos cultivados en presencia de Ca^{+2} mostraron altos tiempos de sedimentación y mejores características morfológicas.

Hay evidencia de que las bacterias dentro de los gránulos se encuentran en una matriz de EPS, la estabilidad de los gránulos está muy relacionada con ello, debido a que el Ca⁺² juega un papel esencial en la formación de puentes con los EPS que contribuyen a la conformación y estabilidad de una red polimérica dentro de los gránulos. Se ha propuesto que el Ca⁺² se une a los grupos cargados negativamente de los polisacáridos extracelulares que están presentes en la superficie bacteriana, para actuar como un puente promoviendo la agrupación bacteriana (Wang *et al*, 2006).





2.2.10 Estrategia intermitente de alimentación

Un ayuno periódico se presenta durante la operación del reactor SBR, lo cual ha demostrado tener un profundo efecto en la hidrofobicidad de la célula, que es un factor clave en la granulación aerobia. Bajo condiciones de ayuno las células bacterianas son forzadas a agruparse (Liu *et al*, 2003b). Se han desarrollado estrategias de alimentación intermitente o alimentación por pulsos en donde se favorece la formación de gránulos aerobios más densos y compactos debido a que se realiza una alimentación rápida e intermitente a diferentes tiempos de llenado del reactor SBR (Adav *et al*, 2008; McSwain *et al*, 2003).

2.2.11 pH y temperatura

Muchas de las investigaciones realizadas sobre la granulación aerobia han sido llevadas a cabo a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Sin embargo, se ha reportado granulación a 8 °C en la cual se obtuvieron gránulos irregulares que presentaban crecimiento de microorganismos filamentosos que causaron lavado de la biomasa del reactor y operación inestable del mismo (De Kreuk *et al*, 2005b).

El pH del medio afecta significativamente la tasa de crecimiento microbiano. La oxidación de la materia orgánica a altas cargas orgánicas produce suficiente CO₂ para reducir el pH del medio. Yang *et al* (2008) observó que a pH de 4.0 en presencia de hongos (ya que tienen un crecimiento satisfactorio a pH bajo) se obtuvieron gránulos de 7 mm de diámetro mientras a pH de 8.0 la granulación fue controlada por bacterias obteniendo gránulos de 4.8 mm de diámetro. Sin embargo, la influencia del pH en los sistemas de gránulos aerobios ha sido poco estudiada y sus efectos sobre la formación y desempeño de éstos aún no está totalmente establecida (Adav *et al*, 2008)

2.2.12 Procedencia del inóculo

Generalmente, los reactores SBR para el cultivo de gránulos aerobios, han sido inoculados con lodos provenientes de procesos de lodos activados convencionales. Las comunidades





bacterianas residentes en los lodos activados son importantes para el proceso de granulación aerobia; las bacterias hidrofóbicas que se encuentran libremente en los efluentes de las plantas de tratamiento son las más importantes comparadas con las hidrofílicas que se encuentran dentro de los flóculos del lodo. Si la cantidad de bacterias hidrófobicas presente en el inóculo es grande el proceso de granulación será más rápido y los gránulos obtenidos tendrán una buena sedimentabilidad (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2004; Zita y Hermansson, 1997).

2.2.13 Configuración del reactor

Hasta ahora, la obtención de los gránulos aerobios se ha realizado en reactores SBR, debido a que la configuración del reactor puede tener un impacto en los patrones de flujo del líquido y de los agregados microbianos (Liu y Tay, 2002; Beun *et al*, 1999). En los reactores SBR, el flujo del aire y del líquido, están sujetos a patrones de flujo ascendente; que crean un flujo relativamente homogéneo y circular en donde se presentan vórtices a lo largo del eje del reactor que hacen que los microorganismos estén continuamente sujetos a un desgaste hidráulico. Así, los agregados microbianos están sujetos a variaciones de esfuerzos hidráulicos de corte que los fuerzan a tomar una forma granular más regular que posee una energía mínima libre en su superficie.

La factibilidad y eficiencia de otros tipos de reactores, tales como los reactores completamente mezclados (CMTR - Complete Mixed Tank Reactor) en el desarrollo de gránulos aerobios no ha sido muy investigado hasta el momento. En términos hidrodinámicos, los reactores SBR tipo columna y los reactores CMTR, poseen diferentes comportamientos hidrodinámicos de acuerdo con los patrones de interacción entre el flujo y los agregados microbianos. Teniendo en cuenta esto, el flujo circular que se genera en las columnas SBR asegura que los gránulos sean mantenidos en el reactor bajo condiciones dinámicas; en estos reactores, la alta relación entre la altura de la columna y su diámetro puede asegurar una trayectoria circular más larga, la cual ejerce un desgaste hidráulico más efectivo sobre los gránulos aerobios (Figura 2.6a).





En los reactores CMTR los agregados microbianos se mueven estocásticamente con un flujo disperso en todas las direcciones. Así, los gránulos microbianos están sujetos a trayectorias de flujo variable y colisiones aleatorias (Figura 2.6b). Bajo tales circunstancias, en estos reactores solo se forman flóculos de forma irregular en lugar de gránulos; esto es lo que sucede en los sistemas de lodos activados convencional, el cual es un típico reactor CMTR. Debido a esto, no se ha reportado la obtención satisfactoria de gránulos en este tipo de reactores.



Figura 2.6. Patrones de flujo en un reactor SBR de flujo ascendente (a) y un reactor completamente mezclado (b). *Fuente: Liu y Tay,* 2002.

Al parecer, no solamente el esfuerzo hidrodinámico de corte y los patrones de interacción entre los agregados microbianos y el flujo tienen efectos en la formación de los gránulos aerobios. En este aspecto, los reactores SBR de flujo ascendente tipo columna que poseen una relación alta entre la altura (H) y el diámetro (D) pueden proveer adecuados patrones de interacción. Ésta puede ser la razón por la cual casi el 100% de los lodos granulares únicamente se forman en este tipo de reactores. Es así, que los patrones de interacción deseados entre el flujo y los agregados microbianos, pueden ser logrados mediante el control de la configuración del reactor y estrategias de operación adecuadas. Consecuentemente, se alcanzará un mejor entendimiento del papel que juega el patrón de flujo en el proceso de granulación que conducirá al desarrollo de nuevos tipos de reactores para lodos granulares (Liu y Tay, 2002).





2.3 Inhibición de la granulación aerobia

Recientemente, las investigaciones en granulación aerobia se han enfocado al desarrollo de gránulos aerobios heterotróficos para mejorar la capacidad de tratamiento de las plantas de aguas residuales. Similar a otros procesos biológicos, la granulación aerobia está influenciada por muchos factores, tales como la carga orgánica, las fuerzas de corte en el reactor y la presencia de compuestos tóxicos e inhibidores.

Yang *et al* (2004b) han investigado el efecto inhibitorio que ejercen altas concentraciones de amoniaco libre en la granulación aerobia en reactores SBR alimentados con acetato como única fuente de carbono. Durante la oxidación del acetato en condiciones aerobias se presenta el consumo de iones de hidrógeno haciendo que el pH del medio aumente, tal como se muestra en la siguiente reacción:

$$CH_{3}COO^{-} + H^{+} + 2O_{2} \rightarrow 2CO_{2} + 2H_{2}O$$

$$(2.2)$$

En su estudio Yang *et al*, (2004b) reportan que, realizada la oxidación del acetato, el pH se incrementa de 7.5 a 8.5 en el reactor. Teniendo en cuenta que el rango óptimo de pH para llevar a cabo a nitrificación es muy estrecho 7.8 a 8.0, un pH más allá de estos valores reportados podría causar una producción de amoniaco libre en el sistema que puede actuar como inhibidor de la nitrificación.

El amoniaco libre puede inhibir las actividades de los microorganismos participantes de la nitrificación. Yang *et al* (2004b) observó el efecto inhibitorio del amoniaco libre en la granulación aerobia usando acetato como fuente de carbono; encontrando que los gránulos aerobios se formaron en presencia de concentraciones inferiores a 23.5 mg/l NH₃ y la nitrificación se inhibió totalmente en presencia de concentraciones mayores a 10 mg/l NH₃. Estos autores observaron que las altas concentraciones de amoniaco inhibieron las actividades metabólicas de las bacterias nitrificantes y heterótrofas, encontrando que las tasas específicas de utilización de oxígeno en las bacterias heterótrofas y nitrificantes se redujeron en un factor de 2.5 y 5.0, respectivamente cuando la concentración de amoniaco aumentó de




2.5 a 39.6 mg N/l. Las altas concentraciones de amoniaco libre produjeron la disminución de la hidrofobicidad celular y de la producción de polisacáridos extracelulares, lo cual, no favoreció el crecimiento y desarrollo de los gránulos aerobios; produciendo así el colapso del sistema (Liu y Tay, 2004).

Debido a que el amoniaco libre posee una alta permeabilidad a través de las células microbianas, se han propuesto varias hipótesis para interpretar sus efectos en los cultivos microbianos. El amoniaco libre puede causar un cambio en el pH intracelular, el aumento de los requerimientos de energía para el mantenimiento celular y la inhibición de las reacciones enzimáticas específicas; sin embargo, los mecanismos por los cuales el amoniaco libre puede influenciar las propiedades fisicoquímicas y biológicas de la superficie celular no han sido claramente evidenciados (Yang *et al*, 2004b).

2.4 Características de los gránulos aerobios

Comparados con los flóculos irregulares, no compactos y esponjosos presentes en los sistemas de lodos activados, algunos autores sugieren que los gránulos aerobios cultivados bajo diversas condiciones de operación, en general, pueden presentar las siguientes características (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2004):

- Poseen una forma más regular con una estructura microbiana más densa y fuerte
- Tanto en la fase de mezclado como en la de sedimentación, los gránulos se observan claramente definidos en el licor mezclado del reactor
- Poseen muchos microorganismos por gramo de biomasa
- Poseen una alta sedimentabilidad que facilita la separación del efluente
- Pueden ser cultivados en un amplio rango de cargas orgánicas
- Son menos vulnerables a la toxicidad de sustancias químicas y metales pesados contenidos en las aguas residuales, debido a su estructura compacta que protege a los microorganismos de la exposición directa a los tóxicos a diferencia de los flóculos presentes en los sistemas convencionales de lodos activados.





2.4.1 Morfología

Estudios a nivel microscópico de los gránulos aerobios han mostrado que éstos son completamente diferentes de los lodos floculentos. La forma de los gránulos aerobios tiende a ser esférica y claramente definida (Tay *et al*, 2001a, c; Peng *et al*, 1999). El tamaño del gránulo es un parámetro importante en la caracterización de los gránulos aerobios. El diámetro promedio de los gránulos varía en un rango de 0.2 a 5 mm; debido principalmente al balance entre el crecimiento y el efecto abrasivo que tiene el esfuerzo de corte producido dentro del reactor (Liu y Tay, 2002).

2.4.2 Sedimentabilidad

Las propiedades de sedimentación de los gránulos aerobios determinan la eficiencia de separación líquido – sólido, que es esencial para el adecuado funcionamiento de los sistemas de tratamiento de aguas residuales. El índice volumétrico de lodos (IVL) ha sido comúnmente usado para describir la sedimentabilidad y compactación de los lodos. Para los gránulos aerobios el IVL es menor que 50 ml/g, lo cual es más bajo que en los flóculos encontrados en un sistema convencional de lodos activados (IVL > 150 ml/g) (Liu y Tay 2004; Qin *et al*, 2004b). Esto implica que la sedimentabilidad de un lodo puede mejorarse significativamente a través de la formación de gránulos aerobios.

La velocidad de sedimentación de los gránulos aerobios está asociada con el tamaño y la estructura de los mismos y puede estar en el rango de 25 – 70 m/h. Esto es comparable con los gránulos en un reactor UASB, pero es al menos tres veces más alta que la velocidad con la cual sedimentan los flóculos en un sistema de lodos activados (velocidad típica de sedimentación entre 7 y 10 m/h). Estas altas velocidades permiten el uso de altas cargas hidráulicas sin preocuparse por el posible lavado de la biomasa (Qin *et al*, 2004a; Tay *et al*, 2001c; Beun *et al*, 2000). Así, la granulación aerobia puede conducir a una mayor retención de biomasa en el reactor mejorando el desempeño y estabilidad del mismo; una alta concentración de biomasa retenida asegura una degradación más rápida de los contaminantes usando reactores más compactos (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2004).





2.4.3 Densidad y consistencia

La densidad de los gránulos aerobios se encuentra generalmente en un rango de 1.004 – 1.065 (Yang *et al*, 2005; Etterer y Wilderer, 2001; Tay *et al*, 2001a). Los gránulos con gran consistencia y fuerza, soportan el desgaste y los esfuerzos. Esta fuerza física de los gránulos, es expresada como el coeficiente de integridad - CI (definido como la tasa de gránulos remanentes del total en peso del lodo granular después de ser sometido a 200 rpm; expresado en %). Éste es mayor de 95% para los gránulos aerobios cultivados con glucosa y con acetato (Tay *et al*, 2002b). Los gránulos aerobios pequeños tienden a ser más compactos que los grandes (Yang *et al*, 2004a; Toh *et al*, 2003).

2.4.4 Hidrofobicidad celular superficial

La hidrofobicidad celular es una fuerza de afinidad entre las células microbianas que influye en los procesos de auto-inmovilización y agregación microbiana (Liu *et al*, 2004a; Liu *et al*, 2003b; Bossier y Verstraete, 1996). Los estudios realizados indican que la formación de gránulos aerobios bajo diferentes condiciones de cultivo están relacionadas con el incremento en la hidrofobicidad celular (Qin *et al*, 2004b; Liu y Tay, 2002; Tay *et al*, 2001c). Tay *et al* (2002b) encontraron que la hidrofobicidad celular medida por el método de adhesión microbiana a una cadena hidrocarbonada (Rosemberg *et al*, 1980) fue de 68% para gránulos cultivados con glucosa y 73% para gránulos cultivados con acetato, como únicas fuentes de carbono; mientras que la hidrofobicidad celular del lodo usado como inóculo fue alrededor de 39%, indicando que la hidrofobicidad celular de los gránulos aerobios fue casi el doble que la hallada para el lodo en suspensión (inóculo).

Liu *et al* (2003b) estudiaron el efecto de diferentes condiciones en la hidrofobicidad celular en la granulación aerobia en reactores SBR y observaron que la hidrofobicidad celular tanto en bacterias heterótrofas como en nitrificantes es muy sensible a los esfuerzos cortantes y a la presión hidráulica ejercida sobre el sistema; sin embargo, el efecto de la carga orgánica en un rango de 1.5 a 9.0 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ no fue significativo. Los cambios en la hidrofobicidad celular, resultan de respuestas bacterianas a ciertas condiciones de estrés (Bossier y





Verstraete, 1996), las cuales inducen la hidrofobicidad celular e incrementan las interacciones célula – célula que conducen a la formación de una estructura bacteriana más fuerte que provee protección a las células expuestas a condiciones no favorables en el ambiente (Adav *et al*, 2008; Liu *et al*, 2004a).

2.4.5 Contenido de sustancias poliméricas extracelulares (EPS)

Los polímeros extracelulares (EPS) son productos metabólicos pegajosos acumulados en la superficie de las células, los cuales pueden alterar las características físico-químicas de la superficie celular tales como carga e hidrofobicidad; además, juegan un papel importante en el fenómeno de adhesión de células, la formación de una matriz estructural, la fisiología microbiana y el mejoramiento de la estabilidad de los gránulos (Adav *et al*, 2008; Chen *et al*, 2007b; McSwain *et al*, 2005; Liu *et al*, 2004c; Tay *et al*, 2001b). Un alto contenido de polisacáridos extracelulares facilitan las interacciones célula – célula y en consecuencia favorecer la consistencia y fuerza de los gránulos a través de la formación de una matriz polimérica, como se muestra en la siguiente figura.



Figura 2.7. Representación esquemática de las sustancias poliméricas extracelulares que influyen en la granulación *Fuente: Liu et al, 2004c.*

Las sustancias poliméricas extracelulares (EPS) pueden proveer una extensa área para la interacción bacteriana. Las matrices de EPS poseen diferentes sitios disponibles para la atracción de materiales orgánicos e inorgánicos (Liu *et al*, 2004c). Resultados obtenidos





muestran que la formación de biogránulos es una evolución microbiana en lugar de una agregación aleatoria de microorganismos suspendidos (Tay *et al*, 2001b).

El estudio de la distribución de las EPS en los gránulos aerobios muestra que la producción de EPS tiende a decrecer a medida que se avanza en la profundidad de éstos; esto se debe probablemente a que la biomasa pierde su habilidad para producir dichas sustancias, porque a profundidades altas se presenta la disminución de la actividad microbiana originada por la baja disponibilidad de nutrientes (Wang *et al*, 2005a).

Wang *et al*, (2005a) estudiaron la distribución de las EPS, observando que los exopolímeros hallados en la superficie del gránulo son poco solubles y poco biodegradables, mientras en las EPS encontrados en el centro del gránulo son solubles y fácilmente biodegradables. Sin embargo, las EPS que se encuentran en la parte externa del gránulo juegan un papel protector con respecto a la integridad y estabilidad de éste.

2.4.6 Tasa específica de utilización de oxígeno

La actividad microbiana de los microorganismos es caracterizada por la tasa específica de utilización de oxígeno (SOUR = Specific Oxigen Utilization Rate). En muchas investigaciones se reportan un amplio rango de valores para la tasa de utilización de oxígeno en gránulos aerobios (Yang *et al*, 2003; Tay *et al*, 2001c; Morgenroth *et al*, 1997). Esta tasa se incrementa cuando se aumenta el esfuerzo de corte, en términos de velocidad superficial del aire; debido a que estimula la actividad respiratoria de los microorganismos significativamente (Tay *et al*, 2001c).

Las reacciones bioquímicas del metabolismo bacteriano muestran una relación aproximadamente lineal entre la utilización del oxígeno y la producción de CO_2 ; es decir, a tasas de utilización de oxígeno altas, la producción de nuevas células disminuye ya que el metabolismo es rápido y el sustrato es convertido a CO_2 (Liu y Tay, 2004). La actividad microbiana representada por SOUR, está inversamente relacionada con la presión hidráulica ejercida sobre el sistema en términos del tiempo de sedimentación. Qin *et al* (2004b) sugiere





que a tiempos de sedimentación más cortos, la actividad respiratoria bacteriana tiende a ser estimulada significativamente. Esto implica que los microorganismos, tienden a regular su metabolismo energético en respuesta a los cambios en la presión hidráulica ejercida en el sistema.

2.4.7 Estabilidad al almacenamiento

La pérdida de estabilidad y actividad de los gránulos durante periodos de inactividad operacional está relacionado con la temperatura y sustrato con el que se almacenen los gránulos. Se han realizado estudios para conocer el comportamiento de los gránulos ante estas condiciones y se ha encontrado que tanto la temperatura (desde temperaturas de congelación -20 °C a 4 °C y a temperatura ambiente 16 °C a 26 °C) como el sustrato con el cual se almacenan los gránulos (glucosa, acetato, fenol, entre otros) poseen gran influencia en sus características físicas y su actividad microbiana. Con ello han llegado a concluir que a temperaturas superiores a la temperatura ambiente acompañada de la ausencia de sustrato externo puede llevar a procesos de lisis celular y la rápida desintegración de los gránulos (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2004).

Tay *et al* (2002b) investigaron el efecto del periodo de almacenamiento en gránulos cultivados con glucosa y con acetato, sobre la actividad y estructura granular; encontrando que los gránulos cultivados con glucosa perdieron alrededor del 60% de su actividad metabólica inicial, en términos de la tasa específica de utilización de oxígeno; mientras que en los gránulos cultivados con acetato, dicha actividad se redujo en 90%. Ambos tipos de gránulos, fueron almacenados durante 4 meses en agua a 4°C. Comparada con los gránulos frescos, la consistencia de los gránulos disminuyó en 7 a 8% después del tiempo de almacenamiento.

Ng (2002) estudió el efecto de diferentes soluciones para el almacenamiento de gránulos aerobios, como agua, soluciones fisiológicas y de nutrientes; en la estabilidad y actividad de los gránulos almacenados durante 8 semanas, encontrando que después de dicho tiempo, los gránulos se vuelven irregulares y pequeños. Además, se presenta una disminución del pH en el medio debido a la hidrólisis celular. El tamaño de los gránulos almacenados en agua y en





solución de nutrientes disminuyó en un 34% y 22%, respectivamente. El color de los gránulos aerobios almacenados cambió de marrón-amarillo a gris-negro al final del tiempo de almacenamiento.

En general, la pérdida de actividad y estructura de los gránulos aerobios está relacionada con la temperatura a la cual se almacene, el medio en el que se encuentren y las características de los gránulos. Sin embargo, tiempo después los gránulos recobran progresivamente su actividad a medida que el reactor es operado nuevamente con sustrato y oxígeno. Esto implica que los lodos granulares aerobios pueden permanecer inactivos, en caso de que el flujo de agua residual o su concentración sean mucho menores que lo normal. Así pues, la granulación aerobia puede ser aplicada en situaciones donde la disponibilidad de sustrato varía considerablemente con el tiempo (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2004; Zhu y Wilderer, 2003).

2.5 Estructura y diversidad microbiana en los gránulos aerobios

En los sistemas de tratamiento de aguas residuales, el estudio de la estructura y diversidad microbiana es importante para el entendimiento de las comunidades microbianas involucradas.

2.5.1 Estructura microbiana

Con el fin de estudiar las estructuras microbianas de los gránulos aerobios se han utilizado diversas técnicas en las cuales se ha caracterizado la estructura de los agregados microbianos obtenidos (Jang *et al*, 2003; Toh *et al*, 2003; Tay *et al*, 2002a). Se han encontrado bacterias aerobias obligadas encargadas de oxidar el amonio (*Nitrosomonas spp.*), a profundidades de 70 a 100 µm desde la superficie del gránulo. Los gránulos poseen canales y poros que alcanzan profundidades entre 300 a 500 µm de la superficie granular, los cuales facilitan el transporte de oxígeno y nutrientes hacia el interior y metabolitos hacia el exterior de los gránulos (Tay *et al*, 2002a).





Observaciones microscópicas de gránulos aerobios han reportado el hallazgo de bacterias anaerobias (*Bacteroides spp.*) a profundidades entre 800 a 900 µm de la superficie del gránulo, mientras la capa de células microbianas muertas se encontró a una profundidad de 800 a 1000 µm (ver figura 2.8) (Adav *et al*, 2008; Toh *et al*, 2003). Es así que, para aprovechar todos los microorganismos presentes en los gránulos aerobios, el diámetro óptimo de estos debe ser menor que 1600 µm, el cual es dos veces la distancia desde la superficie del gránulo hasta la zona anaerobia (Tay *et al*, 2002a). Entonces, los gránulos más pequeños serán más efectivos en el tratamiento de aguas residuales debido a que estos poseen más células vivas en un determinado volumen del gránulo y se tiene una mayor superficie de contacto para el aprovechamiento de los nutrientes (Liu y Tay, 2004).

En los estudios acerca de la estructura microbiana se ha observado que las bacterias se distribuyen de acuerdo con las condiciones particulares del micro-ambiente en los gránulos y a la alta variedad de comunidades microbianas presentes. Consecuentemente, la distribución de las diferentes especies bacterianas en los gránulos puede tener un efecto en su estabilidad (Liu y Tay, 2004).



Figura 2.8. Análisis de la estructura de un gránulo aerobio, distribución de la biomasa en un gránulo maduro (NSO = verde, organismos nitrificantes; EUB = azul, organismos heterotróficos; PAO = rojo, organismos acumuladores de fósforo). *Fuente: De Kreuk et al*, 2005*a*; *De Kreuk y De Bruin*, 2004.

