



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
INGENIERÍA AMBIENTAL – AGUA

***TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE REFINERÍAS DE PETRÓLEO POR
MEDIO DE REACTORES BIOLÓGICOS CON MEMBRANA***

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN INGENIERÍA

PRESENTA:
M. en C. LIZET MARINA NAVA URREGO

TUTOR PRINCIPAL
Dr. ALFONSO DURÁN MORENO – Facultad de Química

COMITÉ TUTOR
Dr. Simón González Martínez – Instituto de Ingeniería
Dr. Germán Buitrón Méndez – Instituto de Ingeniería

MÉXICO, D. F. Agosto, 2014

JURADO ASIGNADO:

Presidente: **Dr. Germán Buitrón Méndez**
Secretario: **Dr. Germán Cuevas Rodríguez**
Vocal: **Dra. Petia Mijaylova Nacheva**
1 er. Suplente: **Dr. Simón González Martínez**
2 d o. Suplente: **Dr. Alfonso Durán Moreno**

Lugar donde se realizó la tesis:
Laboratorio de Ingeniería Química Ambiental (301), Conjunto E, Facultad de Química,
UNAM

TUTOR DE TESIS:

Dr. Alfonso Durán Moreno

FIRMA

Todos somos muy ignorantes. Lo que ocurre es que no todos ignoramos las mismas cosas

Albert Einstein

Las ideas nunca se realizan por completo. A veces se retraen, hibernan, como algunas bestias. Esperan el momento oportuno para reaparecer. El pensamiento no muere. Sólo mide su tiempo. La idea que parecía muerta en un tiempo reaparece en otro. El espíritu no muere. Se traslada. Se duplica, a veces suple, e incluso, suplica. Desaparece, se le cree muerto. Reaparece.

Carlos Fuentes

AGRADECIMIENTOS

A la UNAM y a la Facultad de Química por permitirme entrar en su programa de estudios y por proporcionarme la infraestructura y financiamiento necesario para llevar a cabo este proyecto.

A la Coordinación de Estudios de Posgrado (CEP) por la beca otorgada durante mis estudios de doctorado que permitieron continuar con mi formación académica.

A mi tutor, Dr. Alfonso Durán Moreno, quien me brindó su orientación académica, calidez humana, confianza y apoyo incondicional más allá de mi estancia en el posgrado.

A los sinodales: Dr. Simón González Martínez, Dr. Germán Buitrón Méndez, Dr. Germán Cuevas Rodríguez y Dra. Petia Mijaylova Nacheva por la revisión, comentarios y sugerencias a este trabajo.

Al personal del Laboratorio de Ingeniería Química Ambiental y Química Ambiental (LIQAYQA) de la UNAM, especialmente a la QFB. Isabel Arce Camacho, al Sr. Benjamín Ramírez Cruz y al Sr. Hilario Becerril Fuentes por el apoyo técnico brindado.

A las doctoras Rocío Alcántara Hernández y Luisa Falcón Álvarez del Instituto de Ecología de la UNAM por su participación y orientación en la identificación de la comunidad microbiana.

Al Maestro Lauro Santiago y al alumno Edgar por su colaboración en el desarrollo del software para la adquisición de datos en los sistemas utilizados en esta investigación.

A los ingenieros Mauro Aguilar y Rene Rosas de la Torre de Ingeniería de la UNAM por su constante disposición y colaboración para la recolección del agua residual dentro de las refinerías.

A mis compañeros de laboratorio Raquel, Nora, Paulina, Karina, Carlos, Gonzalo y Sergio que de alguna forma hicieron posible la realización de este trabajo y me brindaron su amistad.

A mis padres Alfonso y Luz Marina y hermanos Paola y Andrés, por su amor, comprensión y apoyo incondicional para alcanzar mis sueños, ellos más que nadie saben lo que significó esta etapa de mi vida.

A Raquel Gasperín Sánchez por su amistad, apoyo, solidaridad, complicidad y buenos y malos momentos que pasamos durante nuestras largas jornadas de trabajo.

A Lukas, Trufa y Brownie por hacerme recordar que la felicidad se encuentra en las cosas simples de la vida.

A todas las personas que de una y otra forma contribuyeron al desarrollo y culminación de este proyecto, entre ellas, Cristina Aráoz, Aracely Martínez y Martha Roa.

TABLA DE CONTENIDO

<i>ÍNDICE DE TABLAS</i>	<i>vii</i>
<i>ÍNDICE DE FIGURAS</i>	<i>viii</i>
<i>LISTA DE ABREVIATURAS Y UNIDADES</i>	<i>x</i>
<i>RESUMEN</i>	<i>xii</i>
<i>ABSTRACT</i>	<i>xiii</i>
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis.....	3
1.2 Objetivos	3
1.3 Alcances	4
2. AGUAS RESIDUALES DE REFINERÍAS DE PETRÓLEO	5
2.1 Aguas desflemadas	9
2.2 Reúso del agua	11
3. TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES	14
3.1 Reactores con biomasa en suspensión.....	14
3.2 Reactores con biomasa adherida	16
3.3 Degradación biológica de compuestos fenólicos y nitrogenados.....	17
3.3.1 Compuestos fenólicos	17
3.3.2 Nitrógeno amoniacal	20
3.4 Crecimiento microbiano con múltiples sustratos	21
3.4.1 Inhibición competitiva.....	23
3.4.2 Inhibición no competitiva.....	23
3.4.3 Inhibición acompetitiva.....	23
3.4.4 Inhibición mixta	23
3.5 Técnicas de ecología molecular para el estudio de la diversidad microbiana....	26
4. NUEVAS TECNOLOGÍAS DE REACTORES BIOLÓGICOS	29
4.1 Reactores de biopelícula de lecho móvil (MBBR).....	29
4.1.1 Evaluación de la tecnología MBBR.....	34
4.2 Reactores biológicos con membrana (MBR)	35
4.2.1 Ensuciamiento de membranas	38
4.2.2 Aplicación de los sistemas MBR	40
4.3 Reactores de biopelícula acoplados a una membrana de filtración (MBMBR) .	43
4.3.1 Eficiencia del tratamiento.....	45
5. ESTRATEGÍA EXPERIMENTAL.....	48
5.1 Efluente industrial	48
5.2 Aclimatación de microorganismos.....	49
5.3 Diseño, construcción y operación de los reactores SBR y MSBR.....	49
5.4. Pretratamiento del agua desflemada.....	51
5.5 Operación de los sistemas MBR y MBMBR	52

5.5.1 Funcionamiento de los reactores	53
5.5.2 Monitoreo de los sistemas	56
5.6 Cuantificación de la biomasa	59
5.7 Ensuciamiento de la membrana.....	60
5.8 Determinación e identificación de bacterias por técnicas moleculares.....	60
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	64
6.1 Caracterización del agua residual.....	64
6.2 Aclimatación de microorganismos.....	67
6.3 Operación de los reactores SBR y MSBR.....	68
6.4 Pretratamiento del agua desfleada.....	75
6.5 Operación en continuo (MBMBR y MBR).....	76
6.5.1 Remoción de materia orgánica.....	77
6.5.2 Remoción de compuestos fenólicos	81
6.5.3 Compuestos nitrogenados	85
6.5.4 Comportamiento de las especies de azufre	88
6.5.5 Comportamiento del pH y oxígeno disuelto (OD).....	90
6.5.6 Grasas y Aceites (GyA).....	91
6.5.7 Características de la biomasa	92
6.5.8 Dureza y turbidez	96
6.5.9 Desempeño de la membrana	96
6.5.9.1 Presión Transmembrana (PTM)	96
6.5.9.2 Sustancias poliméricas extracelulares solubles y enlazadas al flóculo	97
6.5.9.3 Visualización de las membranas	101
6.6 Dinámica de la comunidad microbiana presente en los sistemas MBMBR y MBR	102
6.7 Bioensayos de toxicidad del agua tratada	106
6.7.1 Agua desfleada	106
6.7.2 Agua tratada	109
6.8 Calidad del agua tratada	110
7. CONCLUSIONES	111
8. REFERENCIAS.....	114
9. ANEXOS.....	129

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 2.1	Contaminantes en las diferentes unidades de refinación del petróleo.....	7
Tabla 2.2	Concentración de contaminantes en aguas residuales de refinerías.....	7
Tabla 2.3	Caracterización de agua desfleada.....	11
Tabla 2.4	Valores de calidad del agua de reúso para las torres de enfriamiento.....	12
Tabla 2.5	Desempeño del sistema terciario en la Refinería Lázaro Cárdenas.....	13
Tabla 3.1	Modelos cinéticos para el crecimiento con inhibición.....	22
Tabla 3.2	Efectos de los diferentes tipos de inhibición.....	25
Tabla 4.1	Eficiencias de remoción para MBR reportadas por distintos autores.....	41
Tabla 4.2	Comparación de los parámetros de operación y desempeño entre un reactor de lodos activados convencional y un MBR para tratar aguas residuales de refinería.....	41
Tabla 4.3	Compilación de las condiciones de operación y rendimiento de los MBMBR.....	47
Tabla 5.1	Distribución de los diferentes lotes de agua desfleada en este estudio.....	48
Tabla 5.2	Medio mineral para la aclimatación de los microorganismos.....	49
Tabla 5.3	Condiciones de operación de los reactores SBR.....	50
Tabla 5.4	Condiciones de operación de los reactores MB y MBMBR.....	53
Tabla 5.5	Parámetros de control y monitoreo en los reactores MBMBR y MBR.....	56
Tabla 5.6	Nivel de incidencia toxicológico.....	59
Tabla 5.7	Técnicas analíticas para la determinación de SPE.....	59
Tabla 5.8	Distribución de las muestras analizadas.....	61
Tabla 5.9	Mezcla de reacción para amplificación por PCR.....	62
Tabla 6.1	Caracterización fisicoquímica del agua desfleada.....	65
Tabla 6.2	Remoción de DQO y COD en el proceso de aclimatación.....	67
Tabla 6.3	Comportamiento de los reactores SBR y MSBR.....	69
Tabla 6.4	Duración de los perfiles de degradación.....	71
Tabla 6.5	Coefficientes cinéticos obtenidos en este estudio.....	74
Tabla 6.6	Valores de los coeficientes cinéticos para bacterias aerobias.....	75
Tabla 6.7	Características del agua desfleada después del proceso fisicoquímico.....	76
Tabla 6.8	Valores de carga orgánica aplicados a los sistemas MBMBR y MBR.....	77
Tabla 6.9	Concentración de grasas y aceites en el influente y efluente de los sistemas MBMBR y MBR durante la primera etapa.....	91
Tabla 6.10	Concentraciones de SPE solubles y enlazadas en los sistemas MBMBR y MBR..	98
Tabla 6.11	Distribución de las secuencias analizadas.....	103
Tabla 6.12	Largo de hipocótilo y radícula de <i>Lycopersicum esculentum</i> (Agua desfleada Refinería RIAMA).....	107
Tabla 6.13	Largo de hipocótilo y radícula de <i>Lycopersicum esculentum</i> (Agua desfleada Refinería Madero)	107
Tabla 6.14	Largo de hipocótilo y radícula de <i>Lycopersicum esculentum</i> en el agua tratada...	109
Tabla 6.15	Índice de germinación de <i>Lycopersicum esculentum</i> en el agua tratada.....	109
Tabla 6.16	Características del agua tratada y del agua para reúso.....	110

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág
Figura 2.1	Distribuciones porcentuales del consumo de agua en PEMEX-Refinación...	5
Figura 2.2	Sistema convencional de tratamiento de aguas residuales en refinerías	8
Figura 2.3	Sistema avanzado de tratamiento de aguas residuales en refinerías.....	9
Figura 2.4	Esquema general para el tratamiento de agua amarga.....	10
Figura 3.1	Compuestos fenólicos presentes en aguas residuales de refinerías	18
Figura 3.2	Diagramas Lineweaver-Burk correspondientes a la inhibición reversible.....	24
Figura 3.3	Diagramas Lineweaver-Burk correspondientes a la inhibición mixta.....	25
Figura 4.1	Principio de los Reactores de Biopelícula de Lecho Móvil.....	30
Figura 4.2	a) Reactor de membranas externas b) reactor de membranas internas.....	36
Figura 4.3	Mecanismos de ensuciamiento de membranas. (a) Formación capa de torta (b) taponamiento de poros. (c) Reducción del tamaño de poro.....	39
Figura 4.4	Diagrama esquemático del proceso MBMBR	44
Figura 5.1	Materiales empleados en los reactores MBMBR y MBR.....	52
Figura 5.2	Dispositivos experimentales correspondientes a la primera y segunda etapa de operación en continuo.....	53
Figura 5.3	Esquema de los reactores biológicos sin instrumentación (Etapa 1).....	54
Figura 5.4	Esquema de los reactores biológicos con instrumentación (Etapa 2).....	55
Figura 5.5	Bioensayos de toxicidad a 25 y 100% de agua desflemada.....	58
Figura 6.1	Eficiencia de remoción de DQO, COD y fenol durante el proceso de aclimatación.....	68
Figura 6.2.	(a) Concentración de SST en los reactores SBR y MSBR (b) Comportamiento de la concentración de biomasa adherida con respecto a las cargas orgánicas superficiales.....	70
Figura 6.3	Perfiles de degradación de la DQO para los reactores SBR y MSBR.....	72
Figura 6.4	Perfiles de degradación de fenoles para los reactores SBR y MSBR.....	72
Figura 6.5	Diagrama Lineweaver-Buck para la cinética de degradación en el SBR.....	73
Figura 6.6	Diagrama Lineweaver-Buck para la cinética de degradación en el MSBR.....	74
Figura 6.7	Concentraciones de materia orgánica a la entrada y salida de los reactores (a) DQO y (b) COD.....	79
Figura 6.8	(a) Relación entre la carga orgánica volumétrica vs. el TRH (b) Remoción de materia orgánica vs. carga orgánica aplicada.....	80
Figura 6.9	(a) Concentraciones de fenoles totales a la entrada y salida de los reactores MBMBR y MBR. (b) Concentraciones finales de compuestos fenólicos en el MBMBR y MBR.....	82
Figura 6.10	Cromatograma HPLC del agua desflemada proveniente de la refinería Francisco I. Madero.....	83
Figura 6.11	Cromatogramas HPLC realizados a una muestra de agua tratada en cada uno de los reactores (a) MBMBR (b) MBR.....	84
Figura 6.12	Concentraciones de los compuestos nitrogenados a la entrada y salida del reactor MBMBR.....	86

Figura 6.13	Concentraciones de los compuestos nitrogenados a la entrada y salida del MBR.....	87
Figura 6.14	Distribución de las especies de azufre en función del pH	88
Figura 6.15	Concentraciones de sulfuros en el influente y efluente de los sistemas MBMBR y MBR.....	89
Figura 6.16	Comportamiento del pH y oxígeno disuelto (OD) en los sistemas MBMBR y MBR.....	90
Figura 6.17	Generación de biomasa presente en los sistemas propuestos.....	93
Figura 6.18	Fotografías comparativas del crecimiento de la biopelícula en los soportes....	94
Figura 6.19	Concentración de carbohidratos y proteínas totales en el MBBR.....	95
Figura 6.20	Relación PS/PT con respecto al TRH.....	95
Figura 6.21	Perfiles de la presión transmembrana (PTM) durante la segunda etapa de operación en continuo.....	97
Figura 6.22	Comparación de las concentraciones de SPE solubles en MBMBR y MBR....	99
Figura 6.23	Comparación de las concentraciones de SPE enlazadas a los flóculos en MBMBR y MBR.....	100
Figura 6.24	Micrografías electrónicas de la membrana limpia (a) y de la membrana usada en el MBR (b y c). Membrana usada en el MBMBR (MBMBR) (d y e).....	101
Figura 6.25	Amplificaciones de la secuencia del gen 16S rRNA.....	102
Figura 6.26	Distribución de los grupos encontrados en las diferentes etapas de operación..	104
Figura 6.27	Árbol filogenético obtenido de las secuencias compartidas entre el inóculo y los reactores.....	105
Figura 6.28	Largo de hipocótilo y radícula utilizando agua desflemada de la refinería Ing. Antonio M. Amor	107
Figura 6.29	Largo de hipocótilo y radícula utilizando agua desflemada de la refinería Francisco I. Madero.....	108

LISTA DE ABREVIATURAS Y UNIDADES

AD	Agua desfleada
CB	Carbohidratos
cm	Centímetros
CL ₅₀	Concentración letal al 50%
CO	Carga orgánica
COD	Carbono orgánico disuelto
COV	Carga orgánica volumétrica
d	Días
DAF	Proceso de flotación por aire disuelto (Dissolved air flotation)
DBO	Demanda bioquímica de oxígeno
DGGE	Electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización
DQO	Demanda química de oxígeno
E	Efluente
EPRI	Electric Power Research Institute
ES	Enzima-Sustrato
FCC	Unidades de craqueo catalítico fluidizado
g	Gramos
GyA	Grasas y aceites
h	Horas
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficacia (High performance liquid chromatography)
I	Inhibidor
IVL	Índice volumétrico de lodos
kPa	Kilopascales
K _s	Coefficiente de saturación media de sustrato
L	Litros
MBBR	Reactor de biopelícula de lecho móvil (Moving Bed Biofilm Reactor)
MBR	Reactor biológico con membrana (Membrane Biological Reactor)
MBMBR	Reactor de biopelícula acoplado a membrana de filtración
MEB	(Moving Bed Membrane Bioreactor)
	Microscopio electrónico de barrido
Mm ³	Miles de metros cúbicos
MMm ³	Millones de metros cúbicos
M _R	Media del largo radical de las plantas en contacto con el agua residual

MSBR	Reactor discontinuo de lecho móvil (Moving-bed sequencing batch reactor)
M_T	Media del largo radical de las plantas testigo
Mt	Miles de toneladas
NE	No encontrado
ND	No detectable
NMX	Norma mexicana
NTK	Nitrógeno total kjeldahl
OI	Ósmosis inversa
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PEMEX	Petróleos Mexicanos
PMS	Productos microbianos solubles
PS	Polisacáridos
PT	Proteínas
PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
PTM	Presión transmembrana
PVDF	Fluoruro de polivinilideno
RIAMA	Refinería Ingeniero Antonio M. Amor
S	Sustrato
SBR	Reactor discontinuo secuencial (Sequencing Batch Reactor)
SPE	Sustancias poliméricas extracelulares
SSTLM	Sólidos suspendidos totales en el licor mezclado
SST	Sólidos suspendidos totales
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
SSVLM	Sólidos suspendidos volátiles en el licor mezclado
TRH	Tiempo de residencia hidráulica
UF	Ultrafiltración
UNT	Unidad nefelométrica de turbiedad
UT	Unidad de toxicidad
UV-VIS	Ultravioleta-Visible
V	Volumen
μ	Rapidez específica de crecimiento
μ_m	Rapidez específica máxima de crecimiento
μL	Microlitros
μm	Micrómetros

RESUMEN

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE REFINERÍAS DE PETRÓLEO POR MEDIO DE REACTORES BIOLÓGICOS CON MEMBRANA

Esta investigación se enfoca al tratamiento de aguas residuales de refinerías de petróleo utilizando dos reactores biológicos con membrana. El primero de ellos fue un reactor de biopelícula acoplado a una membrana de filtración (MBMBR, por sus siglas en inglés *Moving Bed Membrane Bioreactor*) y el segundo es un reactor biológico con membrana convencional (MBR, por sus siglas en inglés *Membrane Bioreactor*). El efluente utilizado fue un efluente real, conocido como agua desflemada proveniente de la desorción de aguas amargas. Debido a la diversidad y complejidad de las aguas residuales de refinerías, fue necesario aclimatar los microorganismos utilizando la estrategia de eficiencias fijas para garantizar una buena degradación de los compuestos difícilmente biodegradables o recalcitrantes. Los reactores operaron en discontinuo durante 45 días empleando ciclos de 24 h (llenado, tiempo de reacción, sedimentación, vaciado y tiempo muerto). El desempeño de los reactores discontinuos secuenciales (SBR y MSBR) se evaluó mediante las eficiencias de remoción de DQO, COD y fenoles, obteniendo porcentajes de remoción de 75, 73 y 99% en el reactor SBR, mientras que en el reactor MSBR se alcanzaron porcentajes de remoción de 77, 81 y 99%, respectivamente. En cada reactor se realizaron experimentos para evaluar la capacidad de los microorganismos para degradar el tipo sustrato al que fueron expuestos en un tiempo determinado. Se observó que los sistemas presentaron una inhibición tipo mixta. La operación en continuo de los reactores MBMBR y MBR se realizó en dos etapas y tuvo una duración de 105 días. Las cargas orgánicas volumétricas aplicadas variaron entre 0.73 y 2.10 kg DQO/m³d y los TRH empleados fueron 12, 9 y 6 h. Se observó que a cargas orgánicas bajas (<1 kg DQO/m³d) los dos reactores (MBMBR y MBR) registran una buena remoción de DQO y presentan una operación más estable. Sin embargo, se observó que el sistema MBMBR con respecto al MBR presentó un mejor rendimiento a cargas orgánicas mayores de 2 kg DQO/m³d, alcanzando una remoción del 63% de DQO mientras que en el MBR se logró una remoción del 49%. Las eficiencias de remoción de fenoles fueron del 99% para ambos reactores. Por otro lado, la remoción de nitrógeno total fue más alta en el sistema MBMBR (47%) en comparación con el MBR (< 5%). La concentración de sólidos suspendidos totales en el MBR se registró entre 4.8 y 6 g SSLM/L mientras que en el MBMBR fue de aproximadamente 0.3 g SSLM/L. La relación SSV/SST se mantuvo siempre arriba de 0.8 en ambos reactores. La concentración de biomasa adherida a los soportes Kaldnes K1 osciló entre 5.1 y 8.5 g ST/m². El reactor MBMBR registró una PTM más alta (3.5-6.1 kPa) que el MBR (2.5-5.2 kPa) y esto se atribuye a la alta concentración de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) que ocasionaron una tasa más alta de ensuciamiento de la membrana en el reactor MBMBR.

Palabras clave: Reactores biológicos con membrana, aguas residuales de refinerías, biopelículas

ABSTRACT

OIL REFINERY WASTEWATER TREATMENT USING MEMBRANE BIOREACTORS

This investigation deals with the treatment of oil refinery's wastewater using two membrane bioreactors. The first one was a moving bed membrane bioreactor (MBMBR) and the second was a conventional membrane bioreactor (MBR). The effluent used was a real effluent named stripped sour water from sour water desorption. Due to the diversity and complexity of the refinery wastewater, it was necessary to acclimate the microorganisms using fixed efficiency strategy to ensure a good degradation of the poorly biodegradable or recalcitrant compounds. The reactors were operated in batch for 45 days using 24 h cycles (filling, reaction time, settle, draw and idle). The performance of the sequencing batch reactors (SBR and MSBR) was assessed by the efficiency of COD removal, DOC and phenols content, obtaining final removal percentages of 75, 73 and 99% in the SBR, while that MSBR reached removal percentages of 77, 81 and 99%, respectively. In each reactor experiments were carried out in order to evaluate the ability of microorganisms to degrade type substrate to which they were exposed in a given time. It was observed that the systems presented a inhibition mixed type. The continuous operation of the MBMBR and MBR reactors was conducted in two stages for 105 days. The volumetric organic loading applied to both reactors ranged between 0.73 and 2.10 kg COD/m³d and the HRT was 12, 9 and 6 h. It was observed to low organic loading (< 1 kg COD/m³d) both reactors showed good removal of COD and a operation more stable. However, it was observed that the MBMBR in comparison with MBR showed a better performance to organic loading above 2 kg DQO/m³d, achieved removal 63% of DQO while that in MBR it was achieved of 49%. The removal efficiencies of phenols were of 99 % for both reactors. On the other hand, the removal of total nitrogen was more high in the MBMBR (47%) in comparison with the MBR (< 5%). The total suspended solids concentration in MBR was between 4.8 and 6 g MLSS/L while in the MBMBR was 0.3 g MLSS/L approximately. The VSS/TSS ratio was above of 0.8 for both reactors. The concentrations of biomass attached to Kaldnes K1 media ranging from 5.1 to 8.5 g/m². The MBMBR reactor showed a TPM more high (3.5-6.1 kPa) that the MBR system (2.5-5.2 kPa) due to the high concentration of extracellular polymeric substances (EPS) that led a high rate of fouling in the MBMBR.