2.5.2 Diversidad microbiana

La densidad poblacional y la distancia promedio entre las células microbianas determina el tipo de interacciones entre éstas (fuerzas electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, puentes





de hidrógeno, etc.). En general, Ivanov y Tay (2006) sugieren que cuando la densidad poblacional microbiana es baja, los organismos no tienen interacciones positivas o negativas entre sí; cuando la densidad de población es media, los microorganismos compiten entre sí por la disponibilidad de nutrientes por medio de su crecimiento y producción de metabolitos que pueden afectar el crecimiento de sus competidores y cuando la densidad de población es alta, las células bacterianas usualmente se agregan y cooperan entre sí. Las interacciones microbianas se presentan principalmente debido a los cambios de factores químicos en el ambiente, tales como concentración de nutrientes, pH, potencial redox del medio, enzimas extracelulares y degradación simultánea de sustancias (Ivanov y Tay, 2006).

Las interacciones bacterianas entre los microorganismos presentes en los agregados bacterianos, pueden ser mejoradas teniendo en cuenta:

- La agregación celular
- La formación de una estructura flexible dada por la presencia de microorganismos filamentosos
- La utilización de la fuente de carbono
- La formación de sitios de almacenamiento intragranular de carbono (almacenamiento extracelular e intracelular de polisacáridos) y otros nutrientes
- La formación de una cubierta protectora en los gránulos (formada por EPS), que protegen a las células en el interior; de sustancias tóxicas o de condiciones adversas que puedan presentarse en el ambiente.

Aún cuando se consideran las interacciones entre microorganismos en los gránulos aerobios, en ellos se presenta una diversidad de comunidades microbianas que contienen microorganismos con diferentes funciones fisiológicas. Adicionalmente, la heterogeneidad de las comunidades microbianas puede ser creada por la diversidad de condiciones ambientales en el gránulo debido a la existencia de diferentes zonas, capas y gradientes. Otro aspecto de la diversidad microbiana son los cambios temporales en ésta a medida que los gránulos se forman hasta hacerse maduros (desde flóculos hasta gránulos consistentes) (Ivanov y Tay, 2006).





Algunos autores sugieren que el análisis de las comunidades microbianas que residen en los gránulos aerobios puede proveer información acerca de los microorganismos responsables de la formación de los gránulos, su mantenimiento y actividad, y así ayudar a controlar mejor el proceso de granulación aerobia (Ivanov y Tay, 2006).

En el estudio de la diversidad microbiana presente en los gránulos aerobios se han utilizado técnicas de biología molecular, encontrándose bacterias nitrificantes, heterótrofas capaces de desnitrificar, acumuladoras de fósforo y acumuladoras de glucógeno en gránulos aerobios desarrollados bajo condiciones diferentes (Adav *et al*, 2008; Jang *et al*, 2003; Lin *et al*, 2003; Liu *et al*, 2003; Tsuneda *et al*, 2003; Yang *et al*, 2003; Tay *et al*, 2002a).

Se han propuesto diversos modelos sobre la distribución microbiana dentro del gránulo (ver figura 2.9) que proveen información acerca de perfiles de concentración, coeficientes de difusión, tasas de conversión, tamaño del gránulo, distribución espacial de la biomasa y densidad; todos estos factores están influenciados uno por otro y debido a ello no pueden ser estudiados por separado. Estos modelos han probado ser una herramienta útil en el estudio de procesos complejos tales como los sistemas de lodos granulares aerobios (Adav *et al*, 2008; De Kreuk *et al*, 2007).



Figura 2.9. (a) Sección granular teñida (verde = células vivas; rojo = células muertas). (b) distribución de la biomasa dentro de un gránulo maduro – simulación realizada con un modelo ASM de lodo granular aerobio. (c) distribución de la biomasa en un granulo madura de acuerdo con una simulación en 2D basada en modelamiento de la granulación aerobia (rojo = PAOs – acumuladoras de fósforo; verde = oxidantes de NH₄+; amarillo = oxidantes de NO₂; gris = inerte). *Fuente: De Kreuk et al, 2007.*





La diversidad microbiana de los gránulos aerobios está relacionada con la composición del medio de cultivo del cual se alimentan. La presencia de bacterias facultativas en los gránulos es el resultado de la producción de ácidos orgánicos y gases dentro de los mismos cuando se llegan a presentar condiciones anaerobios dentro o fuera de los gránulos. Estos productos finales del metabolismo anaerobio pueden destruir los gránulos o disminuir su estabilidad (Liu y Tay, 2004).

2.5.3 Presencia de bacterias filamentosas

La presencia de microorganismos filamentosos ha sido ampliamente reportada en granulación aerobia en reactores SBR en el tratamiento de diferentes tipos de aguas residuales (Hu *et al*, 2005; Schwarzenbeck *et al*, 2005; McSwain *et al*, 2004a; Tay *et al*, 2004b; Moy *et al*, 2002). La figura 2.10 muestra el crecimiento de bacterias filamentosas en gránulos aerobios cultivados con agua residual doméstica. Aunque el crecimiento de los microorganismos filamentosos es un fenómeno común en los gránulos aerobios, bajos o moderados niveles de crecimiento de dichos microorganismos no causan problemas operacionales y pueden ayudar a la estabilización de la estructura de los gránulos (Fang *et al*, 2009; Liu y Liu, 2006).



Figura 2.10. Coexistencia de bacterias filamentosas y no-filamentosas en gránulos cultivados con acetato *Fuente: Liu y Liu,* 2006.





El excesivo crecimiento de microorganismos filamentosos puede convertirse en un serio problema operativo que puede conducir a (Liu y Liu, 2006):

- Decrecimiento de la sedimentabilidad de los gránulos
- Lavado de los gránulos filamentosos del reactor
- Competencia entre los gránulos no filamentosos y los que sí lo son
- Incremento de la concentración de sólidos suspendidos
- Eventual desintegración de los gránulos (ver figura 2.11)
- Fallo en la operación del sistema



Figura 2.11. Crecimiento excesivo de microorganismos filamentosos en gránulos aerobios cultivados con agua residual doméstica. *Fuente: Liu y Liu, 2006.*

Los factores que influyen en la presencia de microorganismos filamentosos en los gránulos aerobios son:

☑ Largos tiempos de retención celular

El tiempo de retención celular esta inversamente relacionado con la tasa de crecimiento especifica de los microorganismos; a altas concentraciones de sustrato, las bacterias filamentosas presentan tasas de crecimiento inferiores a las de las bacterias formadoras de flóculos (ver figura 2.14), por esta razón las bacterias filamentosas presentan, en general, a elevadas concentraciones de sustrato, tiempos de retención celular inferiores a los que presentan las bacterias formadoras de flóculos; a bajas concentraciones de sustrato y tiempos





de retención celular altos el crecimiento de bacterias filamentosas se ve favorecido debido a su baja tasa de crecimiento específico .

Durante la formación de gránulos aerobios, una cantidad significativa de lodo en suspensión puede ser descargado junto con el efluente, dependiendo de los ajustes seleccionados en cuanto a tiempo de sedimentación, tasa de recambio de volumen y tiempo de descarga del efluente. Tal estrategia de operación implica el uso de cargas orgánicas altas durante el periodo de granulación que darán como resultados bajos tiempos de retención celular.

Observando la figura 2.12 se llega a la conclusión de que a medida que la granulación evoluciona, la sedimentabilidad de la biomasa va mejorando progresivamente; el tiempo de retención celular tiende gradualmente a estabilizarse alrededor de 25 días. Cabe destacar, que en la mayoría de sistemas SBR de granulación aerobia, el tiempo de retención celular no es estrictamente controlado, sino que varía naturalmente con los cambios en la sedimentabilidad del lodo bajo factores que ejercen presión sobre el sistema para la selección de la biomasa (Liu y Liu, 2006).



Figura 2.12. Fluctuación del tiempo de retención celular en un reactor SBR para granulación aerobia *Fuente: Liu y Liu, 2006.*





☑ <u>Concentración de sustrato</u>

Investigaciones han demostrado que en cultivos en lote la cantidad de sustrato inicial (So) y la concentración inicial de biomasa (X_0) pueden ser utilizadas para describir la disponibilidad de alimento para los microorganismos (Chudoba *et al*, 1992).

En la figura 2.13 se muestra una tendencia típica del cambio en la relación S_0/X_0 en la granulación aerobia usando acetato de sodio como única fuente de carbono; en donde se observa que la concentración de biomasa se incrementa a medida que se logra una granulación estable y esto da como resultado una disminución de S_0/X_0 . Esto explica porque los microorganismos filamentosos son observados en los gránulos aerobios bajo condiciones en donde se tiene una alta concentración de biomasa.



Figura 2.13. Cambios en la relación So/Xo, en la operación de un reactor SBR para granulación aerobia *Fuente: Liu y Liu, 2006.*

En la figura 2.14 se puede observar que a concentraciones bajas de sustrato, el crecimiento de microorganismos filamentosos se ve favorecido. Además, se muestra que a altas concentraciones de sustrato, las bacterias formadoras de flóculos utilizan el sustrato más eficientemente que las bacterias filamentosas y terminan por dominar el sistema.







Figura 2.14. Tasa de crecimiento específico de bacterias filamentosas y bacterias formadoras de flóculos vs. Concentración de sustrato. *Fuente: Liu y Liu, 2006.*

☑ <u>Deficiencia de oxígeno disuelto</u>

En la granulación aerobia, el oxígeno disuelto (OD) debe difundirse al interior del gránulo. Teóricamente, la profundidad de penetración del OD en el gránulo depende de la cantidad de OD en solución y de su tasa de consumo por los gránulos. Los estudios realizados sugieren que la deficiencia de OD favorece el crecimiento de microorganismos filamentosos (Palm *et al*, 1980). De acuerdo con la literatura, las concentraciones de OD reportadas en la granulación aerobia en reactores SBR se encuentran en un rango de 2 mg/l hasta la concentración de saturación.

Martins *et al* (2003) encontró que una concentración de OD inferior a 1.1 mg/l tiene un efecto negativo en la sedimentabilidad del lodo y conducen al crecimiento de bacterias filamentosas tales como *Thiothrix spp*. Algunos autores recomiendan operar con una concentración de 2 mgOD/l para prevenir el crecimiento excesivo de microorganismos filamentosos como *Sphaerotilus natans* (Chudoba, 1985). Otros estudios han evidenciado que operar con una concentración de OD baja (0.5 a 2.0 mg OD/l) producirá un lodo con baja sedimentabilidad y un efluente con alta turbiedad comparado con lo que se obtiene cuando se opera con concentraciones entre 2.0 y 5.0 mg OD/l (Liu y Liu, 2006, Wilen y Balmer, 1999)

Durante la operación de un ciclo en un reactor SBR la utilización del sustrato puede ser divida en dos etapas: (1) al inicio del ciclo, cuando la concentración de sustrato es alta se





presenta un consumo de oxígeno y la penetración de éste dentro del gránulo es limitada; (2) una vez la concentración de sustrato ha disminuido al mínimo, los microorganismos entran en un proceso de consumo endógeno a causa de la ausencia de un sustrato externo. En conclusión, debido a la operación cíclica, los gránulos están sujetos a repetidas etapas en donde se presentan limitaciones de OD y de sustrato. Las investigaciones realizadas indican que la continua deficiencia de oxígeno y otras condiciones de estrés pueden inducir el desarrollo de bacterias filamentosas (Liu y Liu, 2006).

2.6 Aplicaciones de la granulación aerobia

El desempeño de los sistemas biológicos para el tratamiento de aguas residuales depende significativamente de la concentración de biomasa, la tasa de biodegradación, la configuración del reactor y las tasas de alimentación de sustrato y oxígeno. La eficiencia de los procesos a gran escala en plantas de tratamiento de aguas residuales, puede ser mejorada con el uso de lodos granulares aerobios debido a que se pueden alcanzar mayores tasas de conversión, mejores eficiencias en la separación de la biomasa, remoción biológica de nutrientes y reducción del volumen del reactor. Además, la capacidad de tratamiento puede ser variada para acondicionarla a cargas orgánicas variables y diferentes composiciones del agua residual (Adav *et al*, 2008; Liu y Tay, 2004).

2.6.1 Tratamiento de aguas residuales con alta concentración de contaminantes

La factibilidad de la aplicación de la granulación aerobia al tratamiento de aguas residuales que contienen gran cantidad de material orgánico fue demostrado por Moy *et al* (2002), quienes estudiaron la habilidad de los gránulos aerobios para soportar altas concentraciones de sustancias orgánicas por medio del incremento, por etapas, de la carga orgánica y lograron una remoción de DQO superior al 89% después de dos semanas.

Los gránulos aerobios cultivados con glucosa como única fuente de carbono fueron expuestos a altas cargas orgánicas, gradualmente elevadas de 6, 9, 12 y 15 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ y se encontró





que los gránulos soportaron una carga máxima de 15 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ logrando una eficiencia en la remoción de DQO del 92%. Los resultados obtenidos, con respecto a la morfología de los gránulos se pueden observar en la figura 2.15; inicialmente los gránulos presentaban una estructura esponjosa y poco consistente, dominada por bacterias filamentosas cuando se encontraban sometidos a cargas orgánicas pequeñas; luego a cargas orgánicas altas, su estructura se fue haciendo más consistente y porosa, consiguiendo una forma más esférica y regular.



Figura 2.15. Morfología de gránulos alimentados con glucosa a diferentes cargas orgánicas. (a) 6 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ (b) 15 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. *Fuente: Moy et al,* 2002.

2.6.2 Remoción simultánea de materia orgánica y nitrógeno

La remoción del nitrógeno del agua residual implica la nitrificación y la desnitrificación. Estudios realizados muestran que poblaciones heterótrofas y nitrificantes, pueden coexistir en los agregados microbianos. Incrementos en la relación N/DQO conducen a cambios significativos entre las poblaciones microbianas existentes en los gránulos (Yang *et al*, 2005; Jang *et al*, 2003, Liu *et al*, 2003c). Se lograron mejores actividades microbianas de las poblaciones nitrificantes y heterótrofas capaces de desnitrificar cuando se utilizó una relación N/DQO alta; sin embargo, las poblaciones de bacterias heterótrofas decrecieron con el incremento de esta relación; es así que se observó que a medida que crece la relación N/DQO el tamaño de los gránulos disminuye (ver figura 2.16). También se encontró que la concentración de oxígeno disuelto tiene un efecto importante sobre la desnitrificación, y





además, fue necesario asegurar mezclado en el reactor con el fin de obtener una eficiente transferencia de masa entre el líquido y los gránulos (Yang *et al*, 2003; Beun *et al*, 2001).



Figura 2.16. Morfología del lodo (a) inóculo; (b) gránulos aerobios obtenidos con una relación N/DQO de 5/100; (c) N/DQO = 10/100; (d) N/DQO = 20/100; (e) N/DQO = 30/100; Barra: 1mm. *Fuente: Yang et al,* 2003.

2.6.3 Remoción biológica de fósforo

Los procesos de remoción biológica de fósforo operan bajo la alternancia de condiciones anaerobias y aerobias con alimentación de sustrato limitada. Lin *et al* (2003) desarrollaron gránulos acumuladores de fósforo en reactores SBR operados con una relación de P/DQO en un rango de 1/100 a 10/100. Esto demostró que los gránulos tenían características propias de las poblaciones microbianas utilizadas para la remoción de fósforo; es decir, éstas toman el carbono orgánico soluble y liberan fosfato en la etapa anaerobia y seguidamente toman el fosfato y lo acumulan en la etapa aerobia. El tamaño de los gránulos acumuladores de fósforo obtenidos tuvo una tendencia decreciente a medida que se incrementaba la relación P/DQO;





sin embargo, la estructura de éstos se volvía más compacta y densa (ver figura 2.17). El fósforo acumulado en los gránulos estuvo entre 1.9% y 9.3% en peso.



Figura 2.17. Morfología de gránulos desarrollados a diferentes relaciones P/DQO (a) 1/100; (b) 2.5/100; (c) 5/100; (d) 7.5/100; (e) 10/100. Barra: 2 mm. *Fuente: Lin et al*, 2003.

2.6.4 Tratamiento de aguas residuales que contienen fenol

El fenol es un sustrato tóxico, pero también puede ser la fuente de carbono de algunas bacterias. Como consecuencia de la presencia de fenol en los tratamientos biológicos de aguas residuales, dichos procesos se vuelven inestables, lo cual conduce al lavado de la biomasa. En bajas concentraciones el fenol es biodegradable, pero en altas concentraciones puede ser muy tóxico incluso para las bacterias que lo pueden degradar.





Jiang *et al* (2004) investigaron la factibilidad del tratamiento de aguas residuales con fenol mediante gránulos aerobios, los cuales se consideran menos susceptibles a los efectos tóxicos del fenol comparados con los flóculos presentes en un sistema de lodos activados; debido a que gran cantidad de la biomasa no está expuesta a la misma concentración de fenol en el agua residual, a diferencia de los flóculos en donde se carece de una estructura compacta y definida, que resulta en la exposición total de los microorganismos presentes. En este estudio se cultivaron gránulos capaces de remover el fenol del agua residual bajo cargas entre 1.0 y 2.5 kgfenol.m⁻³.d⁻¹. Los gránulos obtenidos eran compactos y de forma regular; sin embargo, bajo la carga de fenol más alta se observaron gránulos con estructuras débiles con baja hidrofobicidad celular. Después de dos meses de operación, los sistemas alcanzaron un estado estable y presentaban altas remociones de fenol (cercanas al 100%).

2.6.5 *Remoción de material particulado*

El proceso de obtención de gránulos aerobios ha sido exitoso tratando aguas residuales del proceso de producción de malta (ver figura 2.18), las cuales poseen un alto contenido de materia orgánica particulada (Adav *et al*, 2008). Schwarzenbeck *et al* (2004) cultivaron gránulos aerobios usando una carga orgánica de 3.2 kg DQO.m⁻³.d⁻¹ y una concentración de sólidos suspendidos en el influente de 0.95 g/l; obteniendo una remoción promedio del 50% en el DQO total y un 80% en la DQO disuelta. Durante la remoción de material particulado por parte de los gránulos aerobios se observaron dos mecanismos diferentes: (1) durante la formación de los gránulos, el material particulado se incorporó dentro de las matrices de biopartículas y (2) una vez se obtuvieron gránulos maduros se observó un alto crecimiento de protozoarios en la superficie de éstos los cuales poseían la habilidad para remover el material particulado del agua residual.







Figura 2.18. Evolución de la granulación aerobia a partir de agua residual con alto contenido de material orgánico particulado (izquierda: primera semana de operación – derecha: cuarta semana de operación. *Fuente: Schwarzenbeck et al,* 2004.





3. REMOCIÓN DE NITRÓGENO MEDIANTE GRÁNULOS AEROBIOS

La remoción biológica de nitrógeno del agua residual puede ser lograda mediante la nitrificación y desnitrificación. Sin embargo, los sistemas utilizados para este fin, a menudo presentan varios problemas operacionales incluyendo el abultamiento de los lodos debido a la proliferación de microorganismos filamentosos, el requerimiento de largos tiempos de retención celular para asegurar la efectiva nitrificación y además, se necesitan grandes áreas para la operación de procesos en donde se requieren varias etapas.

En los últimos años se han desarrollado gránulos en reactores SBR para la remoción de materia orgánica del agua residual (Etterer y Wilderer, 2001; Tay *et al*, 2001c; Beun *et al*, 1999; Peng *et al*, 1999). Comparados con los sistemas convencionales de lodos activados, los lodos granulares aerobios poseen una estructura compacta, regular y densa que posee una gran habilidad de sedimentación, alta retención de biomasa y la capacidad de soportar choques de carga orgánica. Por ello, estudios recientes se han enfocado en el desarrollo de gránulos aerobios capaces de participar en la remoción de nutrientes (De Kreuk y Van Loosdrecht, 2004; Lin *et al*, 2003; Yang *et al*, 2003; Beun *et al*, 2001). Las investigaciones realizadas muestran que los problemas encontrados en sistemas de biomasa suspendida para la





remoción de nutrientes tales como el abultamiento del lodo, el gran espacio necesario en una planta de tratamiento, el lavado de la biomasa nitrificante y la alta producción de lodos pueden evitarse con el desarrollo y aplicación de gránulos aerobios para la remoción de nitrógeno y la acumulación de fósforo (Lin *et al*, 2003; Yang *et al*, 2003).

Experimentos basados en la granulación aerobia sugieren que la remoción de materia orgánica y nitrificación/desnitrificación pueden llevarse a cabo usando gránulos aerobios para obtener la remoción satisfactoria de nitrógeno. La nitrificación/desnitrificación con gránulos aerobios es un mecanismo que está basado en la oxidación del amoniaco en la capa externa del gránulo (nitrificación); el nitrato producido se difunde hacia el interior, donde sirve como aceptor de electrones para el mantenimiento y crecimiento de los microorganismos, utilizando el sustrato almacenado como fuente de carbono para la desnitrificación. La remoción de nitrógeno en el sistema ocurrirá cuando el volumen de microorganismos aerobios y anóxicos está balanceado teniendo en cuenta el periodo de aireación; por lo tanto, se debe considerar la concentración de oxígeno disuelto (OD), la difusión del oxígeno en los gránulos y el volumen de la biomasa en la zona anóxica en los mismos (De Kreuk *et al*, 2005a; De Kreuk y Van Loosdrecht, 2004, Beun *et al*, 2001).

En la figura 3.1 se observa un esquema de la estructura idealizada de un gránulo aerobio ilustrada en capas donde cada una de éstas posee condiciones favorables para el crecimiento de determinados microorganismos; es decir, en la capa externa donde el sustrato y el oxígeno están fácilmente accesibles para los microorganismos se presenta un crecimiento heterotrófico máximo, en la siguiente capa interna se puede presentar el crecimiento de microorganismos nitrificantes que pueden oxidar el amonio a nitrato debido a que el oxígeno está disponible gracias a su penetración dentro del gránulo; en la parte interna de los gránulos se presenta una deficiencia de oxígeno debido a que la penetración del mismo no es completa, en esta zona pueden presentarse condiciones anóxicas/anaerobias que favorecen los procesos de desnitrificación (De Kreuk, 2006; Beun *et al*, 2001)







Figura 3.1. Representación esquemática de la estructura en capas de los gránulos aerobios *Fuente: De Kreuk,* 2006.

3.1 Nitrificación y desnitrificación

La nitrificación es el primer paso en la eliminación del nitrógeno por el proceso de nitrificación – desnitrificación.

La nitrificación es un proceso aerobio realizado por microorganismos litoautotróficos que pertenecen a la familia *Nitrobacteriaceae*. El proceso respiratorio nitrificante se lleva a cabo en dos etapas: 1) oxidación de amonio a nitrito y 2) oxidación de nitrito a nitrato. En cada una de ellas participan microorganismos de géneros diferentes, es decir, no se han identificado microorganismos que puedan convertir directamente el amonio a nitrato. La oxidación del amonio a nitrito es realizada por bacterias de los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrosolobus* entre otros, mientras que la oxidación del nitrito a nitrato la pueden realizar bacterias de los géneros *Nitrobacter* y *Nitrosocccus*. (Cervantes-Carrillo *et al*, 2000).

Las reacciones que tienen lugar se pueden expresar de la siguiente manera:

$$NH_4^+ + 1.5O_2 \longrightarrow NO_2^- + H_2O + 2H^+ \qquad \Delta G = -65 \text{ kcal/mol de } NH_4^+$$
(3.1)

$$NO_2^- + 0.5O_2 \longrightarrow NO_3^- \qquad \Delta G = -19 \text{ kcal/mol de } NO_3^-$$
(3.2)





Las bacterias nitrificantes son organismo extremadamente sensibles a gran cantidad de sustancias inhibitorias, agentes tanto orgánicos como inorgánicos, que pueden impedir el crecimiento y la actividad de estos organismos. Las altas concentraciones de amoníaco y de ácido nitroso pueden resultar inhibitorias, siendo también importante el efecto del pH. El intervalo óptimo de valores de pH es estrecho, entre 7.5 y 8.0, pero algunos sistemas aclimatados a condiciones de pH más bajos también han conseguido la nitrificación de forma satisfactoria. La temperatura también ejerce una gran influencia sobre el crecimiento de las bacterias nitrificantes. Aún así, la magnitud de esta influencia es difícil de establecer. Para que se produzca la nitrificación es fundamental que existan concentraciones de oxígeno disuelto por encima de 2 mg/l. Si el nivel de oxígeno disuelto es inferior a este valor, el oxígeno se convierte en un factor limitante del proceso y puede producirse el cese de la nitrificación (Surampalli *et al*, 1997; Metcalf & Eddy, 1996).