Keywords: Membrane bioreactors, oil refinery wastewater, biofilms.

1. INTRODUCCIÓN

En las industrias de refinación de petróleo se emplean cantidades considerables de agua cruda lo que ocasiona que se generen grandes volúmenes de agua residual por tonelada de crudo procesado. Las aguas residuales de refinerías, principalmente las que provienen de los procesos de craqueo catalítico e hidrot ratamiento, se destacan por presentar una matriz de contaminantes con altas cantidades de compuestos tóxicos, tales como: fenoles, nitrógeno amoniacal, grasas y aceites, cianuros, sulfuros e hidrocarburos aromáticos, los cuales al no ser tratados adecuadamente pueden provocar serios impactos ambientales (Dold, 1989; Al Zarooni y Elshorbagy, 2006; Coelho *et al.* 2006; Viero *et al.*, 2008;).

En la actualidad, uno de los objetivos de las industrias de refinación de petróleo es reducir la cantidad de agua fresca que se utiliza durante el proceso procurando implementar plantas compactas y eficientes para el tratamiento de aguas residuales que logren eliminar efectivamente los contaminantes y donde se obtenga un efluente de buena calidad el cual cumpla con los requerimientos para su reúso (Gasim *et al.*, 2012; Pombo *et al.*, 2013).

Para remover los contaminantes presentes en este tipo de aguas residuales industriales se han desarrollado y perfeccionado numerosas tecnologías que comprenden el uso de tratamientos biológicos y/o procesos fisico-químicos (Ayati *et al.*, 2007; Diya'uddeen *et al.*, 2011, Ishak *et al.*, 2012). Los procesos biológicos tales como el sistema de lodos activados, lagunas de aireación y biodiscos, son los más empleados debido a su aplicación a gran escala, fácil operación, mejor control de variables y porque representan menores costos con respecto a los tratamientos fisicoquímicos (Jou y Huang, 2003). Sin embargo, la selección de la mejor tecnología para el tratamiento del agua residual dentro de una refinería depende de sus características, de la configuración del proceso que se maneje, de los costos de operación y del destino final que se quiera dar al efluente.

Dependiendo de la forma de aglomeración microbiana que se utilice, los procesos biológicos se pueden clasificar en dos tipos: sistemas de biomasa en suspensión y sistema de biomasa adherida (biopelículas). En los reactores con biomasa en suspensión los microorganismos se asocian en flóculos, los cuales están suspendidos en el líquido gracias al mezclado. Los flóculos presentan un área superficial alta, que permite una buena penetración de nutrientes y oxígeno. Por otro lado, en los reactores con biomasa adherida (biopelículas) los microorganismos crecen adheridos a la superficie de un material inerte (sintético o natural) mediante la producción de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) que actúan como adhesivo y permiten el crecimiento de la biopelícula. Estos sistemas han demostrado su eficiencia y flexibilidad en el tratamiento de aguas residuales con cargas orgánicas altas debido a que presentan una elevada actividad metabólica atribuida a la alta concentración de nutrientes adheridos a la biopelícula y además porque presentan tasas de nitrificación y desnitrificación más altas que los reactores de biomasa suspendida debido a la coexistencia de zonas anóxicas y aerobias dentro del mismo reactor (Cohen, 2001; Ødegaard *et al.*, 1994).

Sin embargo, como toda tecnología, los tratamientos biológicos convencionales presentan algunas desventajas cuando se usan aguas residuales industriales que presentan una matriz compleja de contaminantes, como es el caso de las aguas residuales de refinería. Los sistemas convencionales pueden presentar poca estabilidad y una tasa de biodegradación baja cuando en el influente hay presencia de altas concentraciones de compuestos tóxicos que pueden alterar la actividad de los microorganismos causando inhibición y afectando el desempeño de los reactores biológicos (Marrot *et al.*, 2006; Ishka *et al.*, 2012) dando como resultado un efluente de baja calidad que no puede ser vertido directamente a los cuerpos receptores o ser reutilizado en otros procesos dentro de las refinerías.

Para evitar estos problemas, los trabajos de investigación en este campo han sido dirigidos a perfeccionar y desarrollar nuevos sistemas de tratamiento biológico que logren altas remociones de materia orgánica y compuestos tóxicos en un menor tiempo sin afectar la estabilidad de los reactores. Dentro de las nuevas tecnologías se encuentran los reactores biológicos con membrana (MBR, por sus siglas en inglés *Membrane Bioreactor*) con el desarrollo de biomasa en suspensión y el diseño de sistemas de biomasa adherida como los reactores de biopelícula de lecho móvil (MBBR, por sus siglas en inglés *Moving Bed Biofilm Reactor*). Estos reactores se caracterizan por ser más compactos y robustos que los sistemas convencionales y pueden ser combinados entre sí, dando lugar a los sistemas híbridos para obtener mejores resultados.

Este trabajo propone evaluar el funcionamiento de un reactor biológico híbrido conocido como MBMBR (por sus siglas en inglés *Moving Bed Membrane Bioreactor*), el cual toma las ventajas de un reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR) con las de un reactor biológico con membranas (MBR), durante la degradación de los compuestos tóxicos presentes en un tipo de agua residual de refinerías de petróleo conocida como ***agua desflepada***. Con el sistema propuesto, también se pretende determinar si existen o no diferencias entre la concentración de biomasa, la comunidad microbiana, las características

de lodos y el ensuciamiento de la membrana comparado con un reactor biológico con membrana convencional (MBR).

Actualmente, existe una amplia bibliografía que reporta el uso de procesos biológicos para el tratamiento de aguas residuales provenientes de refinerías de petróleo, pero la mayoría de esas investigaciones se han centrado únicamente en resultados obtenidos con aguas residuales sintéticas simulando las características fisicoquímicas de este tipo de efluentes. Además, pocos estudios han operado reactores biológicos alimentados con efluentes industriales reales durante períodos largos. La elección del agua desflemada como efluente de estudio se debe a que los contaminantes tóxicos que contiene no son extraídos en su totalidad durante el proceso de desorción al que es sometida siendo necesario incluir un tratamiento efectivo para eliminar dichos contaminantes y de esta forma reducir el impacto ambiental en las corrientes de desecho. Con respecto al uso de los sistemas MBMBR, la información registrada es muy escasa y en su gran mayoría sólo es para el tratamiento de efluentes domésticos (Leiknes y Ødegaard, 2007; Lee *et al.*, 2001, 2006; Soombatsompop *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2009; Phattaranawik y Leiknes, 2010; Sun *et al.*, 2010; Ivanovic y Leiknes, 2012) y ninguno para aguas residuales generadas en refinerías de petróleo. Por tal motivo, este trabajo garantiza una investigación tecnológica con aplicación directa a la industria del petróleo que pueda aportar soluciones al desempeño de los reactores biológicos y también a la sustentabilidad ambiental y económica en este campo.

1.1 Hipótesis

La presencia del empaque en un reactor biológico híbrido (MBMBR) provocará diferencias en la concentración de biomasa, comunidad microbiana, sedimentabilidad de lodos y ensuciamiento de la membrana de filtración, con respecto un reactor biológico con membrana (MBR) en el tratamiento de aguas residuales de refinerías de petróleo mejorando la eficiencia de remoción de contaminantes con relación con el MBR convencional.

1.2 Objetivos

OBJETIVO GENERAL

Evaluar y comparar el desempeño de un reactor biológico híbrido (MBMBR) con el de un reactor biológico con membrana convencional (MBR), durante la remoción de los contaminantes presentes en aguas residuales reales de refinerías.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

- Evaluar la eficiencia de depuración de un consorcio microbiano mixto aclimatado para la degradación de contaminantes principales como los fenoles y el nitrógeno amoniacal en las aguas desflemadas.

- Evaluar la influencia del tiempo de residencia hidráulica (TRH) sobre la remoción de los contaminantes (materia orgánica, fenol, nitrógeno amoniacal y sulfuros) en cada uno de los sistemas, y determinar las mejores condiciones de operación del proceso.
- Identificar y comparar si existen diferencias entre las comunidades microbianas presentes en cada sistema por medio de la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), clonación y secuenciación.
- Determinar las características de la biomasa en cada reactor, considerando la concentración de sólidos suspendidos (SST), el contenido de proteínas y carbohidratos en el licor mezclado y el índice volumétrico de lodos (IVL).
- Analizar la influencia que tiene el uso soportes biológicos sobre la remoción de contaminantes y en el ensuciamiento de la membrana.

1.3 Alcances

1. Establecer la caracterización de aguas desfleadas provenientes del proceso de desorción de aguas amargas obtenidas de dos refinerías mexicanas: Refinería Ing. Antonio M. Amor (RIAMA) y Refinería Francisco A. Madero..
2. Obtener un consorcio microbiano mixto capaz de degradar los contaminantes presentes en el agua desfleada.
3. Construir y operar un reactor biológico híbrido que combine un reactor de biopelícula de lecho móvil con una membrana de filtración (MBMBR) y un reactor biológico con membrana convencional (MBR) a escala de banco de laboratorio para el tratamiento del efluente proveniente de la desorción de aguas amargas.
4. Realizar pruebas en los dos sistemas en discontinuo y en continuo con tres diferentes tiempos de residencia hidráulica.

2. AGUAS RESIDUALES DE REFINERÍAS DE PETRÓLEO

La industria de refinación de petróleo consume grandes volúmenes de agua cruda (Mm^3/d) para poder llevar a cabo el proceso de transformación del petróleo.

El índice de consumo de agua en las refinerías de petróleo mundialmente se sitúa entre 0.7 y 1.2 m^3 de agua por m^3 de petróleo procesado, siendo el promedio en una refinería típica de 1 m^3 de agua por 1 m^3 de petróleo procesado (Ulson de Souza *et al.*, 2009). Dicho consumo es utilizado en su mayoría por las torres de enfriamiento y sistemas de generación de vapor que representan entre el 40 – 45% cada uno. Los otros usos del agua que equivalen al 10 - 20% restante corresponden a las unidades de proceso, sistemas contraincendios y agua potable (Pombo *et al.*, 2013). La distribución porcentual del consumo del agua en las refinerías mexicanas se observa en la figura 2.1.

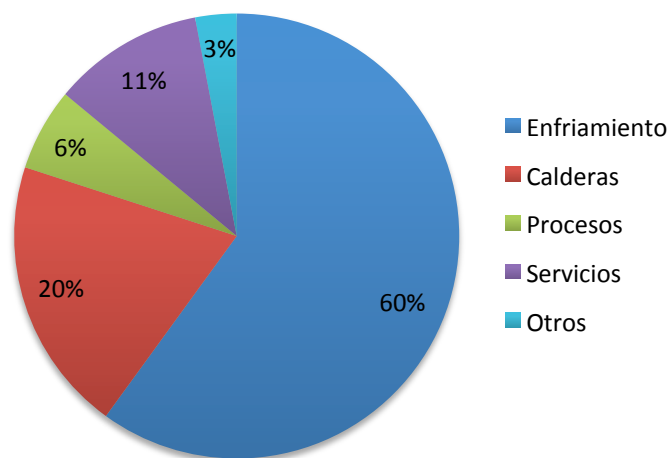


Figura 2.1 Distribuciones porcentuales del consumo de agua en PEMEX-Refinación
(Fuente: Adaptado de Seminario de Efluentes, Facultad de Química, UNAM, 2009)

En México, cerca del 80% de agua fresca que consumen las refinerías de petróleo provienen de fuentes superficiales y subterráneas y el otro 20% del reúso del agua industrial (PEMEX, 2011). Según un compendio de estadísticas ambientales, el promedio del consumo de agua en PEMEX Refinación entre los años 1999 y 2007 fue de 121 millones de metros cúbicos (MMm³), lo que representa un índice de consumo alrededor de 1.85 m³ de agua por tonelada de crudo procesado (SEMARNAT, 2009).

Con estas cifras, se observa que las industrias de refinación de petróleo emplean cantidades enormes de agua cruda lo que ocasiona que se generen volúmenes grandes de agua residual que contiene una serie de contaminantes orgánicos e inorgánicos, los cuales al no ser tratados adecuadamente pueden provocar daños a ciertos ambientes terrestres o acuáticos debido a la toxicidad causada por las interacciones entre los mismos compuestos (Wake, 2005; Alva-Argáez *et al.*, 2007).

La composición de las aguas residuales de refinerías de petróleo varía ampliamente según el tipo de petróleo procesado, las unidades de tratamiento y la forma de operación. Generalmente, el volumen de agua residual producida es relativamente proporcional a la cantidad de petróleo refinado. Algunas investigaciones, reportan que durante el proceso de separación, conversión y tratamiento inherente a la refinación del petróleo se utilizan entre 246 y 340 litros de agua por barril de crudo procesado generando una cantidad de agua residual entre 0.4 y 1.6 veces el volumen del crudo procesado (Coelho *et al.*, 2006; Alva-Argáez *et al.*, 2007). Con base en el rendimiento actual, Diya'uddeen *et al.* (2011) mencionan que con una producción de 84 millones de barriles por día (mbpd) de petróleo se generan 33.6 mbpd de efluentes a nivel mundial y estiman que para el año 2030 la producción crecerá en 107 mdpd y por lo tanto el volumen de efluentes generados aumentará.

Las refinerías de petróleo disponen de un sistema complejo de captación, tratamiento, almacenamiento y transporte de aguas residuales, las cuales se pueden clasificar en 4 grupos principales:

- **Aguas de drenaje:** Provenientes de fugas, derrames y cualquier efluente recolectado en los canales de drenaje.
- **Aguas de enfriamiento:** Representan la mayor cantidad, debido a las altas temperaturas utilizadas en la etapa de refinación. Presentan una menor cantidad de contaminantes debido a que no entran en contacto directo con el crudo.
- **Aguas de proceso:** Originadas en las etapas de desalación del crudo, plantas catalíticas, hidrosulfuración, unidades de desorción, etc. Presentan una alta concentración de contaminantes porque están en contacto directo con el crudo.
- **Aguas residuales de tipo sanitario.** Provenientes de los baños y demás instalaciones sanitarias.

Como se observa en la tabla 2.1, dependiendo del proceso del cual provenga el efluente producido, éste se constituye de diversas sustancias químicas entre las que se encuentran

grasas y aceites, fenoles, hidrocarburos, sulfuros, sulfatos, cianuros, compuestos nitrogenados, sólidos suspendidos y metales pesados (Dold, 1989; Wake, 2005; Al Zarooni y Elshorbagy, 2006; Ishka *et al.*, 2012).

Tabla 2.1 Contaminantes en las diferentes unidades de refinación del petróleo

Unidades	Contaminantes en aguas residuales
Desalación del crudo	Aceite libre, amoniac, sulfuros, sólidos suspendidos
Destilación	Sulfuros, amoniac, fenoles, grasas, cloruros, mercaptanos
Craqueo térmico	H ₂ S, amoniac, fenoles
Craqueo catalítico	Grasas, sulfuros, fenoles, cianuros, amoniac
Hidrocraqueo	Sulfuros, fenoles, amoniac
Polimerización	Sulfuros, mercaptanos, amoniac
Alquilación	Sosa cáustica, grasas, sulfuros, sólidos suspendidos
Isomerización	Fenoles
Reforma catalítica	Sulfuros, amoniac, mercaptanos y grasas
Hidrotratamiento	Amoniac, sulfuros, fenol

(Fuente: Adaptado de Alva-Argáez et al., 2007)

En la tabla 2.2, se reportan las concentraciones de los principales contaminantes presentes en aguas residuales de refinería.

Tabla 2.2 Concentración de contaminantes en aguas residuales de refinerías

Parámetro	Niveles
Demanda bioquímica de oxígeno (DBO ₅) (mg/L)	150-350
Demanda química de oxígeno (DQO) (mg/L)	300-1000
pH	7-10
Fenoles (mg/L)	20-200
Grasas y Aceites (mg/L)	< 3000
Sólidos suspendidos totales (mg/L)	> 100
Hidrocarburos (mg/L)	23-200
Cloruros (mg/L)	19-1080
Turbiedad (UNT)	10 -159
Metales pesados (mg/L)	0.1-100 (Cromo) 0.2 -10 (Plomo)

(Fuente: Adaptado de Dold, 1989; Al Zarooni y Elshorbagy, 2006; Ishka et al., 2012)

Por tal motivo, es necesario conocer las características fisicoquímicas de todos los compuestos presentes en el agua residual y contar con un apropiado sistema de tratamiento para que estos compuestos sean eliminados sin importar la complejidad del proceso del que provengan (Berné y Cordonier, 1995). Sin embargo, la selección de la mejor tecnología para el tratamiento del agua residual dentro de una refinería depende principalmente del espacio requerido, de los costos de operación y del cumplimiento de las normas exigidas por los órganos de control ambiental.

Existen dos sistemas para el tratamiento de las corrientes de aguas residuales de refinería:

- 1) *Las plantas de desorción de aguas amargas*: son empleadas para el tratamiento de aguas de proceso conocidas como aguas amargas y obtenidas principalmente de las torres de craqueo catalítico e hidrot ratamiento. Estas aguas contienen una alta concentración de ácido sulfhídrico (H_2S) y amoníaco (NH_3). Esta corriente presenta generalmente un carácter básico, con un pH aproximado de 9, olor característico y carácter corrosivo, como se detallará más adelante.
- 2) *La planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR)*, en donde son tratados los demás efluentes obtenidos en las distintas etapas de operación.

La planta de tratamiento de aguas residuales dentro de una refinería está compuesta principalmente por un tratamiento preliminar, primario y secundario (Figura 2.2). En los últimos años, algunas refinerías están implementando tratamientos terciarios para mejorar la calidad final del efluente y cumplir con los requisitos de descarga exigidos por la normativa o para su reúso (Figura 2.3).

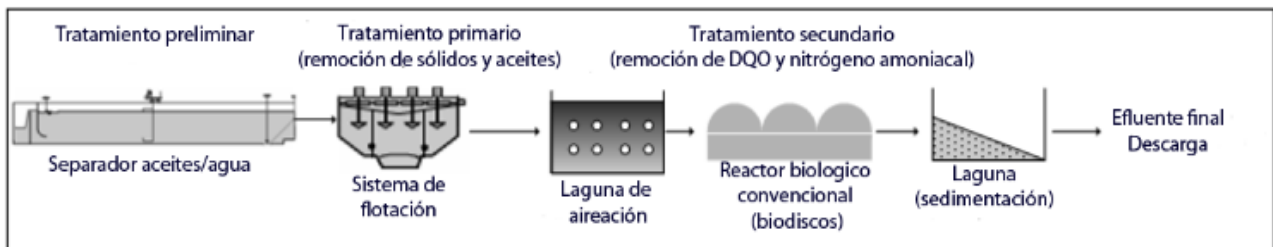


Figura 2.2 Sistema convencional de tratamiento de aguas residuales en refinerías
(Fuente: Modificado de Torres et al., 2008)

Tanto el tratamiento preliminar como el tratamiento primario están destinados a igualar las características del efluente, ajuste del pH, remoción de sólidos en suspensión y material graso. El tratamiento preliminar emplea separadores API para la remoción de materiales menos densos que el agua, como aceites flotables, grasas, sólidos en suspensión e hidrocarburos. La fracción aceitosa removida se retorna a la unidad de destilación básica y los sólidos son transportados a un colector de lodo. El tratamiento primario se basa en el uso de métodos físicos o químicos para separar el aceite emulsificado que queda en el efluente (Pombo et al., 2013). Los métodos físicos más usados son el proceso de flotación con aire disuelto (DAF) en donde se remueve la mayor cantidad de partículas en suspensión y/o flotantes del medio líquido. Los métodos químicos emplean coagulantes, como cloruro férrico o sulfato de aluminio para retirar las impurezas en forma de espuma o de lodos. También, se emplea la floculación mediante la adición de polímeros que promueven la aglomeración de las sustancias coloidales presentes en el agua facilitando su decantación. Un estudio realizado en una refinería mexicana reporta que la concentración promedio de grasas y aceites en el efluente al final del tratamiento primario es de 4,425 mg/L (Mijaylova et al., 2004; apud Lazcano, 2010).

Por otro lado, el tratamiento secundario es realizado por procesos biológicos principalmente lagunas de aireación, sistema de lodos activados y biodiscos. En esta etapa se depende de la acción de los microorganismos y su reproducción para eliminar contaminantes específicos como fenoles, nitrógeno amoniacal y sulfuros.

Como se mencionó anteriormente, los tratamientos terciarios están destinados a remover los contaminantes recalcitrantes o refractarios que permanecen después del tratamiento secundario y que en la mayoría de los casos permiten disponer del efluente para su reúso. En esta etapa es común la aplicación de tratamientos más avanzados como adsorción por carbón activado, electrocoagulación, membranas, fotocátalisis, osmosis inversa, oxidación química, entre otros (Teodosiu *et al.*, 1999; Diya'uddeen *et al.*, 2011; Pombo *et al.*, 2013).

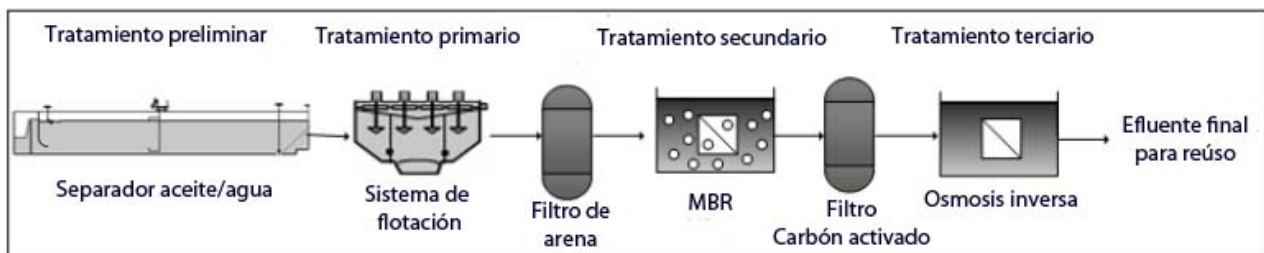


Figura 2.3 Sistema avanzado de tratamiento de aguas residuales en refinerías
(Fuente: Modificado de Torres *et al.*, 2008)

En las refinerías mexicanas el tratamiento de las aguas residuales se basa en la separación de grasas y aceites en los separadores API, para luego ser enviadas a un tren de lagunas (homogenización, oxidación y estabilización), en donde el efluente permanece durante un tiempo variable en función de la carga aplicada y las condiciones climáticas (Lazcano, 2010). Las eficiencias de remoción del proceso de lagunas son DQO del 65-80%, DBO del 50-95% y SST entre el 80-90% (Von Sperling, 2002). Según el Informe de responsabilidad social de PEMEX del año 2011 (PEMEX; 2011), la descarga de aguas residuales en las plantas de refinación fue de 44.2 MMm³ que corresponde a una carga de contaminantes de 1.62 Mt para ese año.