<u>La desnitrificación</u> se define como el conjunto de reacciones de reducción del nitrato y nitrito en las cuáles éstos se utilizan como aceptores de electrones en ausencia de oxígeno libre.

Donante organico de hidrógeno +
$$2NO_3^- \xrightarrow{Bacterias} N_2 + 6H_2O$$
 (3.3)

$$NO_{3}^{-}+2e^{-}+2H^{+} \xrightarrow{Bacterias} NO_{2}^{-}+H_{2}O$$
(3.4)

$$2NO_3^{-} + 10e^{-} + 12H^{+} \xrightarrow{Bacterias} N_2 + 6H_2O$$

$$(3.5)$$

$$C_{5}H_{7}NO_{2}+4NO_{3}^{-}+H_{2}O \rightarrow 4HCO_{3}^{-}+NH_{4}HCO_{3}+2N_{2}$$
Reducción del N del Nitrato
$$(3.6)$$

La desnitrificación es un proceso respiratorio anaerobio heterotrófico que se lleva a cabo en condiciones anóxicas donde la reducción del nitrato hasta $N_{2(g)}$ sigue una serie que pasos que involucran la actividad de diferentes enzimas. Para promover la desnitrificación se debe excluir al oxígeno disuelto; de lo contrario, si existen simultáneamente oxígeno y nitrato, los microorganismos tomarán el oxígeno como aceptor de electrones. Una concentración de OD mayor que 1 mg/L tiene efectos inhibitorios en el proceso (Surampalli *et al*, 1997; Metcalf &





Eddy, 1996). En la desnitrificación, el nitrato es reducido por los microorganismos para obtener energía, en cuatro etapas principales:

$$NO_{3}^{-} \rightarrow NO_{2}^{-} \rightarrow NO_{(g)} \rightarrow N_{2}O_{(g)} \rightarrow N_{2(g)}$$
(3.7)

Nitrato \rightarrow Nitrito \rightarrow Oxido Nítrico \rightarrow Oxido Nitroso \rightarrow Nitrógeno

Se conocen alrededor de catorce géneros de bacterias con la capacidad de desnitrificar. Los géneros desnitrificantes más citados incluyen *Alcalígenes, Paracoccus, Pseudomonas, Thiobacillus* y *Thiosphera* entre otros. Algunos son heterótrofos, pero algunos pueden crecer autotróficamente en hidrógeno y CO₂, o en compuestos sulfurados reducidos. Por ejemplo, *Thiobacillus desnitrificans*, oxida azufre, sulfuro tiosulfato y tiocianato para obtener energía y usa el nitrato y nitrito como aceptores de electrones. Poseen la enzima nitrato reductasa para reducir nitrato a nitrito. Algunas especies, como *Pseudomonas aureofaciens*, no poseen la óxido nitroso reductasa, así que su producto final es N₂O (Donovan y Wood, 2000; Cervantes-Carrillo *et al*, 2000).

3.2 Granulación aerobia en reactores SBR para remoción de nitrógeno

Básicamente, el ciclo de operación de un reactor SBR consiste de una fase de abundancia y escasez de sustrato. En la fase de abundancia se encuentra la disponibilidad de sustrato exógeno mientras que la fase de escasez representa el periodo en el cual no existe disponibilidad de dicho sustrato. Durante el periodo de abundancia de sustrato, el oxígeno es rápidamente consumido debido a la oxidación de sustrato y al almacenamiento de materiales (Li *et al*, 2008a).

En la figura 3.2 se observan los perfiles de concentración de sustrato teniendo en cuenta los periodos de abundancia y escasez del mismo. Cuando el sustrato es suministrado en un corto periodo de tiempo (fase de abundancia), las altas concentraciones de sustrato en el líquido causan la penetración del mismo a profundidades mayores dentro del gránulo que el oxígeno





que se encuentra disuelto en el líquido. Durante este periodo, el oxígeno es rápidamente consumido en las capas externas del gránulo debido al crecimiento bacteriano, el almacenamiento de sustrato en forma de polímeros (como poli-β-hidroxibutiratos (PHBs), polihidroxialcanoatos (PHAs), lípidos y glicógeno) y la nitrificación. En esta etapa el oxígeno presenta una limitada penetración dentro del gránulo (De Kreuk, 2006; Mosquera-Corral *et al*, 2005).

Durante el periodo en donde no hay disponibilidad de sustrato externo (fase de escasez) el crecimiento se realiza mediante el aprovechamiento de los polímeros almacenados en tasas de crecimiento mucho menores que en la fase anterior. La difusión del oxígeno durante este periodo es mayor debido a que decrecen las tasas de respiración de los organismos heterotróficos; sin embargo, estará limitada debido al incremento en la nitrificación durante este período. El nitrato producido puede ser simultáneamente desnitrificado dentro del gránulo usando los polímeros almacenados como donadores de electrones (Mosquera-Corral *et al*, 2005; Beun *et al*, 2001).



Figura 3.2. Perfiles de concentración de sustrato al interior de los gránulos aerobios en un reactor SBR. Ac=Acetato de sodio, PHB=Poli- β -hidroxibutirato, δ_0 =Penetración del oxígeno dentro del gránulo. *Fuente: De Kreuk, 2006; Mosquera-Corral et al, 2005.*

Bajo las condiciones cambiantes de disponibilidad de sustrato la estrategia de sostenimiento adoptada por las poblaciones microbianas es el almacenamiento de sustrato como polímeros





internos cuando el sustrato externo está disponible. Los polímeros almacenados son usados para el crecimiento y el mantenimiento celular en la etapa de escasez de sustrato externo. El almacenamiento de polímeros puede ocurrir en un sistema que está sujeto a condiciones dinámicas respecto a la disponibilidad de sustrato exógeno, nitrógeno y oxígeno. En la fase de reacción aerobia los microorganismos acumulan internamente polímeros de almacenamiento usando el sustrato externo y en la fase de reacción anóxica, cuando el sustrato se ha agotado, los microorganismos pueden usar dichos polímeros almacenados como fuente de carbono y energía para el crecimiento y la desnitrificación (Qin *et al*, 2005).

En los gránulos la profundidad a la que penetra el oxígeno está determinada por la concentración de éste en el líquido y la presencia de sustrato disponible. Sin embargo, de acuerdo con lo reportado por Qin *et al* (2005) el nitrato producido durante la nitrificación puede ser desnitrificado dentro de los gránulos (en las zonas más profundas) usando como donadores de electrones los polímeros almacenados a una tasa de degradación de 17.3 mgC/gC.h. Es así, que tanto el oxígeno suministrado y el tamaño del gránulo están relacionados con la extensión de la zona anóxica dentro del gránulo, como se muestra en la figura 3.3, mientras la concentración de oxígeno sea baja o el granulo sea muy grande, la zona anóxica será extensa y así la capacidad de remoción de nitrógeno será incrementada (Mosquera-Corral *et al*, 2005).



Desnitrificación; organismos heterotróficos

Figura 3.3. Decrecimiento de la zona anóxica con el decrecimiento del tamaño del gránulo, teniendo una concentración de OD constante. a). Gránulo grande. b). Gránulo pequeño. *Fuente: De Kreuk et al, 2005a.*





Yang *et al* (2003) estudiaron los efectos de la relación N/DQO sobre la granulación aerobia usando concentraciones de N-NH₄⁺ entre 25 y 150 mg/l, que corresponden a relaciones N/DQO de 5/100 a 30/100, reportando una granulación aerobia satisfactoria para las respectivas concentraciones de N-NH₄⁺. La figura 3.4 muestra los perfiles de concentración de DQO y nitrificación: (i) casi toda la DQO del influente es removida en la primera hora, (ii) en el reactor en donde se trabajó con una relación N/DQO de 5/100, no se observó la producción de nitrito y nitrato mientras que en los reactores con relaciones N/DQO de 10/100, 20/100 y 30/100 se presentaron perfiles típicos de nitrificación, (iii) ocurrió una completa nitrificación después de la remoción de DQO, (iv) la remoción del N-NH₄⁺ en la primera hora del ciclo fue el resultado de requerimientos microbianos de nitrógeno, en lugar de la ocurrencia de la nitrificación, debido a que no se produjo nitrito ni nitrato.



Figura 3.4. Perfiles de nitrificación y remoción de DQO mediante gránulos aerobios en reactores SBR operados a diferentes relaciones N/DQO; R1 = 5/100, R2 = 10/100, R3 = 20/100, R4 = 30/100. *Fuente: Yang et al*, 2003.



Las actividades de las bacterias oxidantes de amonio y de nitrito fueron descritas mediante la tasa específica de utilización de amonio-oxígeno (SOUR) _{NH4} y la tasa específica de utilización de nitrito-oxígeno (SOUR) _{NO2}, mientras la actividad de las bacterias heterótrofas capaces de desnitrificar se cuantificó mediante la tasa específica de utilización de oxígeno (SOUR)_h bajo diferentes relaciones N/DQO. Los resultados obtenidos indican que las actividades de las bacterias nitrificantes se incrementaron significativamente con el aumento de la relación N/DQO, mientras la actividad de los microorganismos heterótrofos tendió a decrecer. La nitrificación se logró completamente cuando se utilizaron relaciones de 10/100, 20/100 y 30/100. Finalmente, concluyeron que estas relaciones N/DQO no poseen una influencia significativa en la formación de los gránulos; sin embargo, sí influye en las características fisicoquímicas y microbianas de los gránulos obtenidos, ya que la fracción de microorganismos nitrificantes parece incrementarse cuando se aumenta la relación N/DQO.

Teniendo en cuenta la estructura que poseen los gránulos aerobios se considera que los microorganismos se distribuyen de acuerdo con las condiciones ambientales en las que se encuentran, dada la existencia de diferentes zonas, capas y gradientes dentro de los gránulos; teniendo las condiciones de operación del sistema (concentración de sustrato disponible, OD en el líquido y difusión de éste dentro del gránulo) puede lograrse una nitrificación/desnitrificación dentro de los gránulos (ver figura 3.5)(Ivanov y Tay, 2006).



Figura 3.5. Representación esquemática de la nitrificación/desnitrificación en los gránulos aerobios. *Fuente: Li et al,* 2008*a*.





La remoción simultánea de materia orgánica y nitrógeno obtenida mediante gránulos aerobios cultivados en reactores SBR, puede ser llevada mediante la alternancia de condiciones aerobias y anóxicas en el líquido del reactor. Los gránulos aerobios cultivados bajo estas condiciones exhiben mejor sedimentabilidad que aquellos desarrollados bajo condiciones únicamente aerobias.

Qin *et al* (2005) obtuvieron gránulos aerobios formados en un reactor SBR bajo condiciones aerobias/anóxicas después de 40 días de operación; estos gránulos poseían estructuras microbianas compactas con una forma esférica definida (ver figura 3.6). En comparación con el lodo inoculado con un tamaño promedio de flóculos de 0.09 mm, el tamaño de los gránulos cultivados poco a poco se estabilizó gradualmente en un diámetro de 1.9 mm.



Figura 3.6. Diferentes vistas de los gránulos maduros cultivados bajo condiciones alternantes aerobias – anóxicas. *Fuente: Qin et al,* 2005.

Qin *et al* (2006) desarrollaron gránulos microbianos con una excelente sedimentabilidad a diferentes cargas de nitrógeno amoniacal en cuatro reactores SBR operados bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas, en los cuales se encontró la co-existencia de microorganismos heterotróficos, nitrificantes y bacterias capaces de desnitrificar; obteniendo alrededor del 95% de remoción de la DQO del influente en la primera media hora de operación en la fase aerobia.

La figura 3.7 muestra que junto con la eliminación de DQO la concentración de N-NH₄⁺ disminuyó lentamente para satisfacer los requerimientos microbianos de nitrógeno. Después





de la disminución completa de la DQO la concentración de N-NH₄⁺ disminuyó rápidamente debido principalmente a la nitrificación; el amoniaco fue convertido completamente a nitrato al final de la fase aerobia. La desnitrificación completa fue lograda mediante la adición de una fuente de carbono externa (etanol), mientras que se observó una desnitrificación parcial sin la adición de ésta. Este estudio mostró que los gránulos microbianos cultivados bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas pueden remover eficientemente la materia orgánica y convertir completamente el nitrógeno amoniacal a nitrógeno molecular.



Figura 3.7. Perfiles de nitrógeno y DQO en reactores SBR usando una fuente de carbono externa. (a) R1 = 0.15 kg N-NH₄⁺.m⁻³.d⁻¹, (b) R2 = 0.25 kg N-NH₄⁺.m⁻³.d⁻¹, (c) R3 = 0.35 kg N-NH₄⁺.m⁻³.d⁻¹, (d) R4 = 0.45 kg N-NH₄⁺.m⁻³.d⁻¹. \blacksquare DQO; \diamond N-NH₄; \triangle N-NO₂; \blacktriangle N-NO₃. *Fuente: Qin et al*, 2006.





3.3 Características de los reactores SBR

Un reactor SBR operado por lotes (Sequencing Batch Reactor o SBR), es un reactor simple y compacto que puede ser diseñado y operado con el fin de simular un sistema de lodos activados de flujo continuo. En una forma simple, un reactor SBR es un tanque, el cual es operado básicamente por etapas que componen un ciclo, como son: llenado, reacción (aerobia, anóxica, anaerobia), sedimentación y evacuación del efluente tratado.

Debido a su flexibilidad asociada con el tiempo de operación y el espacio requerido para su instalación, las condiciones de operación pueden ser modificadas para cumplir con determinada calidad de efluente tratado; manejando cambios en las características del agua residual, variaciones de flujo; todo ello sin necesidad de incrementar el tamaño del sistema de tratamiento (De Kreuk, 2006).

En la figura 3.6 se esquematiza la operación de los reactores SBR que se basa en una serie de fases o etapas que componen un ciclo de operación; sin embargo, éstas pueden tener fases secundarias.

- LLENADO ESTÁTICO: En esta etapa se acumula el sustrato en el reactor y no se aplica energía al sistema.
- LLENADO CON MEZCLA: Se presenta el mezclado sin aireación, en esta etapa se presenta una mínima actividad microbiana aeróbica; típicamente, se presentan reacciones anóxicas y anaerobias.
- LLENADO CON AIREACION: El llenado con aireación, generalmente permite que se lleven a cabo las reacciones aerobias; sin embargo, a veces se pueden presentar reacciones anóxicas y aerobias simultáneamente.
- REACCION Y MEZCLA: El mezclado sin aireación permite el desarrollo de reacciones anóxicas y anaerobias.
- REACCION Y AIREACION: El mezclado con aireación permite el incremento en la actividad microbiana de las bacterias aerobias.







Figura 3.8. Operación de un reactor SBR. La configuración de las fases depende de los objetivos del tratamiento *Fuente: McSwain,* 2005; *Irvine y Ketchum,* 1989.

El agua residual entra al reactor durante la fase de llenado. El grado de interacción entre los constituyentes del agua residual y la biomasa en el reactor depende de las condiciones de aireación y del sistema de mezclado. Los constituyentes del agua residual se acumulan, sin que ocurra mayor biodegradación durante el llenado. Las reacciones aerobias inician durante la fase de aireación, y las reacciones anóxicas y anaerobias se presentan durante la etapa de mezclado en donde la aireación ha sido suspendida. En general, la duración de estas etapas depende de la cantidad de sustrato biodegradable alimentado y de la estrategia de llenado empleada. Por ejemplo, las reacciones anóxicas dentro de los gránulos pueden ocurrir durante la fase de aireación si las formas oxidadas del nitrógeno están presentes, la concentración de oxígeno disuelto es lo suficientemente baja y se cuenta con una adecuada cantidad de donadores de electrones.





En general, un ciclo de operación de un reactor SBR inicia con las reacciones que se presentan durante la etapa de llenado del reactor, las cuales son consumadas durante la fase de reacción por medio de la aireación o el adecuado mezclado. La separación de la biomasa del agua tratada se realiza en la etapa de sedimentación; una vez sedimentada la biomasa se procede a la evacuación del efluente tratado y finalmente se encuentra la etapa de tiempo muerto que se encuentra entre la etapa de salida del efluente y el llenado (comienzo del nuevo ciclo), completando así un ciclo de operación.

Como se observa en la tabla 3.1, los efectos de la exposición cíclica de los microorganismos a las diferentes condiciones del proceso en cada una de las etapas y las estrategias de operación utilizadas, definen la población microbiana que será la seleccionada para llevar a cabo el proceso degradativo; y como resultado de ello, se establecerán los limites y capacidad de tratamiento del sistema. El estado fisiológico de los consorcios microbianos resultantes en el arranque del sistema pueden ser modificados mediante la aplicación de cambios en la estrategia de operación del mismo (Wilderer *et al*, 2001).

Tabla 3.1. Efectos de la exposición cíclica de los microorganismos a las diferentes condiciones
en la operación del reactor

Factores que varían cíclicamente	Efectos logrados
Altas concentraciones de sustratos fácilmente biodegradables.	Microorganismos con tasas de crecimiento altas, lográndose reducir el excesivo crecimiento de microorganismos filamentosos. Minimización de la sensibilidad a choques de cargas, características del influente y en general a variaciones de los factores ambientales.
Altas concentraciones de sustrato seguidas por periodos extendidos de ayuno.	Acumulación de EPS (sustancias poliméricas extracelulares) y supresión del crecimiento excesivo de microorganismos filamentosos. Enriquecimiento de las bacterias formadoras de flóculos con características fisiológicas necesarias para alcanzar los objetivos del tratamiento.
Condiciones aerobias y anóxicas.	Enriquecimiento de microorganismos nitrificantes y heterótrofos desnitrificantes para la remoción de nitrógeno
Condiciones anaerobias y aerobias.	Enriquecimiento de microorganismos P-acumuladores para la remoción biológica de fósforo.

Fuente: Wilderer et al, 2001.





Una de las principales ventajas de los reactores SBR es la facilidad con que puede variarse su estrategia de operación. El reactor SBR puede simular tanto un reactor de flujo pistón como un reactor completamente mezclado; dependiendo de la naturaleza de la fase de llenado. Cuando se emplea una fase de llenado estática se acumula una máxima concentración de sustrato, y los gradientes de captura de sustrato son observados al inicio de la fase de reacción. El llenado con aireación o mezclado puede ser usado para alterar patrones de alimentación y someter a la biomasa microbiana a una variedad de crecimiento y condiciones de ayuno. Adicionalmente, los ciclos usados en un reactor SBR pueden ser fácilmente ajustados para cumplir con las necesidades de tratamiento que se requieren.

Desde su concepción a finales de los años 60 los reactores SBR han tenido un amplio rango de beneficios y aplicaciones. En comparación con los reactores de flujo continuo los reactores SBR pueden ser usados en el tratamiento de aguas residuales industriales, la remoción biológica de nutrientes (fósforo y nitrógeno) y en tratamiento anaerobio. Este tipo de reactores también han probado tener una alta adaptabilidad a esquemas de tratamiento complejos (Wilderer *et al*, 2001).




4. METODOLOGÍA

El trabajo experimental se llevó a cabo en el laboratorio de ingeniería ambiental del Instituto de Ingeniería - UNAM; para ello se realizó el diseño, construcción, puesta en marcha, operación y estabilización de un reactor SBR para el cultivo de gránulos aerobios. Con el fin de lograr la eliminación simultánea de materia orgánica (representada como DQO), nitrógeno amoniacal y nitrato, usando gránulos aerobios, se tomó en cuenta la extensa revisión bibliográfica realizada y se definieron las siguientes variables de operación del reactor: duración del ciclo, distribución de las fases de un ciclo y carga orgánica.

El trabajo experimental se dividió en dos etapas principales:





4.1 Cultivo de los gránulos aerobios

El cultivo de los gránulos aerobios se realizó bajo condiciones únicamente aerobias en un reactor SBR convencional que poseía un volumen útil de 18.5 l operado mediante ciclos de 6 horas con una distribución de fases como se muestra en la tabla 4.1:

Tabla 4.1. Horarios y duración del ciclo de operación en un día - reactor SBR.

Faces del Cielo		Tiempo			
Fuses del Cicio	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	(min.)
Llenado	00:00 - 00:10	06:00 - 06:10	12:00 - 12:10	18:00 - 18:10	10
Fase aerobia	00:10 - 05:45	06:10 - 11:45	12:10 - 17:45	18:10 - 23:45	335
Sedimentación	05:45 - 05:50	11:45 - 11:50	17:45 - 17:50	23:45 - 23:50	5
Vaciado	05:50 - 06:00	11:50 - 12:00	17:50 - 18:00	23:50 - 00:00	10

El reactor SBR poseía una longitud de 120 cm y un diámetro de 15 cm, fue alimentado con agua residual sintética mediante una entrada en el fondo del reactor por medio de una bomba centrífuga que suministró agua potable y una bomba peristáltica que suministró el concentrado de nutrientes; las dos líneas se mezclaban para proveer la concentración de nutrientes requeridos en el influente del reactor (300 mg DQO/l).

El aire fue suministrado mediante un difusor a razón de 4 l/min (13.6 m³.m⁻².h⁻¹) para mantener una concentración de OD entre 3 y 4 mg/l. El efluente fue evacuado mediante una bomba centrífuga que succionaba a una profundidad fija por encima del volumen de lodos sedimentados. El volumen de recambio del reactor fue de 9.7 l. El reactor contaba con electroniveles encargados de controlar los niveles de llenado y vaciado.

4.2 Reactor SBR *airlift*

Los gránulos aerobios son considerados como un caso especial de crecimiento de biopelículas. Se han obtenido gránulos aerobios bajo condiciones de alta y baja turbulencia; sin embargo, se considera que la formación de las biopelículas y en especial de los gránulos aerobios está relacionada directamente con el crecimiento de la biomasa y con el





desprendimiento microbiano originado por esfuerzos cortantes que se presenten dentro del reactor.

En un reactor SBR *airlift* se presenta un esfuerzo cortante mayor que en un reactor SBR convencional. Debido a que se asegura una trayectoria circular de los gránulos aerobios se logra un esfuerzo cortante que tiene una gran influencia en la estructura y consistencia obteniendo gránulos más esféricos, densos y fuertes. Algunos autores reportan que ha sido más fácil el cultivo y mantenimiento de los gránulos aerobios en reactores SBR *airlift* que en reactores SBR convencionales (Beun *et al*, 2002; 2001).

El reactor *airlift* está compuesto por zonas diferenciadas. La primera zona (tubo interno del reactor), en la cual el gas (aire o nitrógeno) es suministrado y fluye en paralelo junto con el líquido. Ésta zona es denominada *zona de ascenso* y en ella se presenta la transferencia de oxígeno. En la *zona de separación de gas* se separan las burbujas de gas del líquido el cual seguidamente entra a la *zona descendente* (tubo exterior del reactor) y fluye hasta el *fondo del reactor* en donde nuevamente entra a la zona ascendente (ver figura 4.1) (Znad *et al*, 2004).



Figura 4.1. Zonas en un reactor airlift. Fuente: Wang et al, 2005b.

Una vez formados los gránulos aerobios se inició la operación de un reactor por lotes (batch) tipo *airlift* para lograr la nitrificación/desnitrificación, en donde se mantuvieron los gránulos





aerobios cultivados que realizaron la remoción tanto de la materia orgánica como del nitrógeno amoniacal presente en el agua residual alimentada al sistema.

4.2.1 Características del reactor

La etapa 2 se llevó a cabo en un reactor tipo *airlift* construido en acrílico que se operó como SBR y se alimentó con agua residual sintética; el cual posee un tubo interno con un diámetro de 6.35 cm y longitud de 80 cm. El tubo externo tiene un diámetro de 10.16 cm y longitud de 120 cm. El tubo interno se encuentra a 2 cm del fondo del reactor y a 25 cm abajo de la superficie del líquido. El reactor cuenta con un volumen de trabajo de 8 litros (ver figura 4.2).



Figura 4.2. Reactor *airlift* diseñado y construido para esta investigación.

El agua residual fue alimentada mediante una entrada en el fondo del reactor por medio de una bomba centrífuga que suministró agua potable y una bomba peristáltica que suministró





el concentrado de nutrientes; las dos líneas se mezclaban para suministrar la concentración de nutrientes requeridos en el influente del reactor.

El aire se suministró durante la fase aerobia mediante un difusor a razón de 1.5 l/min (34.6 m³.m⁻².h⁻¹) para mantener una concentración de OD entre 3 y 4 mg/l y nitrógeno en la fase anóxica a razón de 0.2 l/min (4.6 m³.m⁻².h⁻¹) en la zona de ascenso.

La evacuación del agua tratada se realizó mediante una bomba peristáltica que succionaba a una profundidad fija por encima del volumen de lodos sedimentados. El volumen de recambio del reactor fue de 3 l. El reactor contaba con electroniveles encargados de controlar los niveles de llenado y vaciado.

Los muestreos de influente y efluente se realizaron mediante bombas peristálticas que colectaron muestras de cada ciclo de operación, únicamente durante los periodos de llenado y vaciado, respectivamente.

4.3 Composición del agua residual sintética

Con base en los trabajos de Li *et al*, (2008b), Kim *et al*, (2007), Jang *et al*, (2003), Tay *et al*, (2001a); se adaptó una composición química de agua residual para este experimento (ver tabla 4.2).

CH3COONa132.3 (90 mg/l como DQO)Proteína vegetal451.5 (210 mg/l como DQO)hidrolizada140 (20 como DQO)	Compuesto	Cantidad (mg/l)
Proteína vegetal hidrolizada 451.5 (210 mg/l como DQO)	CH ₃ COONa	132.3 (90 mg/l como DQO)
hidrolizada (NUL) CO	Proteína vegetal	451.5(210 mg/l como DOO)
(NILL) CO $140(20 some NI)$	hidrolizada	451.5 (210 mg/ 1 como DQO)
$(N\Pi_4)_2 SO_4$ 140 (S0 COMO IN)	$(NH_4)_2SO_4$	140 (30 como N)
KH ₂ PO ₄ 44 (10 como P)	KH ₂ PO ₄	44 (10 como P)
K ₂ HPO ₄ 45	K ₂ HPO ₄	45
CaCl ₂ .2H ₂ O 30	CaCl ₂ .2H ₂ O	30
MgSO ₄ .7H ₂ O 25	MgSO ₄ .7H ₂ O	25
FeSO ₄ .7H ₂ O 20	FeSO ₄ .7H ₂ O	20
Na ₂ CO ₃ 66 (60 como CaCO ₃)	Na ₂ CO ₃	66 (60 como CaCO ₃)
NaHCO ₃ 105 (60 como CaCO ₃)	NaHCO ₃	105 (60 como CaCO ₃)

 Tabla 4.2. Composición química de agua residual sintética





Micronutrientes	Cantidad (mg/l)
H_3BO_3	0.05
ZnCl	0.05
CuCl ₂	0.05
MnSO4.H ₂ O	0.05
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0.05
AlCl ₃	0.05
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.05
NiCl ₂	0.05

4.4 La carga orgánica como parámetro de operación

En los sistemas discontinuos la carga orgánica es un parámetro importante que representa la cantidad de sustrato (expresada en DQO) proporcionada al sistema por cantidad unitaria de microorganismos y por unidad de tiempo (Metcalf & Eddy, 2003) y se encuentra definida por la siguiente ecuación:

$$CO = \frac{Q \cdot S_0}{V \cdot X} = \frac{S_0}{TRH \cdot X}$$
(4.1)

Donde:

- **CO** Carga orgánica aplicada, kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹
- Q Caudal de agua tratada por día o volumen de recambio por número de ciclos diario, m³/d
- S_0 DQO en el influente, kg DQO/m³
- **V** Volumen del reactor, m³
- X Concentración de microorganismos expresada como SST en el reactor, kg SST/m³
- TRH Tiempo de retención hidráulico, d

El tiempo de retención celular es el tiempo promedio que los microorganismos permanecen en el sistema; se define como la masa de microorganismos en el reactor dividida entre la masa de microorganismos removidos del sistema diariamente. Este es inseparable de la carga





orgánica ya que éstos dependen uno del otro. Li *et al* (2008b) lo definen según la siguiente ecuación:

$$TRC = \frac{V \cdot X}{n(V_e \cdot X_e + V_s \cdot X)}$$
(4.2)

Donde:

- **V** Volumen del reactor
- X Concentración de biomasa en el licor mezclado, kg SST/m³
- Xe Concentración de sólidos suspendidos en el sobrenadante después de la sedimentación (en el efluente)
- Ve Volumen de sobrenadante descargado después de la sedimentación (efluente), m³
- Vs
 Volumen de licor mezclado purgado del reactor (purga durante la etapa de mezcla completa), m³
- n Número de ciclos por día

Un TRC bajo implica una alta tasa de crecimiento de los lodos, lo que implica también un elevado consumo de sustrato. El tiempo de retención celular (TRC) deseado en el sistema debe ajustarse mediante la purga de los sólidos con el fin de controlar tanto ésta variable como la carga orgánica en el reactor.

4.5 Estrategia del trabajo experimental

La secuencia de fases para llevar a cabo el tratamiento biológico por lotes del agua residual que se alimenta al reactor se conoce como ciclo y está compuesto por las fases de llenado, reacción, reposo y vaciado (ver figura 4.3) (Irvine y Ketchum, 1989). Durante periodos definidos de tiempo se alimenta el agua residual fresca al reactor, en cuyo fondo se conserva la biomasa del ciclo anterior, hasta completar el volumen total de reacción.





Posterior al llenado, durante la etapa de reacción que se divide en dos fases, aerobia y anóxica, con el fin de lograr la efectiva remoción del nitrógeno del agua residual se llevan a cabo las reacciones enzimáticas de consumo de sustrato, crecimiento de la biomasa, oxidación del amonio a nitrato y reducción de nitrato a nitrógeno molecular.

Al concluir la etapa de reacción se suspende el suministro de gas para permitir la sedimentación de los sólidos en suspensión (gránulos aerobios – biomasa). Con el fin de controlar la cantidad de biomasa en el reactor medida como SST se pueden realizar purgas de lodos en este periodo. Seguidamente, se evacua el efluente clarificado utilizando un sistema fijo de extracción por bombeo que succiona el efluente desde el nivel superior del volumen requerido con el fin de conservar la biomasa sedimentada.



Figura 4.3. Etapas de un ciclo de operación del reactor *airlift*.

Con base en los trabajos de Li *et al* (2008a), De Kreuk (2006), Qin *et al* (2006), Tay *et al* (2006), McSwain (2005), Beun *et al* (2002 y 2001) se realizaron los ajustes en la operación del reactor (duración de los ciclos de operación) para lograr la formación de los gránulos aerobios y la efectiva remoción simultánea de la materia orgánica y el nitrógeno del agua residual. En este





trabajo se emplearon ciclos de operación de 6 horas, repetidos cuatro (4) veces en 24 horas con la distribución de las fases como se muestra en la tabla 4.3.

Facas dal Ciclo		Tiempo			
ruses del Cicio	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	(min.)
Llenado	00:00 - 00:05	06:00 - 06:05	12:00 - 12:05	18:00 - 18:05	5
Fase aerobia	00:05 - 03:50	06:05 - 09:50	12:05 - 15:50	18:05 - 21:50	225
Fase anóxica	03:50 - 05:50	09:50 - 11:50	15:50 - 17:50	21:50 - 23:50	120
Sedimentación	05:50 - 05:55	11:50 - 11:55	17:50 - 17:55	23:50 - 23:55	5
Vaciado	05:55 - 06:00	11:55 - 12:00	17:55 - 18:00	23:55 - 00:00	5

Tabla 4.3. Horarios y duración del ciclo de operación en un día – reactor SBAR.

Durante las diferentes etapas de experimentación se ajustó la carga orgánica referida a SST (kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹), tal como se muestra en la tabla 4.4.

Tabla 4.4. Carga	orgánica	durante l	as etapas	de la ex	perimentación.
------------------	----------	-----------	-----------	----------	----------------

	Operación del reactor		Carga orgánica	Carga orgánica	
ETAPA	Fase Aerobia	Fase Anóxica	(kgDQO.kgSST ⁻¹ .d ⁻¹)	volumétrica (kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹)	
Formación de gránulos aerobios – Reactor SBR	SI	NO	0.35	0.60	
Inoculación con gránulos aerobios - Reactor SBAR	SI	NO	0.45	0.60	
Nitrificación en reactor SBAR	SI	NO	0.35	0.35	
Desnitrificación en reactor SBAR	SI	SI	0.35	0.35	

4.6 Muestreos

Para obtener los datos de desempeño del sistema se analizó el agua en influente y efluente para obtener valores de DQO, sólidos suspendidos totales, concentración de amonio, nitrato, nitrito y fosfato (como ortofosfato).

En este trabajo se colectaron dos tipos de muestras para realizar las determinaciones en el influente y efluente del reactor:





- ⇒ Muestra Compuesta de 24 horas: Se tomó una muestra compuesta de los 4 ciclos de operación en el día, del influente y efluente, dos veces por semana, la cual se colectó mediante el uso de dos bombas peristálticas (MASTERFLEX), que tomaron la muestra desde la línea de flujo del efluente e influente y se almacenaron en un refrigerador. Con dichas muestras se realizaron las determinaciones indicadas en la tabla 4.5.
- ⇒ Muestra Puntual: Durante la etapa de reacción se tomó una muestra puntual del licor mezclado del reactor, con el fin de determinar sólidos suspendidos totales (SST), índice volumétrico de lodos (IVL), sólidos sedimentables (SSe).

Determinaciones	Influente	Efluente	Reactor	Frecuencia de muestreo
DQO _{dis}	С	С		2/semana
N-NH4 ⁺	С	С		2/semana
N-NO ₃ -		С		2/semana
N-NO ₂ -		С		2/semana
N- Kjeldahl			Р	1/semana
P-PO ₄ -3	С	С		2/semana
SST			Р	2/semana
IVL			Р	2/semana
SSe			Р	2/semana
Temperatura			directa	2/semana
pН			directa	2/semana

Tabla 4.5. Tipo y frecuencia de muestreo.

C: Compuesta, P: Puntual.

Se realizaron muestreos de los gránulos aerobios del reactor con el propósito de estudiar sus características morfológicas mediante microscopía óptica. Además se determinó la cantidad de nitrógeno contenida en la biomasa (N-Kjeldahl) que puede considerarse como el nitrógeno celular.

Con el fin de conocer el desempeño del reactor en la remoción simultánea de materia orgánica y nitrógeno del agua residual, se realizaron perfiles de concentración de DQO, nitrógeno amoniacal (N-NH₄), nitrato (N-NO₃), oxígeno disuelto (OD), pH y temperatura (tomados directamente en el reactor). Durante un ciclo, cada hora se tomó una muestra a la cual se le determinaron los parámetros descritos anteriormente.





4.7 Técnicas analíticas

Para la obtención de los valores correspondientes a los diferentes parámetros de respuesta del sistema tales como demanda química de oxígeno (DQO), nitrógeno amoniacal (N-NH₄), nitrato (N-NO₃), nitrito (N-NO₂), fosfato (P-PO₄) y nitrógeno Kjeldahl; se realizaron determinaciones analíticas de laboratorio usando kits MERCK que se basan en las metodologías encontradas en APHA, AWWA y WCPF (1992). En la tabla 4.6 se muestran las técnicas analíticas que se usaron para realizar las determinaciones mencionadas.

Parámetro	Técnica Analítica
Domanda química do ovígono	Digestión por reflujo cerrado (148°C); usando kit de soluciones A y B
	de Merck y determinaciones por fotometría a 445nm. Basado en el
- 500	método 5220-D de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Nitrógeno amoniacal – N-	Fotometría de indofenol a 690 nm. Kit de Merck Spectroquant
NH4 ⁺	(1.00683) en un rango de 2 – 150 mg N-NH ₄ +/l. Basado en el método
	4500NH ₃ -D de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Nitrato - N-NO2-	Fotometría de un compuesto nitro rojo a 525 nm. Kit de Merck
	Spectroquant (1.14773) en un rango de $0.2 - 20 \text{ mg N-NO}_3/1$.
	Fotometría de un colorante azo violeta a 525 nm. Kit de Merck
Nitrito – N-NO ₂ -	Spectroquant (1.14776) en un rango de $0.002 - 1.00 \text{ mg N-NO}_2$ /l.
	Basado en el método 4500NO₂=-B de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Nitrógeno Kieldhal	Digestión en equipo macro Kjeldhal (digestión y destilación). Basado
	en el método 4500N-C de APHA, AWWA y WCPF (1992).
	Fotometría del ácido molibdovanadofosfórico a 410 nm. Kit de
Fosfato – P-PO ₄ -3	Merck Spectroquant (1.14842) en un rango de $0.5 - 30 \text{ mg P-PO}_{4^{-3}}/1$.
	Basado en el método 4500P-C de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Sólidos suspendidos totales -	Método gravimétrico; sólidos retenidos en papel filtro de microfibra
SST	de vidrio (1.6µm). Secados a 103 – 105 °C. Basado en el método 2540-
	D de de APHA, AWWA y WCPF (1992).
	Método de medición de la decantabilidad de lodos (APHA, AWWA
Índice volumétrico de lodos -	y WCPF, 1992 – 2710D). Volumen (en ml) ocupado por una muestra
IVL	de lodo sedimentado en un cilindro de un litro sin agitación después
	de 30 minutos de decantación.
Sólidos sedimentables - SSe	Método volumétrico usando un cono Imhoff. Basado en el método
Solidos scullicitables - 55e	2540-F de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Temperatura	Medición directa con termómetro digital. Basado en el método 2550-
remperatura	B de APHA, AWWA y WCPF (1992).
Ovígeno Disuelto (OD)	Medición directa con electrodo de membrana. Basado en el método
Oxigeno Disuelto (OD)	4500-O-G de APHA, AWWA y WCPF (1992).
nH	Medición directa con potenciómetro. Basado en el método 4500 H-B
PII	de APHA, AWWA y WCPF (1992).

Tabla 4.6. Técnicas analíticas para la determinación de variables de seguimiento del sistema





5. RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos a lo largo de 273 días de experimentación (100 días de formación de los gránulos aerobios en un reactor SBR convencional y 173 días de operación en un reactor SBR *airlift*). Los resultados permiten conocer las condiciones de operación bajo las cuales se consiguió la obtención de gránulos aerobios cultivados con agua residual sintética y la nitrificación y desnitrificación.

5.1 Resultados en el reactor SBR convencional

En esta etapa se logró la formación de gránulos aerobios en un reactor SBR convencional que posee un volumen útil de 18.5 litros operado mediante ciclos de 6 horas para un total de 4 ciclos en un día, cada uno con la siguiente distribución de fases: llenado, fase aerobia, sedimentación y vaciado. Los parámetros de operación del reactor SBR convencional se describen en la Tabla 5.1.





Parámetros	Unidades	Valor
Carga orgánica (considerando SST)	kgDQO.kgSST ⁻¹ .d ⁻¹	0.40 - 0.70
Carga orgánica volumétrica	kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹	0.60 - 0.75
Caudal de agua tratada	1/d	38
Volumen de recambio	1 (%)	9.7 (52)
Volumen útil	1	18.5
DQO _d en influente	kg/m ³	0.3
SST en licor mezclado	kg/m ³	1.2

Tabla 5.1. Parámetros de operación para el reactor SBR

Con el fin de obtener datos de desempeño del sistema durante este periodo experimental se analizó el agua en influente y efluente para obtener valores de DQO_d, sólidos suspendidos totales (SST) en el reactor, concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH₄) en el influente y efluente, nitrato (N-NO₃) y nitrito (N-NO₂) en el efluente. Asimismo, se realizaron determinaciones microscópicas para conocer los posibles cambios morfológicos de los gránulos aerobios. A continuación se muestran los resultados obtenidos durante esta etapa.

5.1.1 Morfología y capacidad de sedimentación de los gránulos

Los gránulos aerobios fueron cultivados por un periodo de 100 días durante los cuales se obtuvieron gránulos con forma casi esférica, buena sedimentabilidad y consistencia. Las características morfológicas fueron observadas mediante un microscopio óptico OLYMPUS modelo SZX9.

En la figura 5.1 se observa que los gránulos obtenidos presentan estructuras definidas que se distinguen fácilmente en el licor mezclado del reactor. Inicialmente se presentaban flóculos y gránulos pequeños que poseían una consistencia poco compacta. Los diámetros de los gránulos inicialmente oscilaban entre 0.5 y 0.8 mm. Al final de esta etapa solamente se contaba con gránulos que poseían una estructura más consistente, con forma medianamente esférica y los diámetros oscilaban entre 0.8 y 1.0 mm.

Además, se determinó la capacidad de sedimentación de los gránulos aerobios por medio de una probeta de 1 l que se llenó con una muestra del licor mezclado del reactor tomando el





tiempo de sedimentación de la biomasa (Figura 5.2). Los tiempos de sedimentación observados para los gránulos aerobios cultivados estuvieron entre 1.2 y 1.5 min.



Figura 5.1. Gránulos aerobios obtenidos en un reactor SBR. a) 36 días; b) 66 días; c) 87 días.



Figura 5.2. Prueba de sedimentación de los gránulos aerobios a) 0 s; b) 10 s, c) 30 s; d) 50 s; e) 70 s; f) 90 s.





5.1.2 Demanda química de oxígeno y carga orgánica

La figura 5.3 se presenta la DQO_d en el influente que osciló entre 300 y 350 mg DQO_d/1 y en el efluente entre 45 y 100 mg DQO_d/l, obteniendo una remoción promedio del 80 %. Debido a las variaciones de la concentración de microorganismos en el reactor la carga orgánica, referenciada a los SST, osciló entre 0.4 y 0.6 kgDQO.kgSST-1.d-1 y la carga orgánica volumétrica varió entre 0.6 y 0.8 kgDQO.m-3.d-1 (ver figura 5.4).





5.1.3 Sólidos suspendidos totales en el reactor e índice volumétrico de lodos

La concentración de sólidos suspendidos totales en el reactor (figura 5.5) observada durante la experimentación se mantuvo en un intervalo de 1000 a 1600 mg SST/l. Al inicio de la experimentación se observó que los SST en el reactor aumentaron gradualmente y la carga orgánica (referida a SST) disminuyó; sin embargo, en del día 65 se tuvo un problema con el suministro de aire y después de ello se observó que la concentración de SST empezó a disminuir siendo evacuados con el efluente y se observó que la carga orgánica en el reactor aumentó.

Debido al fallo en el suministro del aire (día 65) la concentración de SST dentro del reactor disminuyó. Los gránulos se volvieron esponjosos y proliferó el crecimiento de microorganismos filamentosos, los cuales crecen en condiciones de bajo contenido de oxígeno disuelto en el sistema (OD < 1.1 mg/l) (Liu y Liu, 2006); por ello, los gránulos menos densos fueron evacuados con el efluente perdiéndose biomasa en el reactor.



Al formarse los gránulos aerobios se observó un lodo denso de rápida sedimentación que poseía valores de índice volumétrico de lodos (IVL) inferiores a 60 ml/g. Con el problema de suministro de aire se obtuvo un lodo más esponjoso que ocupaba un mayor volumen dentro del reactor y se observó que el IVL aumentó hasta 117 ml/g; sin embargo, el lodo poseía un





tiempo de sedimentación bajo aún después de haberse esponjado (t_{sed} = 1.35 min). Jang *et al* (2003) y Tay *et al* (2002d) han reportado que generalmente un lodo granular posee buenas características de sedimentación, si los valores de IVL se encuentran entre 80 y 120 ml/g.

5.1.4 Nitrógeno amoniacal, nitrato y nitrito

El objetivo principal de este trabajo es lograr la nitrificación y desnitrificación con gránulos aerobios. Durante este periodo experimental, con objeto de lograr la formación de los gránulos, únicamente se operó bajo condiciones aerobias sin considerar la posible desnitrificación. Por esta razón se hizo seguimiento al comportamiento del nitrógeno amoniacal, nitrato y nitrito a partir del día 30 de operación del sistema y hasta el final de esta etapa.

En el transcurso de este período se alcanzó una nitrificación casi completa en donde la concentración promedio de nitrógeno amoniacal en el influente estuvo entre 35 y 38 mg N-NH₄/l. Con la consecuente transformación en nitrato, se tuvieron concentraciones entre 32 y 33 mg N-NO₃/l; la concentración de nitrógeno amoniacal en el efluente estuvo entre 3 y 10 mg N-NH₄/l. La concentración de nitrito presente en el efluente (entre 0.05 y 0.1 mg N-NO₂/l) fue tan baja que se consideró despreciable (ver figura 5.6).



Figura 5.6. Nitrógeno amoniacal en influente y efluente, nitrato y nitrito en el efluente





Durante esta etapa la temperatura de operación de reactor se mantuvo entre 19 y 21°C, el pH estuvo entre 8.5 y 8.7 y la concentración de oxígeno disuelto entre 4.3 y 5.4 mg/l. Yang *et al* (2004b) sugieren que las condiciones óptimas para lograr la nitrificación deben ser: pH en el rango de 7.5 a 8.0 debido a que puede promoverse la producción de amoniaco libre (NH₃) que puede actuar como inhibidor de la nitrificación y la concentración de OD debe ser mayor de 2 mg OD/l. Las condiciones mantenidas durante esta etapa promovieron la transformación del nitrógeno amoniacal a nitrato lográndose una nitrificación satisfactoria en el sistema. Además, se observó que la nitrificación presentada no fue afectada por el fallo en el suministro de aire (día 65).

5.2 Operación del reactor airlift SBR

Una vez formados los gránulos aerobios, y teniendo en cuenta la nitrificación lograda, se inició la operación del reactor *airlift* SBR (Sequencing Batch Airlift Reactor - SBAR, ver figura 5.7) utilizando los gránulos aerobios cultivados en el reactor SBR convencional. En el SBAR se logró la remoción integral de nitrógeno amoniacal al ajustar la distribución de las fases en los ciclos de operación (ver figura 4.3, capítulo 4.5). Al principio, para que los gránulos se adaptaran a las nuevas características del reactor, se operó bajo las mismas condiciones que tenía el SBR convencional y después se incorporó una fase anóxica dentro de la operación del reactor para lograr, de manera secuencial, la remoción de DQO_d, nitrificación y desnitrificación.

El reactor utilizado en esta etapa posee un volumen útil de 8 litros; fue operado mediante ciclos de 6 horas para un total de 4 ciclos en un día, cada uno con la siguiente distribución de fases: llenado, fase aerobia, fase anóxica, sedimentación y vaciado. En la tabla 5.2 se muestran los parámetros de operación considerados para esta etapa.







Figura 5.7. Reactor SBAR a nivel laboratorio

Parámetros	Unidades	Valor
Carga orgánica (considerando SST)	kgDQO.kgSST ⁻¹ .d ⁻¹	0.14 - 0.55
Carga orgánica volumétrica	kgDQO.m ⁻³ .d ⁻¹	0.20 - 0.50
Caudal de agua tratada	1/d	12
Volumen de recambio	1 (%)	3 (38)
Volumen útil	1	8
DQO _d en influente	kg/m ³	0.3
SST en licor mezclado	kg/m ³	1.2

Tabla 5.2. Parámetros de operación para el reactor SBAR

Al igual que en la etapa anterior, para conocer el desempeño del sistema durante este periodo experimental, se analizó el agua en influente y efluente para obtener valores de DQO_d, SST en el reactor y efluente, concentración de N-NH₄ en el influente y efluente, concentración de N-





NO₃ y N-NO₂ en el efluente. Además, se realizaron determinaciones de nitrógeno Kjeldahl de la biomasa del reactor para establecer una relación entre éste parámetro y los sólidos suspendidos dentro del reactor, y así, conocer el nitrógeno contenido en la biomasa. Así mismo se realizó un seguimiento a la morfología de los gránulos por medio de microscopía óptica.