2.1 Aguas desflemadas

Las aguas amargas son aguas de proceso específicamente de refinerías de petróleo que tienen que ser tratadas directamente en las unidades en las que son generadas debido a que son altamente nocivas, representando altos costos de operación y mantenimiento.

La cantidad de agua amarga generada depende de muchos factores, principalmente de la configuración del proceso y las características del crudo procesado. Coelho *et al.*, 2006, mencionan que la producción de agua amarga varía entre 0.2 y 0.5 m³/ton de crudo procesado, representando entre el 10 y 30% de la generación de efluentes totales de una refinería.

Las aguas amargas se caracterizan por contener altas concentraciones de sulfuro de hidrógeno (300-1200 mg/L), amoníaco (100-8000 mg/L), fenoles (100-900 mg/L), y en menor cantidad ácidos orgánicos solubles, cianuros, cloruros, grasas y aceites, entre otros; son aguas tóxicas con un pH que varía entre 8 y 10 unidades. Proviene en su mayoría de las unidades de craqueo catalítico fluidizado (FCC), de las columnas de destilación atmosférica, de las torres de destilación al vacío y de las unidades de hidrodesulfuración (HDS) (USEPA, 1995; Amstrong *et al.*, 1996; Coelho *et al.*, 2006).

Las **aguas desfleadas** son el efluente obtenido durante el proceso de desorción al que son sometidas las aguas amargas para extraer principalmente el sulfuro de hidrógeno (H_2S) y el amoníaco (NH_3) que éstas contienen.

El proceso de desorción consiste en enviar las aguas amargas una torre agotadora en donde es alimentada por el domo de la torre y entra en contacto con el vapor que es suministrado por el fondo de la misma con ayuda de un rehervidor ($T \approx 60^\circ C$) (Figura 2.4). Las aguas amargas alcanzan su punto de ebullición a condiciones de baja presión lo que permite que el H_2S , el NH_3 y el vapor se eleven por la torre hasta la sección de condensación. Los gases fluyen a presión controlada y son llevados a la unidad de recuperación de azufre. El agua libre de H_2S y NH_3 se recolecta en el fondo de la torre y es enfriada para ser reutilizada o descargada (Lazcano, 2010).

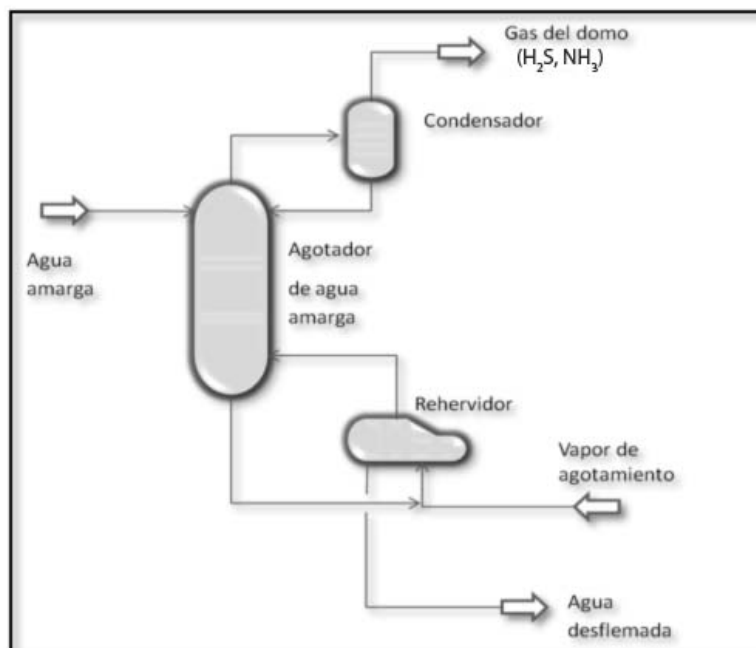


Figura 2.4 Esquema general para el tratamiento de agua amarga
(Fuente: Modificado de Hernández, 2010)

A pesar del proceso de desorción al que son sometidas, las aguas desfleadas se caracterizan por contener cantidades considerables de materia orgánica, compuestos

fenólicos y material nitrogenado. Algunos estudios reportan las concentraciones de los contaminantes de aguas desflemaadas provenientes de diferentes refinerías de PEMEX (Tabla 2.3).

Tabla 2.3 Caracterización de agua desflemaada

Parámetro	Unidad	Refinería de Tula		Distintas Refinerías de PEMEX *				
		Hernández, 2010	Lazcano, 2010	García, 2008				
				R. 1	R. 2	R. 3	R. 4	R.5
pH	U. pH	8	8.3	8.4	5.4	7.6	9.8	10.1
DBO	mg/L	200	---	---	---	---	---	---
DQO	mg/L	1,200	718	433	120	332	244	2593
COT	mg/L	220	126	---	---	---	---	--
Sulfuros	mg/L	320	0.04	0.04	0.05	0.6	0.02	110.7
N-NH₃	mg/L	515	40	39.4	4.0	12.7	341.3	29.3
Fenol	mg/L	30	201.3	75.5	0.6	64.4	12.3	1.1

(* El autor nombró de forma aleatoria las muestras provenientes de las distintas Refinerías de México)

Se observa que las características fisicoquímicas de las aguas desflemaadas son muy variables. A pesar de esto, en algunas refinerías de petróleo las aguas desflemaadas son reutilizadas en el proceso de desalación del crudo, sin embargo un volumen significativo de este efluente no es reutilizado por su alto contenido de contaminantes (Coelho *et al.*, 2006) y es enviado a la planta de tratamiento de aguas residuales de la refinería ocasionando problemas a la actividad enzimática de los microorganismos; por tal motivo, es necesario implementar otras tecnologías más eficientes que permitan un mejor tratamiento y reduzcan la toxicidad de este efluente.

2.2 Reúso del agua

El término “*fin de tubo*” hace referencia a los procesos industriales que poseen un control de efluentes hasta el final del proceso. Esta definición se originó cuando no había preocupación con la escasez del agua y el control ambiental sobre las industrias era muy pequeño o inexistente.

En la actualidad, los altos costos del agua industrial, asociados a las demandas crecientes, han llevado a las industrias a abandonar el concepto de fin de tubo, evaluando posibilidades internas del reúso del agua y considerando ofertas de otros sectores para la compra de efluentes tratados a precios inferiores a los que ofrecen los sistemas públicos de abastecimiento de agua. En este sentido, el reúso de agua surge como una alternativa capaz de perfeccionar la eficiencia de la gestión del agua, proporcionando la disminución de consumo, la disminución de los efluentes generados y contribuyendo a la preservación de los recursos hídricos.

Además, las normas ambientales y requisitos de calidad de los efluentes son cada vez más estrictos y hacen que las industrias, en este caso las petroleras, reevalúen sus sistemas de

tratamiento de aguas residuales procurando implementar tecnologías menos contaminantes que utilicen cantidades menores de agua y que puedan reutilizar el efluente en diferentes procesos. En el 2008, PEMEX Refinación reportó un consumo de agua fresca en sus seis refinerías equivalente a 188 Mm³ y para el año 2011, dicho consumo fue de aproximadamente 177.1 Mm³, lo que se traduce a una disminución del 5.8% del uso de este insumo debido al reúso interno del agua tratada (PEMEX, 2011).

El agua de reúso debe cumplir ciertas características para que no de origen a fenómenos de corrosión (debido a una conductividad alta por la presencia de sulfatos, cloruros o variaciones en la alcalinidad y pH), a incrustaciones (debido a la presencia de sólidos suspendidos) o a la formación de biopelículas (por la presencia de materia orgánica) en los procesos en que se utilizan. Por lo tanto, es fundamental y necesario caracterizar los efluentes generados y establecer los criterios de calidad del agua en los distintos procesos para poder identificar las posibilidades de reúso (Oenning y Pawlowsky, 2007).

En las torres de enfriamiento, el agua de reúso constituye una opción importante debido a que se estima que el mayor consumo de agua se lleva a cabo en este proceso (Pombo *et al.*, 2013). En la tabla 2.4 se presentan las concentraciones necesarias para el agua de reúso en las torres de enfriamiento reportadas en la literatura.

Tabla 2.4 Valores de calidad del agua de reúso para las torres de enfriamiento

Parámetro	Unidad	Mancuso y Santos, 2003	EPRI*	USEPA*	PEMEX**
pH		6-9	6-8	6-9	NE
Turbidez	UNT	< 50	40	< 3	NE
DQO	mg/L	< 75	< 100	< 75	< 100
DBO	mg/L	< 25	< 100	< 30	< 20
N-NH ₃	mg/L	< 1.0	< 2	NE	NE
Fosfatos	mg/L	< 4	18	NE	NE
Cloruros	mg/L	< 500	600	NE	NE
Sulfatos	mg/L	< 200	< 250	NE	NE
SDT	mg/L	< 500	1500	< 500	NE
SST	mg/L	< 100	< 100	< 30	< 5
Alcalinidad	mg CaCO ₃ /L	< 350	618	NE	< 240
Dureza	mg CaCO ₃ /L	< 650	300	50 -180	< 450
Sílice	mg/L	< 50	< 150	NE	< 60
Compuestos orgánicos	mg/L	< 0.1	1	NE	NE
Calcio	mg/L	< 50	< 900	NE	NE
Hierro	mg/L	< 0.5	< 0.5	NE	NE

(NE): Valor no encontrado

* Límites recomendados de calidad de agua de enfriamiento de acuerdo a EPRI (Electric Power Research Institute) y USEPA (United States Environmental Protection Agency).

** En PEMEX los parámetros de calidad más importantes para considerar un agua de reúso son la dureza, sílice, conductividad, SST y alcalinidad.

Además, el agua de reúso es una alternativa viable en la alimentación de calderas, lavado de piezas, equipos, pisos y vehículos; sin embargo, los criterios de calidad de agua en estas etapas son más estrictos que los requeridos en las torres de enfriamiento.

PEMEX realizó un proyecto de reúso de efluentes para alimentar las torres de enfriamiento en la Refinería Lázaro Cárdenas, Minatitlán, Veracruz, que tiene una capacidad de procesamiento de 170.000 barriles de petróleo/día. El sistema propuesto fue la implementación de un tratamiento terciario que consistió en un proceso de ultrafiltración (UF, membrana de fibra hueca) seguido por osmosis inversa (OI). Se lograron remociones satisfactorias de DBO, DQO, SST y grasas y aceites. El efluente obtenido fue de alta calidad y cumplió con los criterios exigidos para alimentar las torres de enfriamiento. La eficiencia del reúso del agua fue del 70 % dentro de la refinería (Peeters y Theodoulou, 2005).

La Tabla 2.5 muestra los datos del desempeño del tratamiento terciario implementado en la Refinería Lázaro Cárdenas.