5.2.1 Morfología de los gránulos aerobios

Al inicio de la experimentación con el SBAR, los gránulos cultivados se fueron haciendo más pequeños con diámetros que oscilaban entre 0.2 y 0.5 mm y se observaban poco compactos. Después del día 40 de operación se observó que los gránulos comenzaron a adaptarse a las nuevas condiciones de operación alcanzando tamaños entre 0.5 y 1.0 mm y presentando estructuras más compactas y redondeadas. En la figura 5.8 se puede apreciar la morfología de los gránulos aerobios de acuerdo con el tiempo de operación del reactor SBAR.



Figura 5.8. Morfología de los gránulos aerobios en el reactor airliff. a) 35 días; b) 43 días; c) 62 días.

5.2.2 *Comportamiento de la carga orgánica (CO)*

Esta etapa experimental a su vez se dividió en dos sub-etapas: la primera en donde se operó solamente bajo condiciones aerobias y en la segunda se operó en condiciones alternas aerobias/anóxicas para lograr la remoción de nitrógeno del agua residual. Durante los primeros 24 días de operación, el reactor fue ajustado para trabajar únicamente bajo condiciones aerobias y después se modificó la programación para que la fase de reacción se dividiera en 2.5 horas de reacción aerobia y 1.5 horas de reacción anóxica.





Durante los primeros 24 días de operación aerobia, la carga orgánica referenciada a los SST se mantuvo entre 0.22 y 0.55 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹, lo cual equivalió a una carga orgánica volumétrica entre 0.32 y 0.38 kgDQO.m⁻³.d⁻¹. Posteriormente, durante el período de operación del reactor bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas, la carga orgánica referenciada a SST osciló entre 0.33 y 0.55 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ y la correspondiente carga orgánica volumétrica se mantuvo entre 0.41 y 0.53 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ (ver figura 5.9).



Figura 5.9. Valores de carga orgánica en el reactor *airlift* SBR. (Las cargas orgánicas indicadas son el promedio de cada etapa (kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹)

Teniendo en cuenta que la carga orgánica depende de la biomasa presente en el reactor (ver ecuación 4.1, capítulo 4.4) en la figura 5.10 puede observarse su comportamiento de acuerdo con los SST en el reactor, los cuales, al inicio de este período, disminuyeron de 1533 hasta 720 mg SST/1 en el día 24, y por ello, la carga orgánica tendió a aumentar de 0.23 a 0.52 kgDQO.kgSST-1.d-1. A partir de la operación bajo condiciones aerobias/anóxicas, los sólidos en el reactor aumentaron gradualmente hasta 1349 mg SST/1 (día 43); en el día 45 se aumentó la cantidad de sustrato (expresada como DQO_d) en el influente, lo que llevó a obtener valores de carga orgánica (referida a los SST) entre 0.22 y 0.35 kgDQO.kgSST-1.d-1 ya que el incremento en la DQO_d causó el crecimiento de los SST en el reactor alcanzando valores aproximadamente de 1800 mg SST/1. La carga orgánica volumétrica en esta etapa aumentó





gradualmente debido al aumento en la DQO_d alimentada al reactor, manteniéndose en valores alrededor de 0.54 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.

A partir del día 65 de operación se tuvo problemas con la operación del reactor y se presentó una pérdida significativa de biomasa en el sistema. Por ello fue necesario un nuevo arranque bajo condiciones aerobias para formar los gránulos aerobios y lograr nuevamente la nitrificación. La carga orgánica (referida a SST) al inicio de ésta etapa (día 75) se encontraba en 0.83 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ debido a que la concentración de biomasa presente en el reactor era muy baja (399 mg SST/l); sin embargo, a medida que la concentración de sólidos aumentó alcanzando valores entre 1200 y 1500 mg SST/l la carga orgánica se estabilizó en valores entre 0.12 y 0.17 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ y la correspondiente carga orgánica volumétrica se mantuvo entre 0.19 y 0.22 kgDQO.m⁻³.d⁻¹.



Figura 5.10. Comportamiento de la carga orgánica y sólidos suspendidos totales en el reactor

Con el nuevo arranque del reactor, en el día 75 se obtuvieron lodos que poseían grandes flóculos (fase de aclimatación, día 75 - día 94), la cantidad de biomasa dentro del reactor (expresada como SST) aumentó gradualmente; los flóculos formados fueron compactándose y distinguiéndose como agregados microbianos que poseían buena sedimentabilidad (fase de multiplicación, día 95 – día 113) y alrededor del día 120 se obtuvieron unos gránulos





pequeños con una forma poco regular (diámetros entre 0.1 – 0.2 mm); finalmente, a partir del día 138 se observó que los gránulos se fueron desintegrando poco a poco y el lodo se volvió en su mayor parte floculento con una baja cantidad de gránulos presentes en el reactor (ver figura 5.11). Durante esta etapa se mantuvo una carga orgánica promedio (referida a SST) de 0.17 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (0.19 kgDQO.m⁻³.d⁻¹).



Figura 5.11. Morfología de lodo granular (nuevo arranque). a) día 94. b) día 126. c) día 140.

Investigaciones realizadas por Liu y Liu (2006) y Chiesa e Irvine (1985) reportan que a bajas cargas orgánicas los lodos granulares tienden a desintegrarse y perder su estructura, debido a que bajo condiciones de poca disponibilidad de sustrato las bacterias filamentosas pueden crecer en el sistema ya que poseen una alta tasa de remoción de sustrato en comparación con las bacterias formadoras de flóculos que prevalecen en condiciones de alta disponibilidad de sustrato. Con el crecimiento de microorganismos filamentosos los gránulos pierden consistencia y llegan a desintegrarse; finalmente se producirá un lavado de la biomasa del reactor.

Tay *et al* (2004 a, b, 2003) reportan que a bajas cargas orgánicas (<1 kgDQO.m⁻³.d⁻¹) no se formaron gránulos aerobios, solamente obtuvieron flóculos esponjosos que poseían gran cantidad de microorganismos filamentosos, baja sedimentabilidad y baja compactación de los lodos. Gracias a su estructura esponjosa los flóculos tienen un mejor acceso al sustrato y a los nutrientes que los gránulos, generando una competencia entre flóculos y gránulos, en donde finalmente los últimos terminan por desaparecer del reactor cuando los flóculos son predominantes en el sistema. Además, concluyeron que tanto una carga orgánica muy baja como una muy alta no favorecen la granulación aerobia. Con una carga orgánica alta los gránulos aumentan de tamaño rápidamente debido a la gran disponibilidad de sustrato,





causando una limitación en la transferencia de masa y creándose zonas anaerobias en su interior en donde pueden generarse gases que podrían afectar la estabilidad y consistencia del gránulos y posteriormente su desintegración provocando el lavado de la biomasa del reactor (Zheng *et al*, 2006; Liu y Tay, 2004).

A diferencia de lo reportado por diversos autores, en esta investigación se obtuvieron gránulos aerobios bajo una carga orgánica volumétrica promedio de 0.70 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ con buena sedimentabilidad, consistencia y una forma definida; durante la operación bajo una carga orgánica volumétrica promedio de 0.19 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ se observaron gránulos aerobios inestables que presentaban una forma poco regular que eventualmente se fueron desintegrando poco a poco.

Además, Liu *et al* (2007) reportan que obtuvieron gránulos aerobios estables bajo una carga orgánica volumétrica de 0.6 kgDQO.m⁻³.d⁻¹ y sugieren que a cargas orgánicas abajo de este valor el proceso de granulación aerobia tarda más tiempo en llegar a una condición estable; sin embargo, aseguran que es factible el tratamiento de aguas residuales domésticas con una baja concentración de materia orgánica usando gránulos aerobios.

5.2.3 Sólidos suspendidos totales (SST) y tiempo de retención celular (TRC)

El tiempo de retención celular es el tiempo promedio que los microorganismos permanecen dentro del reactor. Se define como la cantidad total de sólidos (lodos, gránulos) en el sistema dividida entre la tasa de salida de lodos del sistema. Durante las etapas experimentales no fue necesaria la purga de lodos ya que la masa de microorganismos se mantuvo dentro de los valores deseados al salir el exceso con el efluente. Por esta razón el cálculo del TRC se ha realizado teniendo en cuenta los sólidos presentes en el reactor y los sólidos evacuados durante la fase de vaciado del ciclo de operación (ver ecuación 4.2, capítulo 4.4).

Al inicio de la operación del reactor SBAR bajo condiciones aerobias (día 0 – día 23) se tenía un valor de SST en el reactor de 1533 mg SST/l, el cual fue disminuyendo gradualmente hasta llegar a un valor aproximado de 720 mg SST/l (ver figura 5.10). En la figura 5.12 se





observa que los SST en el efluente aumentaron gradualmente de 45 a 104 mg SST/l; con esto se obtuvieron valores de TRC entre 4.6 y 23.5 días durante este período experimental.



Figura 5.12. Comportamiento en el tiempo de los SST en el efluente y tiempo de retención celular (d)

Al operar el reactor bajo condiciones aerobias/anóxicas (a partir del día 24), la concentración de SST aumentó gradualmente (de 720 a 1562 mg SST/l) y en el efluente disminuyó (de 96 a 78 mg SST/l) alcanzando valores de TRC de 5.2 a 16 días. En el día 45 de operación se aumentó la DQO_d en el influente ya que se deseaba evaluar el desempeño del sistema a concentraciones altas de materia orgánica (expresada como DQO) y alrededor del día 52 se observó que los SST aumentaron rápidamente y se formaron gran cantidad de flóculos (ver figura 5.13). Como consecuencia de esto, los SST evacuados con el efluente también aumentaron y por ello, el TRC disminuyó de 16 a 8 días. Posteriormente, los flóculos fueron evacuados con el efluente quedando solamente gránulos en el reactor hasta estabilizarse la concentración de SST aproximadamente en 1650 mg SST/l con tiempos de retención celular de 7 días. Debido a una pérdida significativa de biomasa en el sistema esta etapa experimental no pudo continuarse.

El día 65 de operación se arrancó nuevamente el sistema y se esperaron 10 días para que la biomasa proliferara dentro del reactor. Inicialmente se tenía una concentración de biomasa de





399 mg SST/l (día 75) que aumentó gradualmente hasta 1173 mg SST/l (día 117). A partir del día 117 se observaron pequeños gránulos poco compactos e inestables que se desintegraron poco a poco obteniendo una gran cantidad de flóculos que salieron con el efluente teniendo concentraciones de SST en el efluente cercanas a 80 mg SST/l; además, se observó que la concentración de SST en el reactor aumentó aproximadamente a 1400 mg SST/l en el día 138. Durante estos días se observó que el TRC aumentó gradualmente de 2 d al inicio de esta etapa (día 75) llegando a valores entre 15 y 18 d (día 138).

A partir del día 154 se observó que la cantidad de SST en el rector comenzó a estabilizarse en aproximadamente 1250 mg SST/l manteniéndose en esta concentración hasta el final de la etapa (día 173); los SST en el efluente también se estabilizaron en concentraciones cercanas a 94 mg SST/l. El tiempo de retención celular se estabilizó en cerca de 9 días al final de este período experimental.



Figura 5.13. Presencia de gránulos (parte inferior) y flóculos (parte superior) durante la fase de sedimentación en el reactor *airlift*

En la figura 5.14 se puede observar el comportamiento del tiempo de retención celular de acuerdo con la carga orgánica (referenciada a SST) en donde se muestra que, a medida que la carga orgánica es mayor, los tiempos de retención celular son menores y viceversa. Es decir, si la carga orgánica es alta hay mayor disponibilidad de sustrato que hace que la biomasa crezca dentro del reactor y se presentará una mayor cantidad de flóculos y sólidos en





suspensión que no permanecen dentro del sistema al salir con el efluente, lo que significa tiempos de retención celular bajos.

Las líneas punteadas muestran la tendencia esperada, desde el punto de vista teórico, del comportamiento del TRC frente a la carga orgánica; es decir, de acuerdo con la ecuación de Monod, al aumentar la concentración de sustrato la tasa de reproducción de los microorganismos aumenta hasta llegar a una cinética de orden cero, por lo que con una carga orgánica alta, la actividad de los lodos es alta y el TRC es corto. Con una carga orgánica baja la tasa de reproducción de los microorganismos es baja y la remoción de sustrato seguirá una cinética de primer orden entonces se tendrá un TRC largo, con una baja actividad de los lodos (Schlegel, 1996). Estas líneas señalan el posible intervalo en donde se encuentran los valores de TRC correspondientes a las cargas orgánicas (referidas a SST) empleadas en la operación del sistema en las diferentes etapas experimentales.





5.2.4 Índice volumétrico de lodos (IVL)

En la figura 5.15 se muestra el comportamiento de los SST y del IVL a lo largo del trabajo experimental. Durante la etapa de operación bajo condiciones aerobias se observó que el IVL





disminuyó gradualmente de 98 a 69 ml/g observando un lodo granular más denso y compacto. Al iniciar la etapa de operación bajo condiciones aerobias/anóxicas (día 24) el IVL se mantuvo alrededor de 45 ml/g sin cambios notables; sin embargo, al aumentar la DQO_d alimentada al reactor (día 45), los SST en el reactor aumentaron presentándose una gran cantidad de flóculos que poseían una buena capacidad de sedimentación y no causaron un incremento del IVL que se encontró entre 40 y 60 ml/g.

Con el arranque del reactor (día 65) se cultivó la biomasa con el fin de obtener nuevamente los gránulos aerobios; al inicio de este período la biomasa creció en forma de flóculos que poseían buena sedimentabilidad y se observaron valores de IVL cercanos a 90 ml/g. Una vez presentes los gránulos nuevamente en el sistema (día 117) el IVL gradualmente disminuyó alcanzándose valores entre 50 y 80 ml/g; sin embargo, dada la baja carga orgánica con la que se operó el reactor durante esta etapa (C.O_{prom}= 0.17 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹), los gránulos formados presentaban poca consistencia y una forma no regular. Alrededor del día 138, los gránulos obtenidos comenzaron a desintegrarse y a volverse esponjosos causando un aumento en el IVL con valores cercanos a 110 ml/g; sin embargo, a partir del día 152 se observó que los flóculos salieron con efluente y el IVL se mantuvo entre 80 y 82 ml/g hasta el final de esta etapa experimental.



Figura 5.15. Comportamiento en el tiempo del índice volumétrico de lodos



De Kreuk y Van Loosdrecht (2004) reportan valores de IVL entre 100 y 150 ml/g para lodos granulares que poseen buena consistencia y sedimentabilidad; de acuerdo con esto, los diferentes valores de IVL obtenidos para los lodos usados en esta experimentación demuestran que el lodo granular inicial y el cultivado en el segundo periodo de operación (a partir del día 65) poseen una gran capacidad de sedimentación y una gran consistencia.

5.2.5 Demanda química de oxígeno disuelta (DQO_d)

El sustrato utilizado para la alimentación del reactor fue agua residual sintética (ver tabla 4.2, capítulo 4.3), la cual fue monitoreada principalmente a través de la DQO_d. En la figura 5.16 se observa que bajo condiciones aerobias la DQO_d alimentada se mantuvo entre 225 y 250 mg DQO_d/1, mientras que en la etapa de operación bajo condiciones aerobias/anóxicas se mantuvo aproximadamente en 290 mg DQO_d/1. Con el fin de evaluar la capacidad de remoción del sistema bajo una concentración de materia orgánica más alta, en el día 45 de operación se decidió aumentar la DQO_d alimentada entre 360 y 370 mg DQO_d/1.



Figura 5.16. DQO_d en influente y efluente y remoción

Al inicio de la operación bajo condiciones aerobias (hasta el día 23), los valores de DQO_d en el efluente variaron entre 15 y 40 mgDQO_d/l obteniendo una remoción promedio de DQO_d de





88 %. Bajo condiciones aerobias/anóxicas, la DQO_d en el efluente se mantuvo entre 47 y 61 mg DQO_d/l (día 24 – día 44) obteniendo una remoción de DQO_d cercana al 80 %. Al aumentar la DQO_d alimentada al reactor (día 45) también aumentó la DQO_d en el efluente oscilando entre 100 y 175 mg DQO_d/l; sin embargo, a partir del día 58 se observa que la DQO_d en el efluente disminuye ligeramente (de 111 a 97 mg DQO_d/l) indicando que el sistema ha empezado a ajustarse al cambio; en este período (día 50 – día 65) se obtuvo una remoción de DQO_d promedio de 62 %; sin embargo, esta etapa no pudo continuarse debido a la pérdida significativa de biomasa en el sistema en el día 65.

A partir del día 75 de operación, la DQO_d en el influente se encontraba cercana a 215 mg DQO_d/l, debido a que al inicio de esta etapa, la cantidad de biomasa en el sistema era baja (399 mg SST/l), la remoción de DQO_d se encontró entre 7 y 9 % y por ello, la DQO_d en el efluente se encontraba aproximadamente en 200 mg DQO_d/l.

En el día 89 de operación la DQO_d alimentada al reactor se disminuyó a valores cercanos a 125 mg/l con el fin de promover la aglomeración microbiana y posterior formación de gránulos. Si las condiciones de operación no son adecuadas para la formación y mantenimiento de los gránulos, los flóculos terminarán dominando en el sistema. Entre los días 89 a 173 se observó una gradual disminución del la DQO_d en el efluente (de 76 a 27 mg DQO_d/l) y, como consecuencia, la remoción de DQO_d aumentó a valores cercanos al 80 % al final de esta etapa.

En la figura 5.17 se observa el comportamiento de la remoción de DQO_d con respecto a la carga orgánica; durante la etapa aerobia, al inicio del período experimental (ver figura 5.16, día 0 – día 23) se observa una remoción de DQO_d que osciló entre 81 y 96 % debido a las fluctuaciones de la carga orgánica durante esta etapa (entre 0.22 y 0.55 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹). Durante la operación del reactor bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas (día 24 – día 44) se tuvo una carga orgánica promedio (referida a SST) de 0.43 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ y se obtuvo una remoción de DQO_d cercana al 80 %. Durante estas dos etapas se observa una mayor estabilidad en el sistema, observándose que a mayores cargas orgánicas se obtienen menores remociones de DQO_d en el sistema y viceversa.





Los datos destacados en la figura 5.17 corresponden a la etapa bajo condiciones aerobias/anóxicas (día 45 – día 65) bajo una carga orgánica promedio (referida a SST) de 0.26 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹, donde se obtuvo una remoción de DQO_d cercana al 62 % y la etapa bajo condiciones aerobias (arranque del sistema, día 75 - día 173) bajo una carga orgánica promedio de 0.17 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ en donde se alcanzó una remoción de DQO_d aproximadamente del 80 % al final de la etapa. Durante estas dos etapas no se logró la estabilidad del sistema. En la primera, debido al aumento de la concentración de DQO_d en el influente, se observó una significativa variación en la concentración biomasa en el reactor que provocó inestabilidad del sistema; desafortunadamente no se pudo continuar esta etapa debido a la pérdida total de biomasa en el sistema. En la segunda, al inicio de la etapa se presentan puntos aislados que representan el arranque del sistema (día 75 - día 111) con cargas orgánicas altas y bajas remociones de DQO_d; a partir del día 119 se mantuvo la carga orgánica (referida a SST) en un valor de 0.17 kgDQO.kgSST-1.d-1 observando que la remoción de DQO_d tiende a aumentar gradualmente con el tiempo; debido a esta tendencia se esperaría que el sistema llegue a una eventual estabilización obteniendo una remoción de DQO_d mayor que la alcanzada al final de esta etapa.



Figura 5.17. Comportamiento de la remoción de DQO_d con respecto a la carga orgánica





5.2.6 Tasa específica de remoción de materia orgánica

La relación sustrato suministrado a la biomasa presente en el reactor con respecto al tiempo representa la carga orgánica (ecuación 5.1). La tasa específica de remoción de materia orgánica es la masa de DQO eliminada con respecto a la cantidad de biomasa expresada como SST presente en el reactor por unidad de tiempo (ecuación 5.2).

$$CO = \frac{Q \cdot DQO}{V \cdot X} \tag{5.1}$$

$$TE = \frac{Q(DQO_i - DQO_e)}{V \cdot X}$$
(5.2)

Donde:

CO	Carga orgánica, en kgDQO.kgSST ⁻¹ .d ⁻¹
ТЕ	Tasa especifica de eliminación de DQO, en kgDQO.kgSST-1.d-1
Q	Caudal, el m³/d
V	Volumen del reactor o tanque de aeración, en m ³
x	concentración de biomasa en el reactor, expresada como SST, en kg SST/m ³ .
DQO _i	Demanda química de oxígeno en el influente, en kg DQO/m³
DQOe	Demanda química de oxígeno en el efluente, en kg DQO/m³
SST	Sólidos suspendidos totales en el reactor, en kg SST/m ³

La carga orgánica es un parámetro que representa la cantidad de sustrato (expresada como DQO) proporcionado al sistema por cantidad unitaria de microorganismos y por unidad de tiempo, mientras la tasa de eliminación de materia orgánica representa la capacidad del sistema para remover la DQO suministrada por medio de los microorganismos presentes en el sistema para consumirla (expresados como SST).

En la figura 5.18 se observa que bajo condiciones aerobias la carga orgánica en el sistema se mantuvo entre 0.22 y 0.55 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ obteniéndose una tasa específica de remoción





que osciló entre 0.21 y 0.43 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹. Durante la operación bajo condiciones aerobias/anóxicas (día 24 – día 44) la carga orgánica se mantuvo entre 0.33 y 0.55 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ y se obtuvo una tasa específica de remoción que osciló entre 0.26 y 0.46 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹; en estas etapas se observó que el sistema presentó un buen desempeño en la remoción de DQO_d ya que se adaptó satisfactoriamente a las condiciones de operación.

A partir del día 45, con el incremento en la DQO_d del influente, la carga orgánica disminuyó a valores entre 0.22 y 0.35 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹. Debido al aumento de los SST en el reactor se obtuvo una tasa específica de remoción de DQO_d entre 0.13 y 0.23 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹.

Durante el nuevo arranque del sistema bajo condiciones aerobias (día 75 – día 173) con una carga orgánica promedio (referida a SST) de 0.17 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ se observa que la tasa específica de remoción de DQO_d al inicio se encontraba en 0.02 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ alcanzando valores cercanos a 0.14 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ al final de esta etapa. Durante este período experimental se observó que el sistema tardó más tiempo en adaptarse a las nuevas condiciones de operación, comparado con las etapas experimentales anteriores.



Figura 5.18. Comportamiento de la tasa de remoción de DQO_d con respecto a la carga orgánica.





5.2.7 Fósforo como ortofosfato (P-PO₄-³)

Para conocer la concentración de fósforo en el influente y el efluente durante el periodo de experimentación se realizaron determinaciones de fósforo como ortofosfato. En la figura 5.19 se observa que bajo condiciones aerobias (día 0 – día 23), la concentración de fósforo (expresada como ortofosfato) alimentada al sistema tenía un promedio de 4.3 mg PO₄/l y en la etapa bajo condiciones aerobias/anóxicas (día 24 – día 65) de 4.5 mg PO₄/l. En las dos condiciones se observó que la concentración de fósforo en el efluente es inferior a la alimentada al sistema. En la etapa bajo condiciones aerobias se obtuvieron valores entre 1.5 y 2.0 mg PO₄/l y en la etapa bajo condiciones aerobias/anóxicas entre 2.3 y 3.5 mg PO₄/l alcanzándose una remoción de fósforo en promedio de 69 y 45 %.

Debido a que se deseaba trabajar con un influente que se asemejara al agua residual municipal en cuanto a la concentración de fosfato, a partir del día 75 se decidió aumentar la concentración de fosfato en el influente. Por ello, las concentraciones en el influente oscilaron entre 10.5 y 12.7 mg PO₄/l mientras que en el efluente las concentraciones obtenidas estuvieron entre 6.2 y 9.0 mg PO₄/l obteniéndose una remoción de fósforo entre 25 y 42 %.



Figura 5.19. Fósforo (como ortofosfato) alimentado al reactor y en el efluente





En los sistemas biológicos de tratamiento secundario hay un consumo de fósforo durante la remoción de carbono destinado para la síntesis de biomasa (Surampalli *et al*, 1997). En este caso se relaciona la remoción parcial con el consumo por procesos anabólicos ya que el sistema no contaba con las condiciones de operación necesarias para la eliminación biológica de fósforo.

5.3 Remoción de nitrógeno del agua residual

La remoción biológica del nitrógeno del agua residual se logra mediante la operación bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas. El primer paso es la nitrificación donde el amonio es oxidado a nitrito y nitrato, los cuales posteriormente en serán consumidos vía desnitrificación para ser transformados en nitrógeno molecular.

Durante los primeros 23 días se operó el reactor bajo condiciones únicamente aerobias con el fin de lograr una completa nitrificación en el reactor *airlift*. A partir del día 24 se implementó la fase anóxica en la operación del reactor para lograr la desnitrificación. En la figura 5.20 puede apreciarse que bajo condiciones aerobias (día 0 – día 23) la concentración de nitrógeno amoniacal alimentada al reactor se mantuvo en valores entre 8.5 y 9.4 mg N-NH₄/1. En esta etapa se observó que la concentración de nitrato y de nitrógeno amoniacal en el efluente osciló entre 7.2 y 6.9 mg N-NO₃/1 y 1.5 y 2.6 mg N-NH₄/1, respectivamente. La producción de nitrito fue baja, alcanzando concentraciones entre 0.01 y 0.3 mg N-NO₂/1.

Bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas durante los días 24 a 44 la concentración de nitrógeno amoniacal en el influente osciló entre 8.0 y 8.5 mg N-NH₄/l y en el efluente entre 0.3 y 1.8 mg N-NH₄/l; en esta etapa se observó que la cantidad de nitrato en el efluente fue baja manteniéndose entre 1.5 y 3.5 mg N-NO₃/l; debido a que no se midió el nitrógeno gaseoso producido y a las bajas concentraciones de nitrato encontradas en el efluente se asumió que el nitrógeno fue removido vía desnitrificación. Seguidamente en el día 45 se aumentó la concentración de nitrógeno amoniacal en el influente con un promedio de 11.8 mg N-NH₄/l y en el efluente se obtuvo una concentración de nitrógeno amoniacal y nitrato





cercana a 1.8 mg N-NH₄/l y 4.3 mg N-NO₃/l, respectivamente; durante el periodo de operación del día 45 al día 65 la concentración de nitrito en el efluente fue baja obteniendo valores entre 0.03 y 0.1 mg NO₂/l. Cabe resaltar que se logró una remoción casi completa del nitrógeno contenido en el agua residual; sin embargo, las concentraciones de nitrógeno amoniacal alimentadas al reactor son bajas comparadas con las encontradas en un agua residual municipal.



Figura 5.20. Comportamiento de los compuestos nitrogenados en el influente y efluente

Para el nuevo arranque del reactor (día 75) se consideró que la concentración de nitrógeno amoniacal alimentada al reactor debía aumentarse con el fin de tener una concentración similar al de una agua residual municipal. Del día 65 al día 151 se ajustaron concentraciones de nitrógeno amoniacal en el influente que oscilaron entre 22 y 27 mg N-NH₄/1 y se observó que, debido a que no se tenía suficiente biomasa en el reactor y se tenían tiempos de retención celular cortos, no había presencia de bacterias nitrificantes en el sistema indicado por la mínima concentración de nitrato en el efluente. Al aumentar gradualmente tanto la cantidad de biomasa como el TRC se observó que las concentraciones de nitrato y nitrito en el efluente aumentaron obteniéndose valores entre 0.8 y 4.7 mg N-NO₃/1 y 0.02 y 3.8 mg N-NO₂/1, respectivamente. La concentración de nitrógeno amoniacal en el efluente presentó una disminución gradual de 22 hasta 10 mg N-NH₄/1.




Al final de esta etapa, durante los días 152 al 173, se observó una disminución en la concentración de nitrógeno amoniacal en el influente que osciló entre 17 y 21 mg N-NH₄/l, presentándose mayores concentraciones de nitrito y nitrato en el efluente cercanas a 4 mg N-NO₃/l y 3 mg N-NO₂/l, respectivamente. Durante esta etapa final de experimentación se observó que, una vez en el sistema se presentó la nitrificación, se obtuvo una mayor concentración de nitrito que la obtenida en las etapas anteriores.

En la figura 5.21 se observa la carga de nitrógeno amoniacal (kgN-NH₄.m⁻³.d⁻¹) con respecto al tiempo y en la figura 5.22 se observa el comportamiento de la remoción de nitrógeno amoniacal de acuerdo con la carga de nitrógeno amoniacal suministrada al sistema. Durante la operación bajo condiciones aerobias (día 0 – día 23) se mantuvo una carga de nitrógeno amoniacal promedio de 0.013 kgN-NH₄.m⁻³.d⁻¹ obteniéndose una remoción de nitrógeno amoniacal aproximadamente de 79 %; bajo condiciones aerobias/anóxicas se mantuvo una carga de nitrógeno amoniacal promedio de 0.012 kgN-NH₄.m⁻³.d⁻¹ del día 24 al día 44 y de 0.018 kgN-NH₄.m⁻³.d⁻¹ del día 45 al día 65 y se obtuvo una remoción de nitrógeno amoniacal cercana a 89 y 86 %, respectivamente.









Durante el nuevo arranque del sistema se mantuvo una carga de nitrógeno amoniacal más alta que en las etapas anteriores; del día 75 al día 151 se operó bajo una carga promedio de 0.035 kgN-NH₄.m⁻³.d⁻¹ observando una remoción de nitrógeno amoniacal entre 9 y 41 %; a partir del día 152, la carga de nitrógeno amoniacal comenzó a disminuir oscilando entre 0.027 y 0.030 kgN-NH₄.m⁻³.d⁻¹ obteniendo una remoción de nitrógeno amoniacal cercana al 50 % al finalizar esta etapa.

En la figura 5.22 se puede apreciar que la remoción de nitrógeno amoniacal tiende a incrementarse a medida que disminuye la carga de nitrógeno amoniacal en el sistema; esta tendencia se observó en todas las etapas experimentales; así mismo, durante el arranque y etapa final de operación del sistema (día 75 – día 173) se esperaría que el sistema llegase a una condición estable alcanzando la nitrificación completa y en consecuencia se logre una remoción de nitrógeno amoniacal mayor a la obtenida.



Figura 5.22. Comportamiento de la remoción de nitrógeno amoniacal con respecto a la carga de nitrógeno amoniacal

En la figura 5.23 se observa el comportamiento de la remoción de nitrógeno amoniacal frente a la carga orgánica (referida a SST), en ella se puede apreciar que la remoción de nitrógeno amoniacal aumenta a medida que disminuye la carga orgánica. Al inicio de la operación del





reactor y hasta el día 65 se logró una nitrificación satisfactoria y por ello la remoción de nitrógeno amoniacal se encuentra por encima del 70 %.

Durante el arranque y última etapa de operación del sistema (día 75 – día 173), al inicio, debido a que la presencia de bacterias nitrificantes es baja ya que la concentración de nitrato encontrada en el efluente fue baja y a que el sistema se encuentra en su etapa de arranque se obtuvo una nitrificación baja alcanzando una remoción de nitrógeno amoniacal inferior al 20 %; sin embargo, a medida que la carga orgánica se estabilizó en 0.17 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ se observó que la remoción de nitrógeno amoniacal se incrementó; con esto se esperaría que, al lograr una condición estable en el sistema, la remoción de nitrógeno amoniacal aumentará alcanzando una nitrificación satisfactoria en el sistema.



Figura 5.23. Comportamiento de la remoción de nitrógeno amoniacal con respecto a la carga orgánica

La remoción de nitrógeno realizada vía nitrificación/desnitrificación lograda mediante la operación bajo condiciones aerobias/anóxicas se determinó por medio de la relación entre la concentración de nitrógeno amoniacal alimentada al sistema con la concentración de nitrógeno amoniacal que no fue oxidada remanente y la concentración de nitrito y nitrato que aparecen al final del ciclo. La remoción durante los procesos de nitrificación y desnitrificación se calculó según la ecuación 5.3 (Chiu *et al*, 2007; Third *et al*, 2003).





$$REM = \left(1 - \frac{N_{final}}{N_{inicial}}\right) * 100 = \left(1 - \frac{NH_{4final} + NO_3 + NO_2}{NH_{4inicial}}\right) * 100$$
(5.3)

Donde:

REM Remoción de nitrógeno inorgánico, en por ciento (%)
 N_{final} Suma de las concentraciones de nitrógeno amoniacal, nitrito y nitrato en el efluente, en mg/l
 N_{inicial} Concentración de nitrógeno amoniacal en el influente, en mg/l

En la figura 5.24 se presenta la remoción de nitrógeno inorgánico respecto a la carga orgánica, en donde se puede observar que durante las etapas experimentales bajo condiciones aerobias no se logra una gran remoción de nitrógeno inorgánico debido a que en ellas no se cuenta con una fase anóxica que promueva la desnitrificación.



En las etapas en donde se operó en la alternancia de fases aerobia/ anóxica, para el período en donde se trabajó con una carga orgánica promedio de 0.43 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (día 24 – día 44) la remoción de nitrógeno inorgánico alcanzó cerca del 75 % al final de la etapa, mientras





que, para el periodo en donde se mantuvo una carga orgánica promedio de 0.26 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (día 45 – día 65), la remoción de nitrógeno inorgánico fue aproximadamente de 45 % al final de la etapa. En la siguiente figura se observa que durante estas etapas, a medida que disminuye la carga orgánica se obtiene una mayor remoción de nitrógeno inorgánico.

Además de tener en cuenta la carga orgánica como parámetro para la remoción de nitrógeno del agua residual se deben contemplar variables como el oxígeno disuelto, la presencia de materia orgánica, la temperatura y el pH como variables que pueden influir en el proceso nitrificación/desnitrificación.

La concentración de oxígeno disuelto afecta tanto la nitrificación como la desnitrificación; para llevar a cabo la primera, dicha concentración debe estar por encima de 2 mg/l mientras que para la desnitrificación debe ser inferior a 1 mg/l ya que la presencia de oxígeno en el sistema hace que las bacterias no tomen el nitrato como aceptor de electrones y en consecuencia el proceso de desnitrificación puede inhibirse (Yang *et al*, 2004b; Van Loosdrecht y Jetten, 1998; Surampalli *et al*, 1997).

La temperatura afecta la nitrificación: si ésta disminuye la nitrificación se volverá más lenta y viceversa. El rango óptimo de temperatura para la nitrificación se encuentra entre 20 y 35°C; por otro lado la desnitrificación puede llevarse a cabo en un rango entre 10 y 30°C (Surampalli *et al*, 1997).

El pH puede afectar tanto la nitrificación como la desnitrificación. El rango óptimo para la primera es de 7.5 a 8.0; abajo de un pH de 7.0 se presenta ácido nitroso (HNO₂) en el sistema que causa la inhibición de la nitrificación; Paredes *et al* (2007) reportan que con una concentración superior a 2.8 mg HNO₂/1 se inhibe completamente la actividad de las bacterias oxidantes de amonio y de nitrito. Por encima de un pH de 9.0 la tasa de nitrificación puede disminuir en un 50% ya que se presenta amoniaco libre en el sistema, el cual causa la inhibición de las bacterias oxidantes de nitrito y se producirá una acumulación de éste en el sistema. Por otro lado, la desnitrificación posee un rango óptimo de pH de 6.5 a 8.0; abajo de





un pH de 6.0 y por encima de 9.0 la desnitrificación también se reducirá (Paredes *et al*, 2007; Surampalli *et al*, 1997).

Teniendo en cuenta el diagrama de especiación del nitrógeno amoniacal con respecto al pH (ver figura 5.25) puede observarse que el amoniaco sólo se presenta a valores muy altos de pH; a un pH de 9.25 la mitad del amoniaco está como base débil (NH₃) y la mitad está en forma de ión amonio (NH₄⁺). Si se presenta un aumento del pH en el reactor podría causar la producción de amoniaco que puede actuar como inhibidor en la actividad de las bacterias nitrificantes; Yang *et al* (2003) encontraron que una concentración por encima de 23.5 mg NH₃/1 en el sistema puede inhibir las actividades metabólicas de las bacterias heterótrofas y nitrificantes de una manera significativa.



Figura 5.25. Variación de la proporción de amonio-amoniaco con el pH. Fuente: Chevallier y Toribio, 2006

En la figura 5.26 se puede observar que a lo largo de la experimentación la temperatura se mantuvo en un intervalo de 18 a 23 °C. La concentración de oxígeno disuelto durante la fase aerobia se mantuvo entre 4.5 y 5.2 mg OD/l y durante la fase anóxica disminuyó a valores inferiores a 0.1 mg OD/l (estas mediciones fueron tomadas al inicio del ciclo a las 12 del día).

El pH se mantuvo entre 8.6 y 8.8 debido a que el agua residual alimentada al reactor poseía sustancias amortiguadoras tales como CaCO₃ y NaHCO₃. Estas condiciones no afectaron el





desempeño del sistema en la nitrificación/desnitrificación durante las tres primeras etapas experimentales (día 0 – día 65); sin embargo, en la etapa final de experimentación (día 75 – día 173) se presentó una acumulación de nitrito en el sistema (ver figura 5.20) que pudo deberse al elevado pH del influente y a que la carga de nitrógeno amoniacal alimentada fue más alta que en las etapas anteriores produciendo amoniaco libre (NH₃) que pudo inhibir la nitrificación influyendo sobre el crecimiento y desempeño de las bacterias oxidantes de amonio y de nitrito. Paredes *et al* (2007), Simm *et al* (2006) y Anthonisen *et al* (1976) han reportado que concentraciones entre 0.1 y 1 mg NH₃/1 (0.08 y 0.8 mg N-NH₃/1) inhiben las bacterias oxidantes de amonio.



Figura 5.26. Temperatura, concentración de oxígeno disuelto y pH en el reactor

5.4 Perfiles de DQO_d, N-NH₄, N-NO₃ y OD

Se realizaron perfiles de concentración de DQO, N-NH₄, N-NO₃, OD, temperatura y pH. Estos parámetros fueron determinados cada hora durante las 6 horas de duración de un ciclo. Se seleccionó el ciclo que inicia a las 12:00 pm y finaliza a las 6:00 pm para la realización de dichos perfiles.





5.4.1 Perfiles bajo condiciones aerobias

Durante la operación del reactor bajo condiciones aerobias (día 0 – día 24) se trabajó con una carga orgánica promedio de 0.36 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹. En este período se realizaron perfiles de concentración para conocer el consumo de material orgánico y la oxidación de nitrógeno amoniacal a nitrato. En ellos se puede observar la evolución de la nitrificación a través del ciclo en donde la concentración de nitrógeno amoniacal, al inicio, oscila entre 8.5 y 9.7 mg N-NH₄/l y disminuye hasta alcanzar valores entre 1.7 y 2.5 mg N-NH₄/l al final del ciclo. Al mismo tiempo, la concentración de nitrato aumenta gradualmente desde concentraciones que variaron entre 3.6 y 4.7 mg N-NO₃/l hasta valores entre 6.6 y 7.4 mg N-NO₃/l. Se hace notar que la presencia de nitrato al inicio del ciclo se debe al nitrato remanente del ciclo anterior que permanecen en el reactor (ver figura 5.27). Con estos perfiles se observó que la nitrificación en el sistema se está llevando a cabo de una manera satisfactoria; sin embargo, cabe destacar que las concentraciones de nitrógeno amoniacal alimentadas al reactor son bajas comparadas con las encontradas en un agua residual municipal.

La concentración de nitrato al inicio de cada ciclo fue calculada teniendo en cuenta la concentración de nitrato del ciclo anterior y el volumen remanente en el reactor, de la siguiente forma:

$$\left[N-NO_{3(infl.)} \times V_{(Recambio)}\right] + \left[N-NO_{3(Remanente)} \times V_{(Remanente)}\right] = \left[N-NO_{3(Reactor)} \times V_{(Reactor)}\right] (5.4)$$

Donde:

N-NO _{3(Infl.)}	Concentración de nitrato en el influente (mg/l)
N-NO _{3(Reman.)}	Concentración de nitrato remanente del ciclo anterior (mg/l)
N-NO _{3(Reactor)}	Concentración de nitrato en el reactor al inicio del ciclo (mg/l)
V _{Recambio}	Volumen de recambio usado en el reactor (3 l)
V _{Remanente}	Volumen remanente en el reactor después del vaciado (5 l)
V _{Reactor}	Volumen del reactor (8 l)





Como DQO_d inicial para cada ciclo se asumió únicamente la DQO_d alimentada al reactor. No se realizó un balance como en el caso anterior ya que no se considera como parte del sustrato disponible para el nuevo ciclo la DQO_d remanente del ciclo anterior.



Figura 5.27. Perfiles de concentración de N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ (a) y DQO (b) – bajo condiciones aerobias con una carga orgánica promedio de $0.36 \text{ kgDQO.kgSST}^{-1}$.d⁻¹





En estos perfiles se observa que la DQO_d disminuyó gradualmente en el tiempo desde valores entre 250 y 280 mg DQO_d/l en el influente alcanzando valores abajo de 50 mg DQO_d/l en el efluente del ciclo analizado.

Durante la realización de los perfiles la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo entre 6.5 y 7.0 mg OD/l en los ciclos analizados. Los valores de OD se encontraban por encima de la concentración de saturación debido a una deficiente calibración del electrodo de membrana utilizado para las mediciones; sin embargo, la cantidad de oxígeno disponible no constituyó una limitante para que se llevara a cabo una efectiva nitrificación. Durante la ejecución de los perfiles el pH en el reactor se mantuvo entre 8.5 y 8.8 y la temperatura entre 18 y 19°C.

5.4.2 Perfiles bajo condiciones aerobias/anóxicas

La remoción biológica de nitrógeno se logra mediante dos pasos consecutivos, la nitrificación y la desnitrificación. En diversos estudios se ha reportado la coexistencia satisfactoria de microorganismos heterótrofos, nitrificantes y heterótrofos con la capacidad de desnitrificar dentro de los gránulos aerobios en un sistema operado mediante la alternancia de condiciones aerobias/anóxicas. Las poblaciones nitrificantes y heterótrofas capaces de desnitrificar se estabilizan gradualmente dentro de los gránulos aerobios (Qin y Liu, 2006; Arrojo *et al*, 2004; Yang *et al*, 2003; Jang *et al*, 2003; Beun *et al*, 2001).

Durante la fase aerobia el sustrato es consumido para fines de crecimiento y metabolismo celular y el nitrógeno amoniacal es oxidado a nitrato y nitrito; al pasar a la fase anóxica, es necesario contar con suficiente sustrato (fuente de carbono) para que se lleve a cabo la desnitrificación debido a que sin la presencia de éste solamente una pequeña parte del nitrato puede ser desnitrificada y una alta cantidad del mismo permanecerá en el sistema. Si hay suficiente sustrato remanente de la fase aerobia o si se suministra un sustrato exógeno al inicio de la fase anóxica se llevará a cabo cerca del 99% de la remoción del nitrato (Qin y Liu, 2006; Arrojo *et al*, 2004).





El reactor *airlift* se operó del día 24 al 65 mediante la alternancia de condiciones aerobias/anóxicas, lo que propició las condiciones adecuadas para lograr la remoción del nitrógeno vía nitrificación/desnitrificación. En este periodo experimental se operó bajo dos diferentes cargas orgánicas. A continuación se presenta el desempeño del sistema mediante perfiles de concentración; inicialmente con una carga orgánica de 0.43 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (perfiles de concentración realizados para los días 36, 38 y 43) y posteriormente con una carga orgánica de 0.26 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ (perfiles de concentración realizados para los días 36, 57 y 59).

En la figura 5.28 se muestran los perfiles de concentración realizados teniendo una carga orgánica promedio de 0.36 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹ en el sistema. Durante las primeras dos horas se observa una disminución de la DQO_d alimentada de aproximadamente 40 % y un aumento gradual del nitrato dentro del reactor. Durante la fase anóxica (dos últimas horas del ciclo) se observa la disminución de la DQO_d y del nitrato en el sistema; puede asumirse que el nitrato fue consumido vía desnitrificación, mientras la materia orgánica (expresada como DQO_d) pudo ser consumida en parte en la oxidación aerobia y en parte como donador de electrones para la desnitrificación o almacenada en la biomasa. Al inicio de los ciclos se tenían valores de DQO_d cercanas a 300 mg DQO_d/l y al finalizar se encontraron valores entre 40 y 70 mg DQO_d/l teniendo una remoción de DQO_d cercana al 80 %.

La concentración de nitrógeno amoniacal alimentada al reactor durante los ciclos analizados se mantuvo entre 8.0 y 8.4 mg N-NH₄/l, la cual disminuyó hasta alcanzar valores entre 1.3 y 1.7 mg N-NH₄/l al finalizar el ciclo. La concentración máxima de nitrato que se alcanzó durante la fase aerobia osciló entre 7 y 7.5 mg N-NO₃/l, mientras que en la fase anóxica estas concentraciones disminuyeron entre 1.3 y 1.7 mg N-NO₃/l indicando una eficiente desnitrificación con la aportación de carbono de la DQO_d remanente de la fase aerobia alcanzando una remoción de nitrógeno inorgánico cercana al 65 %.

La concentración de oxígeno disuelto durante la fase aerobia se mantuvo en aproximadamente en 5 mg OD/l, mientras que en la fase anóxica, mediante el suministro de nitrógeno gaseoso, el oxígeno fue desplazado para alcanzar condiciones anóxicas con





concentraciones de OD inferiores a 0.1 mg OD/l. La temperatura y el pH fueron determinados directamente en el reactor oscilando entre 19 y 21 °C y entre 8.7 y 8.9, respectivamente.



Figura 5.28. Perfiles de concentración de N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ (a) y DQO (b) – bajo condiciones aerobias/anóxicas con una carga orgánica promedio de 0.43 kgDQO.kgSST⁻¹.d^{.1}





A partir del día 45 se aumentó la DQO_d alimentada al reactor y con esto se mantuvo una carga orgánica promedio de 0.26 kgDQO.kgSST⁻¹.d⁻¹. Teniendo la cantidad de biomasa en el reactor (expresada como SST) depende de la carga orgánica, cuando se aumentó la DQO_d alimentada al reactor la cantidad de SST aumentó considerablemente y por ello no se observó un aumento en el valor de la carga orgánica tal como podría esperarse.

La figura 5.29 presenta los perfiles de tres ciclos realizados después de haber aumentado la DQO_d en el influente. En la figura se observa que en las dos primeras horas del ciclo la DQO_d disminuye en un 30 % con respecto al valor inicial reportando un valor inicial de 400 mg $DQO_d/1$ y al final de los ciclos se encontraron valores entre 84 y 130 mg $DQO_d/1$ en el efluente alcanzándose una remoción cercana a 59 %.

La concentración de nitrógeno amoniacal disminuyó gradualmente desde aproximadamente 11.5 mg N-NH₄/l al inicio del ciclo hasta valores inferiores a 2 mg N-NH₄/l al final. La concentración de nitrato producido durante la fase aerobia alcanzó valores entre 9.5 y 11.5 mg N-NO₃/l y disminuyó durante la fase anóxica hasta 2.5 mg N-NO₃/l al final del ciclo. Se logró una remoción de nitrógeno inorgánico de aproximadamente del 60 % sin la necesidad de adicionar una fuente de carbono externa durante la fase anóxica.

La concentración de oxígeno disuelto durante la fase aerobia se mantuvo en valores alrededor de 5.7 mg OD/l, mientras que en la fase anóxica se encontró abajo de 0.1 mg OD/l. La temperatura y el pH no presentaron variaciones significativas durante los ciclos evaluados manteniéndose en valores entre 17 y 19 °C para la temperatura y entre 8.7 y 8.9 para el pH; estos parámetros fueron determinados directamente en el reactor.