Tabla 2.5 Desempeño del sistema terciario en la Refinería Lázaro Cárdenas

Parámetro	Concentración efluente UF (mg/L)	Concentración efluente OI (mg/L)
DBO	50	< 5
DQO	80.1	< 36
Grasas y aceites	1.6	< 0.2
SST	200	< 1
Turbiedad	25*	< 0.1*

Fuente: Peeters y Theodoulou, 2005

** UNT*

3. TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS RESIDUALES

Los procesos biológicos tales como el sistema de lodos activados, lagunas de aireación y filtros percoladores, son los más empleados para el tratamiento de aguas residuales industriales debido a su aplicación a gran escala, fácil operación, mejor control de variables y porque representan menores costos con respecto a los tratamientos fisicoquímicos (Jou y Huang, 2003; Hosseini Koupaie *et al.*, 2011; Shariati *et al.*, 2011; Ishka *et al.*, 2012). El objetivo de los tratamientos biológicos es emplear microorganismos para transformar la materia orgánica u otros constituyentes en productos finales simples (CO_2 , H_2O y CH_4) bajo condiciones aerobias, anóxicas y/o anaerobias (Ishka *et al.*, 2012); estos tratamientos se han usado satisfactoriamente para mineralizar varios compuestos tóxicos o inhibitorios, como lo son los compuestos fenólicos, BTEX, ácidos benzoicos sustituidos, quinolina, entre otros (Bajaj *et al.*, 2008).

Según la forma de aglomeración microbiana que se utilice, los procesos biológicos se pueden clasificar en dos tipos: sistemas de biomasa en suspensión y sistemas de biomasa adherida (biopelículas).

3.1 Reactores con biomasa en suspensión

En los reactores con biomasa en suspensión los microorganismos se asocian en flóculos, los cuales están suspendidos en el líquido gracias al mezclado o a la aireación. Los flóculos no tienen ninguna estructura de sustentación y presentan un área superficial alta, que permite una buena penetración de nutrientes y oxígeno. Un ejemplo claro de este tipo de reactores es el conocido sistema de lodos activados, compuesto por un tanque de aireación seguido de un sedimentador, el lodo separado es recirculado casi en su totalidad al tanque de aireación para aumentar la concentración de biomasa y proporcionar una mejor reducción de la materia orgánica del influente (Metcalf y Eddy, 2003). Otro ejemplo, son los reactores discontinuos secuenciales (SBR, por sus siglas en inglés *Sequencing Batch Reactor*) que

emplean un consorcio de microorganismos en suspensión utilizando ciclos de llenado y vaciado en un solo tanque. Los SBR operan bajo cinco etapas de operación: llenado, reacción, sedimentación, vaciado y tiempo muerto (Moreno-Andrade y Buitrón 2012). Estos reactores han demostrado altas eficiencias de remoción de contaminantes y flexibilidad de operación en el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales (Mahvi, 2008; Moussavi *et al.*, 2009). Algunos estudios reportan el uso de los SBR para el tratamiento de aguas residuales de refinerías.

Hudson *et al.* (2001) emplearon la tecnología SBR como tratamiento secundario después de las lagunas de estabilización en una refinería de petróleo en Australia. El SBR operó a un TRH de 36 h y a un tiempo de retención celular (TRC) de 40 días, alcanzando concentraciones finales de DQO entre el intervalo de 50 y 150 mg/L.

Silva *et al.* (2002) investigaron la degradación de fenol y nitrógeno amoniacal de un efluente sintético el cual simulaba las características de las aguas residuales de refinerías por medio de un SBR operado a ciclos de 360 minutos. Las concentraciones iniciales de fenol variaron entre 10 y 100 mg/L y las de nitrógeno amoniacal entre 2 y 16 mg/L. Se lograron remociones del 95% de N-NH₃ y del 99% de fenol.

Lee *et al.* (2004) usaron un SBR de dos etapas para el tratamiento de un agua residual de refinería que contenía alta concentración de materia orgánica (1722-7826 mg DQO/L) y de grasas y aceites (5365-13350 mg/L). Contaron con un período de aclimatación de lodos de 12 días. Los autores reportaron concentraciones finales de DQO de 97±16 mg/L y los niveles de grasas y aceites fueron insignificantes a la salida de los reactores.

Ishak (2012) menciona un estudio realizado por Nakla *et al.* (1993) usando un SBR para el tratamiento de aguas sintéticas que contenían compuestos aromáticos como fenol (0.1-0.8 kg/m³d) y o-cresol (0.1-0.6 kg/m³d) y lograron remociones del 99% y 94%, respectivamente. Los autores reportan que la presencia de estos compuestos tóxicos no afectó la biodegradación del sistema (DBO₅/DQO) alcanzando concentraciones de DBO₅ inferiores a 5 mg/L, SST de 12 mg/L y un índice volumétrico de lodos de 80 mg/L.

Sin embargo, como toda tecnología, los reactores con biomasa suspendida presentan ciertas desventajas. Se ha demostrado que tienen únicamente la capacidad de remover materia orgánica de fácil a mediana degradación y el sistema presenta poca estabilidad cuando en el influente hay presencia de compuestos recalcitrantes, los cuales no son removidos en su totalidad, por lo que se obtiene un efluente de baja calidad (Izanloo *et al.*, 2006; Hosseini Koupaie *et al.*, 2011). Algunos estudios reportados para el tratamiento de aguas residuales industriales que presentan una matriz compleja de contaminantes, como es el caso de las aguas residuales de refinería, muestran que cuando las concentraciones de los compuestos tóxicos son altas (ejemplo: concentraciones de fenol superiores a 400 mg/L) influyen en la actividad de los microorganismos, causando inhibición y afectando el desempeño de los reactores debido a que se presenta una baja tasa de biodegradación y en muchos casos una mala sedimentabilidad de lodos (Uygun y Fikret, 2004; Leong *et al.*, 2011) causada por la

presencia excesiva de bacterias filamentosas, como consecuencia de niveles bajos de oxígeno disuelto y pH, deficiencia de nutrientes, variaciones de temperatura, tiempos de retención celular altos y relaciones bajas de A/M (alimento/microorganismos) (Martins *et al.*, 2004).

3.2 Reactores con biomasa adherida

En los reactores con biomasa adherida (biopelículas) los microorganismos crecen adheridos a un material inerte, ya sea sintético (como materiales plásticos, espumas, cerámicas, entre otros) o natural (principalmente rocas, carbón, basalto, entre otros) que se mantienen fijos o móviles dentro del reactor. En este tipo de sistemas las bacterias se adhieren a la superficie del material mediante la producción de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) que actúan como adhesivo y permiten el crecimiento de la biopelícula. Los sustratos y nutrientes son transportados por difusión a lo largo de la biopelícula (Qiqi *et al.*, 2012).

Los reactores con biomasa adherida se caracterizan por presentar una mayor concentración de biomasa en el reactor; actividad metabólica elevada atribuida a la alta concentración de nutrientes adheridos a la biopelícula y a las diferentes interacciones entre especies microbianas; mejor resistencia a la toxicidad, principalmente por el efecto protector de la matriz extracelular, la cual puede reducir la concentración de sustancias tóxicas en la biopelícula (Cohen, 2001; Ivanovic y Leiknes, 2012). Existen varios tipos de reactores de biomasa adherida entre los que se encuentran los filtros percoladores, biodiscos, reactores de lecho fijo sumergido, reactores biológicos de lecho fluidizado, entre otros.

Según Ødegaard *et al.* (1994), los reactores de biomasa adherida presentan las siguientes ventajas con respecto al sistema de lodos activados: 1) el proceso es más compacto debido a la disponibilidad de mayor área de superficie específica; 2) no se requiere la recirculación de lodos para mantener concentraciones de biomasa altas; 3) se presentan tasas de nitrificación y desnitrificación altas debido a la coexistencia de actividad metabólica anóxica y aerobia dentro del mismo reactor.

Por otro lado, Rusten *et al.* (2006) mencionan algunas desventajas de los diferentes tipos de reactores con biomasa adherida, como por ejemplo: en los filtros percoladores no se utiliza todo el volumen efectivo disponible; en los biodiscos se presentan frecuentemente fallas mecánicas; en los reactores de lecho fijo sumergido es difícil obtener una distribución uniforme de la carga sobre toda la superficie de los soportes; los biofiltros con soporte granular tienen que ser operados discontinuamente porque necesitan de retrolavados y con respecto a los reactores de lecho fluidizado algunas veces presentan inestabilidad hidráulica.

A pesar de esto, los reactores con biomasa adherida han demostrado su eficiencia en el tratamiento de aguas residuales industriales con altas cargas orgánicas y son cada vez más utilizados que los sistemas de biomasa suspendida, especialmente en condiciones de operación críticas.

Tyagi *et al.* (1993) estudiaron la biodegradación de aguas residuales de refinerías de petróleo usando biodiscos. El sistema operó a diferentes cargas orgánicas (0.01, 0.02, 0.03 y 0.04 m³/m²d) con una velocidad de rotación de 10 rev/min. Las eficiencias de remoción de DQO y de grasas y aceites fueron del 99% y 85%, respectivamente.

Jou y Huang (2003) utilizaron un reactor de lecho fijo empacado con espuma de poliuretano altamente porosa para el tratamiento de un efluente de refinería de petróleo. Los autores compararon la degradación con un sistema de lodos activados y determinaron que la degradación fue mayor en el proceso de biopelícula. A partir de los valores iniciales de DQO (510 ± 420 mg/L) en el sistema de lodos activados se registraron remociones entre el 50 y 60% con un TRH de 25 h mientras que en el reactor de biopelícula se alcanzaron eficiencias de remoción entre el 85 y 90% de DQO con un TRH de 8h, lográndose la máxima remoción durante las dos primeras horas. La remoción de fenol fue del 100%. Este estudio confirma la capacidad de los reactores de biomasa adherida para remover cargas orgánicas elevadas con TRH menores que otros sistemas de tratamiento biológico.

Sokol (2003) evaluó la eficiencia de remoción de DQO de un efluente de refinería de petróleo utilizando un reactor de lecho fluidizado con soportes Kaldnes-K1, con una área específica de 400 m²/m³; se probaron diferentes fracciones de llenado con los soportes, velocidades superficiales de aire (U_G) y TRH. Las mejores condiciones de remoción se registraron con una fracción de llenado del 55% y U_G de 104 m/h llegando a alcanzar remociones de DQO del 90 % a diferentes TRH (5-55h).

Farhadian *et al.* (2008) sugieren que los tratamientos biológicos con biopelículas son muy eficientes en la degradación de hidrocarburos BTEX, alcanzando eficiencias de remoción del 99% mientras que Diya'uddeen *et al.* (2011) mencionan que este tipo de reactores presenta alta tolerancia a la presencia de compuestos tóxicos y son resistentes a los choques de carga. Por otro lado, Satyawali y Balakrishnan (2008) determinaron que el uso de soportes plásticos en reactores de lecho fijo usados en el tratamiento de aguas residuales industriales incrementan la actividad bacteriana y mejoran la remoción de DQO a TRH más cortos en comparación con otros sistemas.

3.3 Degradación biológica de compuestos fenólicos y nitrogenados

Como se mostró en la tabla 2.2, el fenol y el nitrógeno amoniacal son los principales contaminantes de las aguas desfleadas de refinerías, por tal motivo es importante conocer su comportamiento y los efectos que producen durante su degradación en el tratamiento biológico de aguas residuales.

3.3.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se consideran tóxicos debido a la estabilidad que presentan sus anillos que los hacen resistentes a la degradación. La presencia de estos compuestos pueden causar efectos negativos a la salud (problemas cancerígenos) y al ambiente, principalmente

a los ecosistemas acuáticos (Mamma *et al.*, 2004; Diya'uddeen *et al.*, 2011; Al-Khalid y El-Naas, 2012).

En la figura 3.1, se muestran los principales isómeros del anillo fenólico presentes en los efluentes de refinería de petróleo.