Figura 5.29. Perfiles de concentración de N-NH₄⁺, N-NO₃⁻ (a) y DQO (b) bajo condiciones aerobias/anóxicas con una carga orgánica de $0.26 \text{ kgDQO.kgSST}^{-1.d^{-1}}$





5.5 Cantidad de nitrógeno Kjeldhal y SST en la biomasa

Se realizaron determinaciones de nitrógeno Kjeldhal (NK) para la biomasa, el cual puede ser considerado como la cantidad de nitrógeno contenido en las células microbianas. Los resultados obtenidos de NK se pueden relacionar con los SST para obtener valores que indiquen la cantidad de nitrógeno contenido en las células que constituyen los gránulos (ver tabla 5.3).

Día de operación	SST (mg/l)	NK (mg/l)	NK/SST
43	1471	117.6	0.08
52	2507	114.8	0.05
57	1856	123.2	0.06
59	1721	120.4	0.07

Tabla 5.3. Determinaciones de NK y SST

La tabla 5.3 indica que el contenido de nitrógeno en los gránulos varió entre el 5 y el 8 % con respecto a su peso seco. Estas determinaciones fueron realizadas durante la operación del reactor bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas. Durante este periodo la carga orgánica se encontraba entre 0.28 y 0.33 kgDQO.kgSST-1.d-1. En la literatura se reporta que el NK constituye del 2 al 7.6 % de la biomasa presente en un sistema SBR (Sánchez *et al*, 1999).

La concentración de nitrógeno Kjeldhal en la biomasa depende del estado fisiológico de los microorganismos, el cual, a su vez, depende de la carga orgánica. De acuerdo con la ecuación de Monod, al aumentar la disponibilidad de alimento (o la concentración de sustrato) la tasa de reproducción de los microorganismos aumenta hasta alcanzar un valor máximo. Es en este valor cuando los sistemas enzimáticos de los microorganismos trabajan al máximo en la reproducción y cuando el contenido de nitrógeno dentro de la célula también es máximo (Schlegel, 1996). Si los microorganismos son expuestos a cantidades reducidas de alimento (bajas cargas orgánicas) reducirán sus reservas endógenas de alimento reduciendo también el contenido de nitrógeno orgánico y otras sustancias. Por esta razón se sabe que el contenido de alimento.





Schlegel (1996) indica que las bacterias pueden alcanzar valores máximos de nitrógeno orgánico de aproximadamente el 13 % de su peso seco. En sistemas de biopelículas para eliminación de nutrientes se han observado valores aproximados del 5 al 8 % (González-Martínez y Wilderer, 1991), los cuales disminuyen con la carga orgánica aplicada al sistema.





6. CONCLUSIONES

El trabajo experimental de esta investigación se desarrolló inicialmente en un reactor SBR convencional bajo condiciones aerobias para el cultivo de los gránulos aerobios con los que se inoculó un reactor SBR *airlift* operado bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas con el fin de lograr la remoción de nitrógeno del agua residual mediante nitrificación y desnitrificación. A lo largo de la experimentación la temperatura se mantuvo entre 18 y 23 °C, el pH osciló entre 8.6 y 8.8, la concentración de oxígeno disuelto durante la fase aerobia se mantuvo entre 4.5 y 5.2 mgOD/l y durante la fase anóxica en valores inferiores a 0.1 mgOD/l. Las principales conclusiones son:

⇒ En el reactor SBR convencional se obtuvieron gránulos aerobios capaces de remover simultáneamente la materia orgánica y el nitrógeno del agua residual vía nitrificación/desnitrificación. Estos gránulos poseían un estructura compacta, forma definida y casi esférica, buena sedimentabilidad y compactación, alcanzando un IVL entre 45 y 48 ml/g con un tiempo de sedimentación de 1.5 min. El tamaño de los gránulos varió a lo largo de la experimentación debido a las diferentes cargas orgánicas bajo las cuales se operó el sistema.





- En el reactor SBR convencional se logró la formación de gránulos aerobios estables bajo una carga orgánica promedio de 0.40 kgDQO/kgSST.d (0.70 kgDQO/m³.d, se hace referencia a la carga orgánica volumétrica debido a que los datos reportados en la literatura se hacen con base en este parámetro). Durante la operación bajo una carga orgánica promedio de 0.17 kgDQO/kgSST.d (0.19 kgDQO/m³.d, carga orgánica baja) se observaron gránulos inestables que presentaban una forma poco regular y eventualmente se desintegraron.
- ⇒ En el reactor SBR *airlift*, con excepción de la etapa bajo una carga orgánica de 0.17 kgDQO/kgSST.d, se obtuvieron valores de IVL para el lodo granular que oscilaron entre 45 y 110 ml/g. Estos valores comparados con los reportados ampliamente en la literatura indican que el lodo con el que se trabajó poseía buena sedimentabilidad y gran consistencia.
- En el reactor *airlift*, se observó que el tiempo de retención celular se comportó de acuerdo con la carga orgánica de la siguiente manera: a medida que la carga orgánica aumenta, el tiempo de retención celular disminuye y viceversa. Es decir, si la carga orgánica es alta hay mayor disponibilidad de sustrato que hace que la biomasa crezca dentro del reactor y se presentará una mayor cantidad de flóculos y sólidos en suspensión que permanecen dentro del sistema al salir con el efluente, lo que significa tiempos de retención celular bajo.
- ⇒ En el reactor *airlift*, bajo condiciones aerobias y bajo una carga orgánica promedio de 0.36 kgDQO/kgSST.d se obtuvieron remociones de DQO_d del 88 %. Bajo una carga orgánica promedio de 0.17 kgDQO/kgSST.d (en la última etapa de operación) se lograron remociones de DQO_d de 80 % al final de la etapa. Debido a que bajo la carga orgánica de 0.17 kgDQO/kgSST.d los gránulos se desintegraron, solamente se puede concluir que con una carga orgánica de 0.36 kgDQO/kgSST.d el sistema operó de manera estable alcanzando mayores remociones de DQO_d.





- ⇒ En el reactor SBR *airlift*, bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas, y bajo una carga orgánica promedio de 0.43 kgDQO/kgSST.d se obtuvieron remociones de nitrógeno inorgánico y de DQO_d del 75 % y 80 %, respectivamente. Bajo una carga orgánica promedio de 0.26 kgDQO/kgSST.d se lograron remociones de nitrógeno inorgánico y de DQO_d de 45 % y 62 %, respectivamente. En general se concluye que se obtuvieron mejores remociones de nitrógeno inorgánico y de DQO_d en la carga orgánica mayor.
- ⇒ En el reactor SBR *airlift* bajo condiciones aerobias/anóxicas se logró satisfactoriamente la nitrificación y desnitrificación sin la adición de un sustrato exógeno durante la fase anóxica. Cabe resaltar que las concentraciones de nitrógeno amoniacal alimentadas al reactor (8.5 11.5 mg N-NH₄/l) están abajo de las concentraciones encontradas en un agua residual municipal (25 30 mg N-NH₄/l).
- Durante la experimentación se observó que a medida que disminuye la carga orgánica aumenta la remoción de nitrógeno amoniacal. Desde el inicio de la operación del reactor SBR *airlift* y hasta el día 65 se logró una nitrificación satisfactoria y por ello la remoción de nitrógeno amoniacal se encuentra sobre el 70 %. Durante el arranque y última etapa de operación del sistema se observó que, debido a la baja presencia de bacterias nitrificantes y a que el sistema se encontraba en su etapa de arranque, se obtuvo una nitrificación baja alcanzando una remoción de nitrógeno amoniacal inferior al 20 %. A medida que la carga orgánica, durante esta etapa, se estabilizó en 0.17 kgDQO/kgSST.d, a pesar de que los gránulos se desintegraron para formar flóculos, la remoción de nitrógeno amoniacal alcanzó un 50 %.
- ⇒ Al inicio de la operación del reactor SBR *airlift*, bajo condiciones aerobias, se mantuvo una carga de nitrógeno amoniacal promedio de 0.013 kgN-NH₄/m³.d obteniéndose una remoción de nitrógeno amoniacal de aproximadamente 79 %. Bajo condiciones aerobias/anóxicas, con una carga de nitrógeno amoniacal promedio de 0.012 kgN-NH₄/m³.d y de 0.018 kgN-NH₄/m³.d se obtuvieron remociones de nitrógeno amoniacal de 89 y 84 %, respectivamente. En la etapa final de experimentación se mantuvo una carga de nitrógeno amoniacal que osciló entre 0.027 y 0.035 kgN-NH₄/m³.d alcanzándose





una remoción de nitrógeno amoniacal del 50 %. A lo largo de la experimentación se observó que la remoción de nitrógeno amoniacal tendió a incrementarse a medida que disminuyó la carga de nitrógeno amoniacal en el sistema.

En el reactor SBAR *airlift* bajo condiciones aerobias se alcanzó una remoción de fósforo de 69 %; bajo condiciones alternantes aerobias/anóxicas se obtuvo una remoción de fósforo de 45 % y en la etapa final bajo, condiciones aerobias, se alcanzó una remoción de fósforo de 42 %. Estas remociones se han relacionado con el consumo por procesos anabólicos ya que el sistema no contaba con las condiciones de operación necesarias para la eliminación biológica de fósforo.





7. BIBLIOGRAFÍA

- ADAV, S.S., LEE, D.J., SHOW, K.Y., TAY, J.H. (2008). Aerobic granular sludge: Recent advances. Biotechnology Advances. 26, 411 423.
- ANTHONISEN, A.C., LOEHR, R.C., PRAKASAM, T.B.S., SRINATH, E.G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. J. WPCF. 46, 835 852.
- APHA, AWWA, WCPF. (1992). Translation of: Standard methods for the examination of water and wastewater, 17th ed. American Public Health Association, American Water Works Association y Water Pollution Control Federation. Washington D.C., EEUU.
- ARROJO, B., MOSQUERA-CORRAL, A. GARRIDO, J.M., MENDEZ, R. (2004). Aerobic granulation with industrial wastewater in sequencing batch reactors. Water Research. 38, 3389 3399.
- BEUN, J.J., HENDRIKS, A., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., MORGENROTH, E., WILDERER, P.A., HEIJNEN, J.J. (1999). Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. Water Research. 33 (10), 2283 – 2290.
- BEUN, J.J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., HEIJNEN, J.J. (2000). Aerobic granulation. Water Science and Technology. 42 (4 5), 41 48.
- BEUN, JJ., HEIJNEN, JJ., VAN LOOSDRECHT, MCM. (2001). N-removal in a granular sludge sequencing batch airlift reactor. Biotechnol Bioeng. 75, 82 92.
- BEUN, J.J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., HEIJNEN, J.J. (2002). Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor. Water Research. 36, 702 712.
- BOSSIER, P., VERSTRAETE, W. (1996). Triggers for microbial aggregation in activated sludge? Appl Microbiol Biotechnol. 45, 1–6.
- CASSIDY, D.P., BELIA, E. (2005). Nitrogen and Phosphorus removal from an abattoir wastewater in a SBR with aerobic granular sludge. Water Research. 39, 4817 4823.





- CERVANTES-CARRILLO, F., PEREZ, J., GOMEZ, J. (2000). Avances en la eliminación biológica del nitrógeno de las aguas residuales. Revista Lationamericana de Microbiología. 42: 73 82.
- CHEN, Y., JIANG, W., LIANG, D., TAY, JH. (2008). Aerobic granulation under combined hydraulic and loading selection pressures. Bioresource Technology. Article in press. doi: 10.1016/j.biortech.2008.02.028.
- CHEN, Y., JIANG, W., LIANG, D., TAY, JH. (2007a). Structure and stability of aerobic granules cultivated under different shear forces in sequencing batch reactors. Applied Microbiology and Biotechnology. 76 (5), 1199 1208.
- CHEN, Y., LEE, D.J., TAY, JH. (2007b). Distribution of extracellular polymeric substances in aerobic granules. Applied Microbiology Biotechnology. 73, 1463 1469.
- CHEVALLIER, S., TORIBIO, M. (2006). Volatilización del amoníaco. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA. Publicación miscelánea No. 105. Argentina.
- CHIESA, S.C., IRVINE, R.L. (1985). Growth and control of filamentous microbes in activated sludge: an integrated hypothesis. Water Res. 19, 471 479.
- CHIU, Y-CH., LEE, L-L., CHANG, CH-N., CHAO, A. (2007). Control of carbon and ammonium ratio for simultaneous nitrification and denitrification in a sequencing batch bioreactor. International Biodeterioration & Biodegradation. 59, 1 7.
- CHUDOBA J. (1985). Control of activated sludge filamentous bulking VI Formulation of basic principle. Water Res. 19: 1017 1022.
- CHUDOBA, P., CAPDEVILLE, B., CHUDOBA, J. (1992). Explanation of biological meaning of the So/Xo ratio in batch culture. Water Sci Technol. 26, 743 751.
- DE BRUIN, L.M.M., DE KREUK, M.K, VAN DER ROEST, H.F.R., ULTERLINDE, C., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. (2004). Aerobic granular sludge technology: an alternative to activated sludge?. Water Science and Technology. 49 (11 12), 1 7.
- DE KREUK, M.K., DE BRUIN L.M.M. (2004). Aerobic granule reactor technology. London, IWA Publishing.
- DE KREUK, MK., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. (2004). Selection of slow growing organisms as a means for improving aerobic granular sludge stability. Water Sci. Technol., 49, 9 17.
- DE KREUK, M.K., HEIJNEN, J.J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. (2005a). Simultaneous COD, Nitrogen and Phosphate removal by aerobic granular sludge. Wiley Periodicals, Inc. Biotechnology and Bioengineering. 90 (6), 761 – 769.
- DE KREUK, M.K., PRONK, M., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. (2005b). Formation of aerobic granules and conversion processes in an aerobic granular sludge reactor at moderate and low temperatures. Water Research. 39, 4476 4484.
- DE KREUK, MK. (2006). Aerobic granular sludge scaling up a new technology. Tesis doctoral, Universidad Técnica de Delft, Países Bajos
- DE KREUK, M.K., KISHIDA, N., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. (2007). Aerobic granular sludge State of the art. Water Science and Technology. 55 (8 9), 75 81.
- DONOVAN, K., WOOD, A. (2000). Confirmation of Thiobacillus denitrificans as a species of the genus Thiobacillus, in the β-subclass of the Proteobacteria, with strain NCIMB 9548 as the type strain. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50, 547 550.
- ETTERER, T., WILDERER, P.A. (2001). Generation and properties of aerobic granular sludge. Water Science and Technology. 43 (3), 19 – 26.





- FANG, F., LIU, XW., XU, J., YU, HQ., LI, YM. (2009). Formation of aerobic granules and their PHB production at various substrate and ammonium concentration. Bioresource Technology. 100, 59 – 63.
- GIESEKE, A., ARNZ, P., AMANN, R., SCRAMM, A. (2002). Simultaneous P and N removal in a sequencing batch biofilm reactor: insights from reactor and micro-scale investigations. Water Research. 36, 501 – 509.
- GIOKAS, D.L., DAIGGER, G.T. VON SPERLING, M., KIM, Y. y PARASKEVAS, P.A. (2003). Comparison and evaluation of empirical zone settling velocity parameters based on sludge volume index using a unified settling characteristics data base. Water Research. 37, 3821 – 3836.
- GONZÁLEZ-MARTÍNEZ, S., WILDERER P. A. (1991). Phosphate removal in a biofilm reactor. Water Science and Technology. 23 (7/9), 1405 1415.
- HAILEI, W., GUANGLI, Y., GUOSHENG, L., FENG. P. (2006). A new way to cultivate aerobic granules in the process of papermaking wastewater treatment. Biochemical Engineering Journal. 28, 99 103.
- HU, L., WANG, J., WEN, X., QIAN, Y. (2005). The formation and characteristics of aerobic granules in sequencing batch reactor (SBR) by seeding anaerobic granules. Process Biochem. 40, 5 11.
- IVANOV, V., TAY, STL. (2006). Microorganisms of aerobic microbial granules. Chapter 7. Biogranulation Technologies for Wastewater Treatment. Waste management series. Elsevier. 135 – 161.
- IRVINE, R.L., KETCHUM, L.H. (1989). Sequencing batch reactors for biological wastewater treatment. Critical Reviews in Environmental Control 18(4):255 294.
- JANG, A., YOON, Y., KIM, I., KIM, K., BISHOP, P. (2003). Characterization and evaluation of aerobic granules in sequencing batch reactor. Journal of Biotechnology. 105, 71 82.
- JIANG HL, TAY JH, TAY STL. (2002). Aggregation of immobilized activated sludge cells into aerobically grown microbial granules for the aerobic biodegradation of phenol. Lett Appl Microbiol. 35:439–445.
- JIANG HL, TAY JH, TAY STL. (2003). Ca⁺² augmentation for enhancement of aerobically grown microbial granules in sludge blanket reactors. Biotechnol Lett. 25, 95 99.
- JIANG HL, TAY JH, TAY STL. (2004). Changes in structure, activity and metabolism of aerobic granules as a microbial response to high phenol loading. Appl Microbiol Biotechnol. 63, 602 608.
- KIM, I., KIM, S-M., JANG, A. (2007). Characterization of aerobic granules by microbial density at different COD loading rates. Bioresource Technology. Article in press. doi: 10.1016/j.biortech.2006.11.058.
- LETTINGA, G., VAN VELSEN, AFM., HORMA, SW., DE ZEEUW, W., KLAPWIJK A. (1980). Use of the upflow sludge blanket (USB) reactor concept for biological wastewater treatment especially for anaerobic treatment. Biotechnology Bioengineering. 22, 699 – 734.
- LI, J., CHEN, Y., LI, J., ZHANG, D., WANG, S., WANG, L., JIANG, D., SUN, F., ZHANG, Q. (2006). Morphological and structural characteristics of aerobic granulation. Journal of Chemical Technology and Biotechnology. 81, 823 – 830.
- LI, J., GARNY, K., NEU, T., HE, M., LINDEBLATT, C. y HORN, H. (2007). Comparison of some characteristics of aerobic granules and sludge flocs from sequencing batch reactors. Water Science and Technology. 55 (8 9), 403 411.





- LI, Z.H., KUBA, T., KUSUDA, T. (2006). The influence of starvation phase on the properties and the development of aerobic granules. Enzyme and Microbial Technology. 38, 670 – 674.
- LI, Y., LIU, Y., SHEN, L., CHEN, F. (2008a). DO diffusion profile in aerobic granule and its microbial implications. Enzyme and Microbial Technology. Article in press. doi: 10.1016/j.enzmictec.2008.04.005.
- LI, Y., LIU, Y., XU, H. (2008b). Is sludge retention time a decisive factor for aerobic granulation in SBR?. Bioresource Technology. Article in press. doi: 10.1016/j.biotech.2008.01.073.
- LIN, YM., LIU, Y., TAY, JH. (2003). Development and characteristics of P-accumulating microbial granules in sequencing batch reactor. Appl Microbiol Biotechnol. 62, 430 435.
- LIU, Y., MOY, B., TAY, JH. (2007). COD removal and nitrification of low-strength domestic wastewater in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. Enzyme and Microbial Technology. 42, 23 28.
- LIU, Y. (2006). Nutrient Removal by Microbial Granules. Chapter 8. Biogranulation Technologies for Wastewater Treatment. Waste management series. Elsevier. 163 – 189.
- LIU, Y., LIU, QS. (2006). Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. Biotech Adv. 24, 115 127.
- LIU, Y., TAY, JH. (2002). The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. Water Research. 36 (24), 1653 1665.
- LIU, Y., TAY, JH. (2004). State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. Biotechnology Advances. 22, 533 563.
- LIU, Y., TAY, JH. (2006). Variable aeration in sequencing batch reactor with aerobic granular sludge. Journal of Biotechnology. 124, 338 346.
- LIU, QS., TAY, JH., LIU, Y. (2003a). Substrate concentration-independent aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. Environ Technol. 24, 1235 1243.
- LIU, Y., YANG, SF., LIU, QS., TAY, JH. (2003b). The role of cell hydrophobicity in the formation of aerobic granules. Current Microbiology. 46, 270 274.
- LIU Y, YANG SF, TAY JH. (2003c). Elemental compositions and characteristics of aerobic granules cultivated at different substrate N/C ratios. Appl Microbiol Biotechnol. 61, 556 561.
- LIU, Y., YANG, SF., TAY, JH., LIU, QS, QIN, L., LI, Y. (2004a). Cell hydrophobicity is a triggering force of biogranulation. Enzyme and Microbial Technology. 34, 371 379.
- LIU, Y., YANG, SF., QIN, L., TAY, JH. (2004b). A thermodynamic interpretation of cell hydrophobicity in aerobic granulation. Applied Microbiology Biotechnology. 24, 410 415.
- LIU, YQ., LIU, Y., TAY, JH. (2004c). The effects of extracellular polymeric substances on the formation and stability of biogranules. Appl. Microbiol. Biotechnol. 65, 143 148.
- LIU, L., WANG, Z., YAO, J., SUN, X., CAI, W. (2005a). Investigation on the properties and kinetics of glucose fed aerobic granular sludge. Enzyme and Microbial Technology. 36, 307 313.
- LIU, Y., WANG, Z., QIN, L., LIU, Y., TAY, JH. (2005b). Selection pressure-driven aerobic granulation in a sequencing batch reactor. Applied Microbiology Biotechnology. 67, 26 32.





- MARTINS, AMP., HEIJNEN, JJ., VAN LOOSDRECHT, MCM. (2003). Effect of dissolved oxygen concentration on sludge settleability. Appl Microbiol Biotechnol. 62, 586 593.
- McSWAIN, B., (2005). Molecular Investigation of Aerobic Granular Sludge Formation. Ph.D. Thesis. University of Notre Dame. Indiana.
- McSWAIN, B., IRVINE, R., WILDERER, PA. (2003). The effect of intermittent feeding on aerobic granule structure. 5th Internacional Conference on Biofilm Systems by International Water Association. South Africa: Cape Town.
- McSWAIN, B., IRVINE, R.L., WILDERER, P.A. (2004a). The effect of intermittent feeding on aerobic granule structure. Water Science and Technology. 49 (11 12), 19 25.
- McSWAIN, B.S., IRVINE, R.L., WILDERER, P.A. (2004b). The influence of settling time on the formation of aerobic granules. Water Science and Technology. 50 (10), 195 202.
- McSWAIN, B., IRVINE, R., HAUSNER, M., WILDERER, PA. (2005). Composition and distribution of extracellular polymeric substances in aerobic flocs and granular sludge. Appl. Environ. Microbiol. 71, 1051 1057.
- METCALF & EDDY Inc. (2003). Wastewater Engineering, Treatment and Reuse . McGraw Hill. New York, United States.
- METCALF & EDDY Inc. (1996). Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. Tomos 1 y 2. McGraw Hill, México.
- MORGENROTH, E., SHERDEN, T., VAN LOOSDRECHT, M.C.M., HEIJNEN, J.J. y WILDERER, P.A. (1997). Aerobic Granular Sludge in a Sequencing Batch Reactor -Rapid Communication. Water Research. 31 (12), 3191 – 3194.
- MOSQUERA-CORRAL, A., DE KREUK, M.K., HEIJNEN, J.J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. (2005). Effects of oxygen concentration on N-removal in an aerobic granular sludge reactor. Water Research. 39, 2676 2686.
- MOY, BYP., TAY, JH., TOH, SK., LIU, Y. y TAY, STL. (2002). High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. Lett Appl Microbiol. 34, 407– 412.
- NG, PH. (2002). Storage stability of aerobic granules cultivated in aerobic granular sludge blanket reactor. Final year report of Bachelor of Engineering 2002. Singapore: Nanyang Technological University.
- PALM, JC., JENKINS, D., PARKER, DS. (1980). Relationship between organic loading, dissolved oxygen concentration and sludge settleability in the completely mixed activated sludge process. J Water Pollut Control Fed. 52, 2484 2506.
- PAREDES, D., KUSCHK, P., MBWETTE, T.S.A., STANGE, F., MÜLLER, R.A., KÖSER, H. (2007). New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment – a review. Eng. Life. Sci. 1, 13 – 25.
- PENG, D., BERNET, N., DELGENES, J., MOLETTA, R. (1999). Aerobic Granular Sludge A case report. Water Research. 33 (3), 890 893.
- QIN, L., LIU, Y. (2006). Aerobic granulation for organic carbon and nitrogen removal in alternating aerobic anaerobic sequencing batch reactor. Chemosphere. 63, 926 933.
- QIN, L., LIU, Y., TAY, J.H. (2005). Denitrification on Poly-β-hydroxybutyrate in microbiol granular sludge sequencing batch reactor. Water Research. 39, 1503 1510.
- QIN, L., LIU, Y., TAY, JH. (2004a). Effect of settling time on aerobic granulation in sequencing batch reactor. Biochemical Engineering Journal. 21, 47 52.
- QIN, L., TAY, JH., LIU, Y. (2004b). Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. Process Biochem. 39, 579 584.