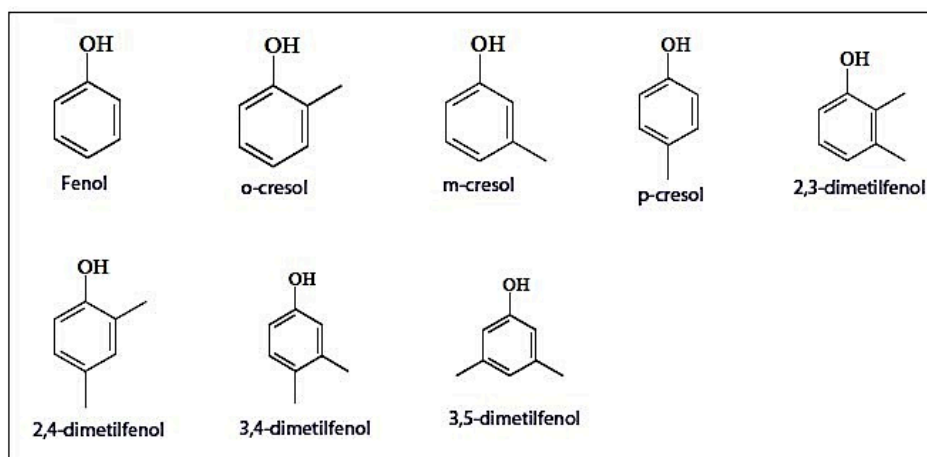


Figura 3.1 Compuestos fenólicos presentes en aguas residuales de refinerías
(Fuente: Adaptado de *Handbook of Chemistry and Physics*, 2009)

El fenol es el contaminante que más contribuye a la DQO total de las aguas residuales industriales (Marañón *et al.*, 2008). Según Tyagi *et al.* (1993), el fenol tiene una relación directa con la DQO y sugiere que cada miligramo de fenol equivale a 2.38 mg de DQO mientras que Hosseini y Borghei (2005) reportan que cada mg/L de fenol contribuye a una concentración de DQO igual a 2.15 mg/L. Debido a la complejidad que presenta la matriz de las aguas residuales de refinería, el fenol es generalmente el parámetro elegido para indicar el nivel de toxicidad del agua residual y el rendimiento de biodegradación en los sistemas de tratamiento (Viero *et al.*, 2008).

La biodegradación del fenol y sus derivados es de interés evidente y ha sido ampliamente estudiada en aguas sintéticas en condiciones aerobias (Al-Khalid y El-Naas, 2012).

Yoong y Lant (2001) investigaron el desempeño de un SBR para tratar fenol a una concentración de 1300 mg/L y carga orgánica de 13.12 kg/m³.d. La eficiencia de remoción fue del 97% de DQO a un TRC de 4 días y THR de 10 h. La volatilización del fenol fue estudiada a diferentes concentraciones (300, 500, 1300 mg/L), con un flujo de aire de 3380 mL/min y presión de 120 kPa. Los resultados mostraron que no hubo volatilización y el fenol fue removido principalmente por biodegradación.

González *et al.* (2001) estudiaron la biodegradación del fenol en un reactor de lecho fluidizado usando un cultivo puro de *Pseudomonas putida*. La concentración inicial de fenol fue de 1000 mg/L y alcanzaron eficiencias de remoción superiores al 90%, sin embargo, el TRH para alcanzar estos resultados fue de cuatro días.

Hsien y Lin (2005) estudiaron la biodegradación del agua residual fenólica en un reactor de biopelícula fija. El reactor operó a un TRH de 12 h y la concentración inicial fue de 72 mg fenol/L. Las eficiencias de remoción fueron del 94 % que corresponde a una concentración final en el efluente de 4 mg/L.

Perron y Welander (2004) observaron la degradación del fenol y cresoles a baja temperatura usando un reactor de biopelícula. La concentración inicial fue de 150 mg/L y el TRH fue mayor a dos días. En el sistema se alcanzaron remociones del 99% de todos los compuestos aromáticos presentes en el medio (fenol, o-cresol, m-cresol y p-cresol).

Chan y Lim (2007) investigaron el desempeño de un SBR para la remoción de fenol a concentraciones que variaron entre 100 y 1000 mg/L. Los autores reportaron una completa remoción de fenol y eficiencias de remoción de DQO superiores al 96%.

Marañón *et al.* (2008) investigaron el tratamiento de aguas residuales de coquerías en un SBR a un THR de 115 h y concentraciones iniciales de 207 mg fenol/L; se observaron eficiencias de remoción del 99% de fenol.

Bajaj *et al.* (2008) estudiaron la degradación del fenol usando agua sintética en un reactor de biopelícula de lecho fijo empleando soportes Liapor y operado en régimen continuo. La concentración de fenol agregada fue incrementando paulatinamente desde 0.19 hasta 5.17 g/L, con el fin de aclimatar los microorganismos a altas concentraciones de contaminante. Los autores concluyeron que es factible usar un tratamiento biológico de aguas residuales que contengan concentraciones de fenol de hasta 5 g/L y la presencia de compuestos nitrogenados o urea en el influente tiene un efecto importante sobre la biodegradación del fenol debido a que la presencia de estos compuestos permiten obtener mejores eficiencias de remoción.

Sin embargo, el tratamiento biológico de compuestos fenólicos no es una tarea fácil, debido a que la toxicidad del fenol reduce significativamente la biodegradación de otros compuestos (Barrios-Martínez *et al.*, 2006) y produce efectos en la sedimentación de los lodos (Schwartz-Mittelmann y Gail, 2000; Viero *et al.*, 2008). Algunas investigaciones han reportado que concentraciones de fenol superiores a 200 mg/L inhiben el crecimiento microbiano afectando el desempeño de los sistemas (Lante *et al.*, 2000; Marrot *et al.*, 2006; Hosseini y Borghei, 2005).

Amor *et al.* (2005), estudiaron la biodegradabilidad del fenol y su efecto en el proceso de nitrificación, primero en un reactor por lotes y después en un sistema de lodos activados con biomasa aclimatada a este compuesto. En las pruebas llevadas a cabo en el reactor por lotes, el fenol fue completamente degradado para concentraciones que variaban entre 100 y 2500 mg/L y el proceso de nitrificación sólo comenzó a producirse después de la degradación total del fenol, lo que confirma el efecto inhibitorio ejercido por este compuesto particularmente a concentraciones superiores de 1000 mg/L. En contraste, el sistema de lodos activados se alimentó con una concentración de fenol que variaba entre 35 y 2800 mg/L y un TRH de 2.5 días, se lograron eficiencias de remoción de aproximadamente el

99.8% para ambos compuestos.

Uygur y Kargi (2004) estudiaron los efectos inhibitorios del fenol en la remoción biológica de nutrientes usando concentraciones de fenol de aproximadamente 400 mg/L en un SBR. Los autores observaron que a concentraciones menores de 400 mg Fenol/L se alcanzaban eficiencias de remoción del 95% para la DQO, 90 % N-NH₄ y 65% P-PO₄; pero cuando las concentraciones de fenol aumentaban la degradación de este compuesto era incompleta causando un efecto inhibitorio y presentando bajos niveles de remoción de materia orgánica, amonio y fosfato (N-NH₄ 78% y P-PO₄- 38%).

Moussavi *et al.* (2009) investigaron el comportamiento de un reactor discontinuo de lecho móvil (MSBR, por sus siglas en ingles *Moving-bed sequencing batch reactor*) operado por ciclos de 24 h y a diferentes concentraciones de fenol que variaron entre 50 y 3325 mg/L, las cuales correspondieron a concentraciones iniciales de DQO alrededor de 100–7500 mg/L. Los autores reportan que se eliminó completamente el fenol hasta concentraciones de 3000 mg/L; a concentraciones superiores el desempeño del reactor disminuyó presentado un efecto inhibitorio sobre la remoción de la DQO y una acumulación de compuestos intermediarios del fenol. También, indican que para erradicar el efecto inhibitorio que se presentó a altas cargas orgánicas fue necesario operar el MSBR a un TRH de 40 h, donde se obtuvieron eficiencias de remoción del 99% para DQO y fenol.

3.3.2 Nitrógeno amoniacal

Después del carbono, el elemento más abundante en las células es el nitrógeno. Una bacteria típica contiene aproximadamente el 12% de nitrógeno (peso seco) y es el componente mayoritario de las proteínas, ácidos nucleicos y otros constituyentes celulares.

Cuando en los ambientes acuáticos se presenta un exceso de nitrógeno, ya sea en forma orgánica, amoniacal o en nitritos y nitratos, ocurre un desequilibrio en el ambiente, que puede provocar problemas de eutrofización (Von Sperling, 2002), empobrecimiento de oxígeno (Bernet *et al.*, 2001) y toxicidad de ciertos organismos (Rusten *et al.*, 2006).

Se ha demostrado que los efluentes que presentan bajas concentraciones de N-NH₃ (<50 mg/L) pueden ser tratados por procesos biológicos convencionales (sistema de lodos activados) debido a que el nitrógeno es necesario para el desarrollo y manutención de la biomasa activa y por lo tanto su remoción se logra a través de la asimilación e incorporación en la masa celular de los microorganismos. Sin embargo, cuando las concentraciones de nitrógeno amoniacal son mayores en las aguas residuales, la remoción biológica de este compuesto consiste en un tratamiento mediante dos procesos secuenciales conocidos como nitrificación y desnitrificación.

Para la eliminación biológica de nitrógeno en el tratamiento convencional de aguas residuales se necesitan operar con dos o más reactores en serie, que corresponden a un tanque aerobio (nitrificación) y otro anóxico (desnitrificación) (Metcalf y Eddie, 2003). En la nitrificación, el nitrógeno amoniacal es oxidado a nitritos y posteriormente a nitratos

mientras que en la desnitrificación, el nitrato es convertido a nitrógeno gaseoso (N_2), teniendo como posibles intermediarios el óxido nítrico (NO) y el óxido nitroso (N_2O).

La nitrificación es entendida como la etapa limitante del proceso debido a la baja tasa de crecimiento de las bacterias nitrificantes en comparación con las bacterias heterótrofas. Según Madigan *et al.* (1997), este fenómeno se presenta por la poca generación de ATP provocado por la disminución del potencial redox entre la sustancia a ser degradada (en este caso el amonio), y el aceptor final de electrones (oxígeno). Durante la nitrificación, se presentan dos tipos de bacterias: las *Nitrosomonas* que oxidan el amonio a nitrito, cuya etapa es denominada como nitrificación y las *Nitrobacter* que convierten el nitrito a nitrato, a través de la etapa de nitratación. Se ha demostrado que el proceso de nitrificación es sensible a diversos factores tales como la temperatura, pH, concentración de oxígeno disuelto, concentración de nitrógeno amoniacal y por la carga orgánica aplicada (Valdivia, 2005).

Se ha reportado que la relación entre carbono y nitrógeno (C/N) es un factor crítico en el proceso de desnitrificación. Algunos autores mencionan que con una relación C/N mayor a 4 g DQO/g N- NO_3 en los reactores anóxicos, la tasa de desnitrificación se incrementa en un factor de 1.5 a 1.7 mientras que a relaciones C/N menores de 2.5 g DQO/g N- NO_3 no se alcanza una desnitrificación satisfactoria, y por lo tanto se necesita de una fuente externa de carbono (Rusten *et al.*, 1994; Helmer-Madhok *et al.*, 2002; Valdivia, 2005). Este fenómeno ha impulsado una nueva generación de tratamientos biológicos, como la nitrificación vía nitrito o la implementación de la nitrificación – desnitrificación simultánea (NDS), que permiten tratar altas cargas nitrogenadas con bajo contenido de materia orgánica.