- ROSENBERG, M., GUTNICK, D., ROSENBERG, E. (1980). Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell hydrophobicity. FEMS Microbiol. Lett., 9(1), 29 33.
- SANCHEZ, B.L.A., ZEPEDA, P.A., HOUBRON, E. (1999). Generación de lodos en plantas de tipo SBR: seguimiento de varias plantas industriales. IV Congreso Lationamericano de Biotechnología y Bioingeniería. Huatulco, Oaxaca. México. Pp. 454.
- SCHLEGEL, H.G. (1996). Microbiología general. Ediciones Omega. Barcelona, España.
- SCHWARZENBECK, N., ERLEY, R., WILDERER, PA. (2004). Aerobic granular sludge in an SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. Water Sci Technol. 49, 41–46.
- SCHWARZENBECK, N., BORGES, JM., WILDERER, PA. (2005). Treatment of dairy effluents in an aerobic granular sludge sequencing batch reactor. Appl Microbiol Biotechnol. 66, 711 – 718.
- SHIN, HS., LIM, KH., PARK, HS. (1992). Effect of shear stress on granulation in oxygen aerobic upflow sludge reactors. Water Sci Technol. 26, 601 605.
- SIMM, R.A., MAVINIC, D.S., RAMEY, W.D. (2006). Development of a conceptual model to explain apparent free ammonia inhibition in wastewater systems. Proceedings of the Water Environment Federation, WEFTEC: Session 81 through Session 94, (26) 6548 -6573.
- SURAMPALLI, R.Y., TYAGI, R.D., SCHEIBLE, O.K., HEIDMAN, J.A. (1997). Nitrification, denitrification and phosphorus removal in a sequential batch reactors. Bioresource Technology, Elsevier Science Limited. 67, 151 157.
- TAY, JH., LIU, QS., LIU, Y. (2001a). Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. Journal Applied Microbiology. 91, 168–175.
- TAY, JH., LIU, QS., LIU, Y. (2001b). The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules. Lett Appl Microbiol 2001c;33:222– 6.
- TAY, JH., LIU, QS., LIU, Y. (2001c). The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. Appl Microbiol Biotechnol. 57, 227–233.
- TAY, JH., IVANOV, V., PAN, S., TAY. STL. (2002a). Specific layers in aerobically grown microbial granules. Lett Appl Microbiol. 34, 254 257
- TAY, JH., LIU, QS., LIU, Y. (2002b). Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors. Environ Technol. 23, 931–936.
- TAY, JH., YANG, SF., LIU, Y. (2002c). Hydraulic selection pressure-induced nitrifying granulation in sequencing batch reactors. Appl Microbiol Biotechnol. 59, 332 337.
- TAY, JH., LIU, QS., LIU, Y. (2002d). Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors. Environ. Technol. 23, 931 -936.
- TAY, JH., PAN, S., TAY, STL., IVANOV, V., LIU, Y. (2003). The effect of organic loading rate on the aerobic granulation: the development of shear force theory. Wat. Sci. Tech. 47 (11), 235 – 240.
- TAY, JH., PAN, S., HE, YX., TAY, STL. (2004a). Effect of organic loading rate on aerobic granulation: I. Reactor Performance. J Environ Eng. 130 (10), 1094 1101.
- TAY, JH., PAN, S., HE, YX., TAY, STL. (2004b). Effect of organic loading rate on aerobic granulation: II. Characteristics of aerobic granules. J Environ Eng. 130 (10), 1102 – 1109.
- TAY, JH., TAY, STL., YU, L., YEOW, SK., IVANOV, V. (2006). Biogranulation technologies for wastewater treatment, Edit. Elsevier, Países Bajos.





- THIRD, K.A., BURNETT, N. y CORD-RUWISCH, R. (2003). Simultaneous nitrification and denitrification using stored substrate (PHB) as the electron donor in a SBR. Biotechnology and Bioengineering. 83 (6), 706 720.
- TOH, SK., TAY, JH., MOY, BYP., IVANOV, V., TAY, STL. (2003). Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR. Appl Microbiol Biotechnol. 60, 687–695.
- TSUNEDA, S., NAGANO, T., HOSHINO, T., EJIRI, Y., NODA, N., HIRATA, A. (2003). Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor. Water Res. 37, 4965 – 4973.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M., LYKLEMA, J., NORDE, W., SCHRAA, G., ZEHNDER, A. (1987). Electrophoretic Mobility and Hudrophobicity as a Measure to predict the Inicial Steps of Bacterial Adhesion. Applied and Environmental Microbiology. 53 (8), 1898 – 1901.
- VAN LOOSDRECHT, M.C.M., JETTEN, S.M. (1998). Microbiological conversions in nitrogen removal. Wat. Sci. Tech. 38 (1). 1 7.
- WANG, Q., GUOCHENG, D., CHEN, J. (2004). Aerobic Granular sludge cultivated under the selective pressure as a driving force. Process Biochemistry. 39, 557 563.
- WANG, ZW., LIU, Y., TAY, JH. (2005a). Distribution of EPS and cell surface hydrophobicity in aerobic granules. Appl. Microbiol. Biotechnol. 69, 469 473.
- WANG, F., YANG, F-L., ZHANG, X-W, LIU, Y-H., ZHANG, H-M., ZHOU, J. (2005b). Effects of cycle time on properties of aerobic granules in sequencing batch airlift reactors. World Journal of Microbiology y Biotechnology. 21, 1379 1384.
- WANG, ZW., LIU, Y., TAY, JH. (2006). The role of SBR mixed liquor volume exchange ratio in aerobic granulation. Chemosphere. 62, 767 771.
- WILDERER, PA., IRVINE, RL., GORONSZY, MC. (2001). Sequencing Batch Reactor Technology. Scientific and Technical Report No. 10. IWA publishing.
- WILEN, BM., BALMER, P. (1999). The effect of dissolved oxygen concentration on the structure, size and size distribution of activated sludge flocs. Water Res. 33: 391–400.
- YANG, SF., LIU, Y., TAY, JH. (2003). A novel granular sludge sequencing batch reactor for removal of organic and nitrogen from wastewater. J Biotechnol. 106, 77– 86.
- YANG, SF., LIU, QS., TAY, JH., LIU, Y. (2004a). Growth kinetics of aerobic granules developed in sequencing batch reactors. Lett Appl Microbiol. 38, 106–112.
- YANG, SF., TAY, JH., LIU, Y. (2004b). Inhibition of free ammonia to the formation of aerobic granules. Biochem Eng J. 17, 41– 48.
- YANG, SF., TAY, JH., LIU, Y. (2005). Effect of substrate N/COD ratio on the formation of aerobic granules. J Environ Eng. 86 92.
- YANG, SF., LI, XY., YU, HQ. (2008). Formation and characterisation of fungal and bacterial granules under different feeding alkalinity and pH conditions. Process Biochem. 43: 8 – 14.
- ZHENG, Y.M, YU, H.Q., LIU, S.H., LIU, X.Z. (2006). Formation and Instability of aerobic granules under high organic loading conditions. Chemosphere 63 (10), 1791 1800.
- ZHU, J., WILDERER, P.A. (2003). Effect of extended idle conditions on structure and activity of granular activated sludge. Water Res. 37, 2013 2018.
- ZITA, A., HERMANSSON, M. (1997). Determination of bacterial cell surface hydrophobicity of single cells in cultures and in wastewater in situ. FEMS Microbiol Lett. 18, 299 306.





- ZITOMER, D., DURAN, M., ALBERT, R., GUVEN, E. (2007). Thermophilic aerobic granular biomass for enhanced settleability. Water Research. 41, 819 825.
- ZNAD, H., BÁLES, V., KAWASE, Y. (2004). Modeling and scale up of airlift birreactor. Computers and Chemical Engineering. 28, 2765 – 2777.





ANEXOS



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



Fecha	Día de operación	T (°C)	OD (mg/l)	pН	DQOd Infl. (mg/l)	DQOd Efl. (mg/l)	Remoción DQO (%)	C.O (kgDQO/kgSST.d)	C.O volum. (kgDQO/m3.d)	Tasa de remoción de DQO (kgDQO/kgSST.d)	SST reactor (mg/l)	Sse (ml/l)
20/05/08	0	19.65	5.67	8.68	312	41	87	0.42	0.66	0.36	1569	48
24/05/08	5	-	-	-	321	53	83	0.41	0.67	0.34	1631	50
29/05/08	10	21.34	4.76	8.99	335	46	86	0.43	0.70	0.37	1630	52
03/06/08	15	-	-	-	345	43	88	0.44	0.72	0.39	1632	55
09/06/08	21	19.54	5.01	8.67	375	40	89	0.48	0.79	0.43	1634	62
13/06/08	25	-	-	-	340	54	84	0.40	0.71	0.34	1763	76
18/06/08	30	20.78	6.34	8.56	344	44	87	0.40	0.72	0.35	1810	88
20/06/08	32	-	-	-	354	55	84	0.39	0.74	0.33	1902	100
25/06/08	37	22.01	5.42	8.81	375	67	82	0.40	0.79	0.33	1964	100
28/06/08	40	-	-	-	324	66	80	0.34	0.68	0.27	1972	100
04/07/08	46	21.86	4.65	9.34	312	68	78	0.33	0.66	0.26	1981	100
08/07/08	50	-	-	-	332	76	77	0.35	0.70	0.27	1991	120
14/07/08	56	21.96	4.32	8.54	321	54	83	0.34	0.67	0.28	2004	120
19/07/08	59	-	-	-	281	56	80	0.29	0.59	0.23	2017	110
24/07/08	66	20.56	4.56	8.87	335	67	80	0.35	0.70	0.28	2031	100
28/07/08	70	-	-	-	331	69	79	0.42	0.69	0.33	1654	110
05/08/08	78	19.99	4.87	8.43	365	99	73	0.48	0.76	0.35	1587	130
11/08/08	84	-	-	-	335	97	71	0.53	0.70	0.38	1322	110
18/08/08	90	19.89	4.15	9.34	365	82	78	0.61	0.76	0.48	1244	120
25/08/08	98	-	-	-	343	77	78	0.66	0.72	0.51	1096	110
27/08/08	100	21.06	4.76	8.78	335	66	80	0.66	0.70	0.53	1066	125

Tabla I. Resultados obtenidos para el reactor SBR convencional para el cultivo de gránulos aerobios.





Fecha	Día de operación	IVL (ml/g)	t. sed. (min)	N- NH4 - Inf. (mg/l)	N-NH4 - Efl. (mg/l)	Remoción de NH4 (%)	N-NO3 Efl. (mg/l)	N-NO2 Efl. (mg/l)	Remoción de Ninorg (%)	P-PO4 Infl. (mg/l)	P-PO4 Efl. (mg/l)	Remoción de Fósforo (%)
20/05/08	0	31	1.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24/05/08	5	31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29/05/08	10	32	1.15	-	-	-	-	-	-	-	-	-
03/06/08	15	34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
09/06/08	21	38	1.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13/06/08	25	43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18/06/08	30	49	-	32.6	10.3	68	18.5	0.2	11	10.5	5.5	48
20/06/08	32	53	-	31.5	11.9	62	14.6	0.1	16	11.0	5.6	49
25/06/08	37	51	1.3	33.4	10.3	69	19.7	0.1	10	10.5	6.8	36
28/06/08	40	51	-	31.5	8.5	73	21.5	0.1	5	11.0	8.9	19
04/07/08	46	50	-	30.5	9.5	69	20.5	0.1	2	10.3	6.8	34
08/07/08	50	60	1.25	33.7	6.6	80	25.7	0.1	4	10.8	5.3	50
14/07/08	56	60	-	34.0	4.9	86	30.4	0.1	0	10.6	4.2	60
19/07/08	59	55	1.35	36.8	2.5	93	33.7	0.1	1	11.0	2.6	77
24/07/08	66	49	-	38.3	4.0	89	31.9	0.1	6	10.1	3.7	63
28/07/08	70	67	1.3	37.9	2.7	93	34.0	0.1	3	9.4	2.5	74
05/08/08	78	82	-	38.7	3.2	92	35.6	0.1	0	9.9	2.6	73
11/08/08	84	83	1.35	37.9	3.7	90	34.9	0.1	0	11.0	2.1	81
18/08/08	90	96	-	38.4	4.1	89	32.8	0.1	3	9.4	2.2	76
25/08/08	98	100	1.3	38.1	5.0	87	33.0	0.1	0	10.4	4.1	61
27/08/08	100	117	1.3	38.2	5.2	86	33.1	0.1	0	10.4	3.3	69

Tabla I. Resultados obtenidos para el reactor SBR convencional para el cultivo de gránulos aerobios (continuación).





Tabla II. Resultados obtenidos para el reactor SBAR.

	F 1	Día de		OD	TT	DQOd	DQOd	Remoción	C.O	C.O volum.	Tasa de remoción de	SST reactor	SST	TRC
	Fecha	operació	1 (°C)	(mg/l)	рн	Infl.	Efl.	DQO (%)	(kgDQO/kgSST.	(kgDQO/m3.d)	DQO	(mg/l)	efluente	(dias)
Ш	24/09/08	0	20.21	5.26	8.65	236	15	94	0.23	0.35	0.22	1533	45	23
F. AEROBIA C.O. 0.36	25/09/08	2	19.25	4.53	8.71	247	10	96	0.22	0.37	0.21	1692	48	24
	30/09/08	8	18.61	5.19	8.63	225	24	89	0.30	0.34	0.27	1124	73	10
	02/10/08	10	19.18	4.99	8.75	214	22	90	0.32	0.32	0.29	1002	82	8
	07/10/08	15	18.72	5.23	8.69	236	35	85	0.35	0.35	0.30	1017	80	8
	09/10/08	17	19.74	5.13	8.76	243	41	83	0.41	0.36	0.34	880	99	6
	14/10/08	22	18.75	4.95	8.81	249	41	84	0.51	0.37	0.43	731	103	5
-	16/10/08	24	17.46	4.97	8.67	252	47	81	0.52	0.38	0.43	720	104	5
	21/10/08	29	17.68	4.96	8.78	289	57	80	0.58	0.43	0.46	749	96	5
43 C 31	23/10/08	31	18.12	5.02	8.79	296	47	84	0.55	0.44	0.46	811	92	6
i X i	28/10/08	36	17.76	4.94	8.76	298	54	82	0.45	0.45	0.37	984	66	10
ĔĬŽÖ	30/10/08	38	19.92	4.53	8.83	272	59	78	0.34	0.41	0.27	1183	50	16
F.A C.C	04/11/08	43	19.86	4.93	8.76	298	61	80	0.33	0.45	0.26	1349	61	15
	06/11/08	45	17.42	5.21	8.88	371	99	73	0.36	0.56	0.26	1562	78	13
24	11/11/08	50	17.28	5.45	8.73	362	149	59	0.22	0.54	0.13	2487	99	17
S C SI	13/11/08	52	18.18	4.85	8.87	366	161	56	0.22	0.55	0.12	2507	102	16
io X ii	18/11/08	57	16.15	4.87	8.78	358	177	51	0.28	0.54	0.14	1922	196	7
βžÖ	20/11/08	59	14.64	4.56	8.71	354	144	59	0.30	0.53	0.18	1749	168	7
F.A C.C	25/11/09	63	15.95	4.35	8.73	360	111	69	0.33	0.54	0.23	1652	149	7
	27/11/09	65	16.32	5.1	8.67	362	97	73	0.32	0.54	0.23	1697	130	9
	20/01/09	75	-	-	-	220	204	7	0.83	0.33	0.06	399	142	2
	27/01/09	82	19.23	4.47	8.78	215	201	7	0.53	0.32	0.04	613	107	4
	29/01/09	89	20.27	5.49	8.56	113	102	9	0.27	0.17	0.02	629	104	4
	03/02/09	94	17.98	4.23	8.76	117	71	39	0.27	0.17	0.11	641	71	6
	05/02/09	96	20.75	4.04	8.87	108	76	30	0.25	0.16	0.07	650	87	5
	10/02/09	111	21.61	5.26	8.65	128	39	69	0.20	0.19	0.14	979	83	8
N	12/02/09	113	21.67	4.73	8.69	125	22	82	0.14	0.19	0.12	1333	76	12
0.1	16/02/09	117	20.73	4.85	8.71	120	54	55	0.15	0.18	0.08	1179	73	11
Ū.	18/02/09	119	20.26	4.23	8.78	123	41	67	0.16	0.18	0.11	1152	75	10
ŭ	23/02/09	124	21.69	5.3Z	8.81	127	51	60	0.19	0.19	0.11	1017	43	16
Y	23/02/09	120	10.02	4.73	8.79	123	36	43	0.19	0.19	0.08	1140	42	10
80	05/03/09	132	20.41	4.23	8.74	128	30	72	0.17	0.19	0.12	1140	43	10
N N	10/02/00	134	20.41	4.80	8.81	147	37	75	0.17	0.22	0.13	1200	43	19
N	12/03/09	140	20.32	4.23	8.78	134	27	80	0.14	0.19	0.11	1400	88	13
щ	24/03/09	152	20.32	5.76	8.86	125	41	68	0.12	0.20	0.10	1422	94	10
	26/03700	154	19.86	6.02	8.83	123	36	72	0.15	0.19	0.05	1248	87	10
	31/03/09	159	22.66	5.65	8 79	112	22	80	0.13	0.17	0.11	1249	89	9
	02/04/09	161	23.29	5.00	8.81	125	29	77	0.15	0.19	0.12	1240	87	10
	07/04/09	166	20.51	5.69	8.88	127	32	75	0.15	0.19	0.12	1256	94	9
	09/04/09	168	22.43	5.21	8.74	135	37	72	0.16	0.20	0.12	1247	97	9
	14/04/09	173	21.34	5.09	8.86	124	27	78	0.15	0.19	0.12	1216	96	8





	El	Día de	Sse	IVL	N- NH4 -	N-NH4 -	Carga de N-	Remoción	N-NO3	N-NO2	Remoción	P-PO4	P-PO4	Remoción de
	Fecha	operació	(ml/l)	(ml/g)	Inf.	Efl.	NH4 (kgN-	de NH4 (%)	Efl.	Efl.	de Ninorg	Infl.	Efl.	Fósforo (%)
ш	24/09/08	0	150	98	8.6	1.5	0.013	83	6.6	0.0	7	4.1	1.2	71
F. AHROBIA CO 0.36	25/09/08	2	130	77	8.4	1.3	0.013	84	6.0	0.3	8	4.3	1.1	75
	30/09/08	8	100	89	9.2	2.4	0.014	74	6.9	0.8	0	4.0	1.0	74
	02/10/08	10	80	80	9.7	2.6	0.014	73	7.6	0.1	0	4.9	1.6	67
	07/10/08	15	80	79	8.5	1.5	0.013	83	7.1	0.4	0	4.3	1.1	75
	09/10/08	17	75	85	8.7	1.9	0.013	79	6.7	0.0	2	4.5	1.0	78
	14/10/08	22	65	89	8.9	2.0	0.013	77	6.9	0.4	0	4.5	1.4	69
I	16/10/08	24	50	69	8.6	1.9	0.013	78	6.0	0.6	0	3.5	1.9	45
X	21/10/08	29	45	60	8.6	1.8	0.013	79	3.5	0.1	37	5.5	1.7	69
43 (C	23/10/08	31	45	55	7.8	0.6	0.012	92	3.6	0.2	43	4.3	2.4	45
ğ X °	28/10/08	36	45	46	8.1	1.1	0.012	86	2.9	0.1	49	4.1	2.1	48
βΖÖ	30/10/08	38	45	38	8.1	0.5	0.012	94	2.2	0.1	66	3.6	2.8	20
F.A C.C	04/11/08	43	65	48	8.3	0.4	0.013	95	1.5	0.0	77	3.7	2.1	45
	06/11/08	45	60	38	11.3	1.1	0.017	90	4.0	0.0	55	3.5	2.1	40
× <	11/11/08	50	100	40	10.8	0.2	0.016	98	2.4	0.0	76	5.2	2.9	43
B C M	13/11/08	52	150	60	11.9	2.0	0.018	83	8.8	0.2	8	3.9	3.0	24
D X C	18/11/08	57	100	52	11.8	1.8	0.018	85	3.8	0.1	52	5.2	3.8	28
Β́ΖÖ	20/11/08	59	100	57	11.8	1.8	0.018	84	4.3	0.1	48	4.6	2.4	47
F.A C.C	25/11/09	63	95	57	11.8	1.8	0.018	84	4.6	0.0	45	5.0	2.7	46
	27/11/09	65	95	56	11.8	1.9	0.018	84	4.5	0.0	45	5.4	2.3	57
	20/01/09	75	-	-	27.2	24.1	0.041	11	0.2	0.0	11	12.9	9.8	25
	27/01/09	82	55	90	25.6	21.0	0.038	18	1.3	0.5	11	12.3	9.0	27
	29/01/09	89	55	87	20.5	18.8	0.031	8	0.5	0.4	3	12.8	9.4	27
	03/02/09	94	55	86	26.2	22.7	0.039	13	0.9	0.4	8	10.6	7.4	31
	05/02/09	96	60	92	25.1	16.8	0.038	33	3.4	1.0	15	11.7	6.9	41
	10/02/09	111	60	61	26.3	19.3	0.039	26	0.8	2.2	15	12.6	6.7	46
N	12/02/09	113	70	53	20.3	15.4	0.031	24	1.3	2.2	7	10.1	6.3	37
TC	16/02/09	117	70	59	21.7	16.8	0.033	22	1.7	3.0	1	10.6	6.5	38
Ĭ	18/02/09	119	75	65	24.7	22.4	0.037	9	1.5	2.8	0	11.3	7.3	36
ŭ	23/02/09	124	80	79	26.5	22.8	0.040	14	1.3	2.8	0	10.2	6.9	32
P	25/02/09	126	85	85	22.4	15.2	0.034	32	3.2	3.5	2	9.8	6.1	37
8	03/03/09	132	100	88	25.5	18.7	0.038	27	4.3	3.8	0	10.9	6.3	42
JKC .	10/03/09	134	100	107	24.1	15.0	0.036	38	3.9	3.9	5	10.2	7.0	32
A	10/03/09	138	150	107	22.3	13.1	0.034	41	4.8	3.7	3	10.2	6.3	38
H	12/03/09	140	180	109	20.4	10.9	0.031	4/	4.8	3.8	4	9.9	6.2	37
	24/03/09	152	120	04.4	20	10.0	0.030	40.0	3	<u> </u>	7	9.9	0.1	22
	20/03/09	154	100	00.∠ 80.1	20	13.0	0.035	37.3	4	2.7	/	10.5	7.1	21
	31/03/09	139	110	00.1 99.7	20	14.1	0.030	20.0	4 2	2.0	4	10.4	7.2	25
	02/04/09	101	100	00.7	<u>∠1</u> 19	15.2	0.032	20.5	3	2.1	4	10.7	7.0	33
	07/04/09	168	100	79.0 80.2	10	0.7	0.028	42.0	4	2.7	8	10.1	6.1	40
	11/01/09	173	100	82.3	18	9.1	0.027	40.0	4	3.0	9	10.2	7.0	33
	14/04/09	1/3	100	62.5	10	7.∠	0.027	40.7	4	5.0	7	10.5	7.0	

Tabla II. Resultados obtenidos para el reactor SBAR (continuación).