La utilización de tratamientos con biomasa adherida ha permitido avances en la remoción biológica de nitrógeno debido a que estos reactores permiten mantener mayores concentraciones de bacterias que los tratamientos de biomasa suspendida, disminuyendo el tamaño de los reactores y evitando la pérdida de bacterias de lento crecimiento, como las que realizan la nitrificación (Sievers *et al.*, 2003). Valdivia (2005) reporta trabajos en donde se ha encontrado evidencia de nitrificación y desnitrificación simultáneas en reactores de lecho móvil (Rusten y Eliassen, 1993; Helness y Ødegaard, 2001) y en reactores de lecho fijo (Arnz *et al.*, 2001; Gieseke *et al.*, 2002) atribuyendo a que en este tipo de reactores se forman microzonas anóxicas en la parte interna de la biopelícula que permiten que las bacterias heterótrofas desnitrifiquen (Helmer y Kunst, 1997). También, menciona el proceso de nitrificación y desnitrificación simultánea durante la fase aerobia en un reactor de biopelícula (Garzón-Zúñiga y González-Martínez 1996).

Wake (2005) menciona que los niveles de descarga de nitrógeno amoniacal y fenoles de los efluentes de refinerías de petróleo en Europa han disminuido 45 y 60 % entre los años 1993 y 2000, respectivamente; debido a la implementación de tecnologías eficientes.

3.4 Crecimiento microbiano con múltiples sustratos

Como se mencionó anteriormente las aguas residuales de refinería poseen una matriz compleja de contaminantes tóxicos que pueden causar efectos negativos sobre el

crecimiento y la actividad de los microorganismos llegando a inhibir el sistema o incluso provocar la muerte de ciertas comunidades microbianas (Marrot *et al.*, 2006).

Para que un proceso biológico sea eficiente, la actividad de los microorganismos debe ser la adecuada y por lo tanto es necesario que sean previamente aclimatados bajo ciertas condiciones favorables que les permitan metabolizar el nuevo sustrato que se les está proporcionando (Moreno-Andrade, 2006; Bajaj *et al.*, 2008). La aclimatación de microorganismos tiene como objetivo reducir el efecto inhibitorio por la presencia de compuestos tóxicos logrando que los microorganismos metabolicen el sustrato al que están siendo expuestos y aumenten la capacidad de remoción de contaminantes de difícil degradación.

En la literatura, la mayoría de los estudios sobre cinéticas de biodegradación reportan las constantes cinéticas utilizando un único sustrato, por ejemplo: fenol, benceno, tolueno acetato ó xileno; y muy pocos reportan los parámetros cinéticos de la biodegradación de mezclas de múltiples sustratos como son las aguas residuales industriales (Okpokwasilli y Nweke, 2005). La cinética microbiana de múltiples sustratos es bastante compleja debido a que los microorganismos dependiendo de las condiciones de operación del sistema muestran preferencias por algunos componentes del medio favoreciendo sus degradaciones, pero la presencia de inhibidores reduce considerablemente la biodegradación de los otros compuestos presentes en el medio (Patnaik, 2000). En la tabla 3.1 se presentan algunos de los modelos que describen el crecimiento de microorganismos para sistemas con múltiples sustratos.

Tabla 3.1 Modelos cinéticos para el crecimiento con inhibición

Ecuación	Nombre del modelo
$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + Si + Sj(K_{si}/K_{sj})}$	<i>Inhibición competitiva</i>
$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + Si + Sj(K_{si}/K_{sj}) + (Si + Sj)/K_{sj}}$	<i>Inhibición no competitiva</i>
$\mu = \frac{\mu_m S}{K_{si} + Si + (Si + Sj/K_{sj})}$	<i>Inhibición acompetitiva</i>
$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S + (S^2/K_i)}$	<i>Haldane</i>
$\mu = \frac{S}{K_s + S} \left(1 - \frac{S}{S_c} \right)$	<i>DeFrance</i>
$\mu = \mu_m \frac{S}{K_s + S + \left(1 - \frac{S}{K_i} \right)}$	<i>Andrew</i>

Donde:
 μ = Tasa de crecimiento específico (d⁻¹)
 μ_m = Tasa específica máxima de crecimiento (d⁻¹)
 S = Concentración de sustrato (mg/L)
 S_c = Concentración de sustrato crítica por encima de la cual la reacción se detiene
 K_s = Coeficiente de saturación media de sustrato (mg/L)
 K_i = Coeficiente de inhibición del sustrato (mg/L)

Los inhibidores son considerados sustancias extrañas para los microorganismos y su presencia, accidental o intencional, provoca alteraciones significativas en el metabolismo

celular. Se pueden agrupar en dos categorías: inhibidores reversibles o inhibidores irreversibles. La inhibición reversible se caracteriza por la rápida disociación del complejo enzima-inhibidor. Los inhibidores reversibles son divididos en cuatro grupos: competitivos, no competitivos, acompetitivos y mixtos (Saboury, 2009). Los inhibidores irreversibles llevan a la enzima a una inactivación prácticamente definitiva, una vez que la unión es muy fuerte con la enzima la disociación es muy lenta.

A continuación se describen los diferentes tipos de inhibición reversible.

3.4.1 Inhibición competitiva

En este tipo de inhibición se presentan similitudes entre el sustrato (S) y el inhibidor (I), teniendo como resultado, la capacidad de unirse al sitio activo de la enzima, produciendo un complejo enzima-inhibidor (EI). El complejo EI no genera un producto y, por lo tanto, la actividad enzimática disminuirá de acuerdo con la fracción de enzima que está ligada al inhibidor. La molécula del inhibidor no es alterada químicamente por la enzima. El grado de inhibición es directamente proporcional a las concentraciones del sustrato y a sus afinidades con la enzima.

3.4.2 Inhibición no competitiva

El sustrato (S) y el inhibidor (I) se pueden unir a la enzima de forma simultánea. No presentan estructuras similares y por lo tanto no compiten por el mismo sitio activo. Tanto I y S se unen a la enzima en sitios diferentes y de forma independiente. El grado de inhibición no se ve afectado por el cambio en la concentración de sustrato. Los metales pesados (Hg, Pb, Ag) son ejemplos de este tipo de inhibidores.

3.4.3 Inhibición acompetitiva

Este tipo de inhibición, se caracteriza por el hecho de que el inhibidor (I) no se combina con la enzima libre, ni afecta su relación con el sustrato normal, sino que se liga al complejo enzima-sustrato (ES), inactivándolo. El grado de inhibición aumenta por el cambio en la concentración de sustrato.

3.4.4 Inhibición mixta

Es importante reconocer que la inhibición mixta no implica una mezcla de los diferentes tipos de inhibición antes mencionados. Se caracteriza porque el inhibidor (I) no tiene una estructura similar con el sustrato (S) pero ambos se unen tanto a la enzima libre como al complejo enzima-sustrato (ES). El inhibidor se une a un lugar distinto del sitio activo en el que se une el sustrato. El grado de inhibición es afectado por el cambio en la concentración de sustrato que depende de la interacción entre los sitios de I y S.

La ecuación de Lineweaver-Burck puede ser usada para determinar el tipo de inhibición que afecta a un sistema (Saboury, 2009):

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{max}} \left(\frac{1}{S} \right) + \frac{1}{\mu_{max}} \text{ (Ecuación 1)}$$

Donde:
 μ : Tasa específica de crecimiento/h
 K_s : Coeficiente de saturación media de sustrato, mg/L
 μ_{max} : Tasa específica máxima de crecimiento/h
 S : Concentración de sustrato, mg/L

Trazando los valores de $(1/\mu)$ vs $(1/S)$ se obtienen las constantes cinéticas μ_{max} y K_s donde la pendiente es K_s/μ_m y la ordenada en el origen es $1/\mu_m$.

En la figura 3.2 y 3.3, se muestran los diagramas Lineweaver-Burk para los diferentes tipos de inhibición.

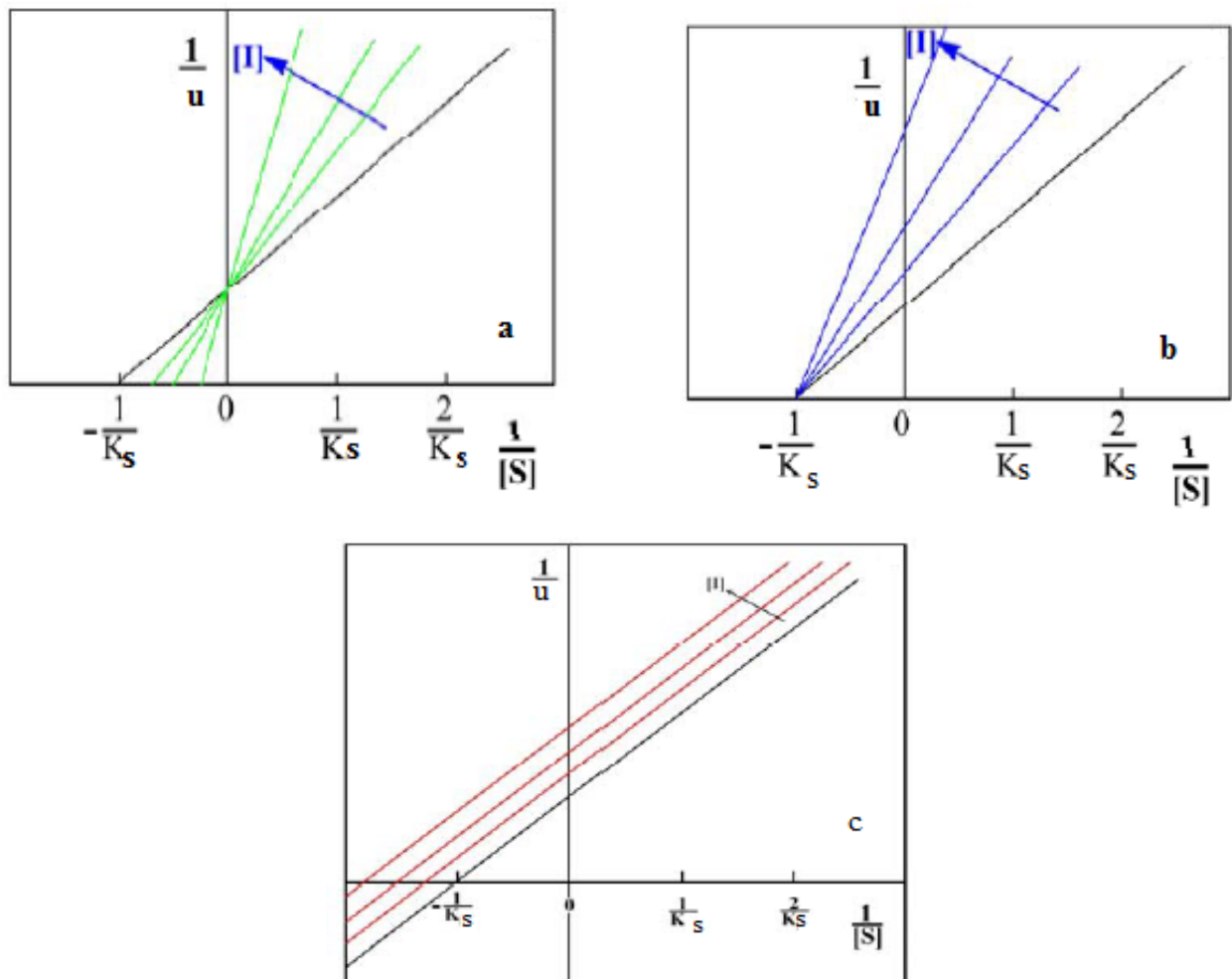


Figura 3.2 Diagramas Lineweaver-Burk correspondientes a la inhibición reversible (a) competitiva (b) no competitiva (c) acompetitiva (Fuente: Modificado de Saboury, 2009)

Se observa que en la inhibición competitiva (Figura 3.2a) las líneas que corresponden a diferentes concentraciones son intersectadas en el eje Y, lo que significa que μ_{\max} no se ve afectada por el inhibidor. Con respecto a la inhibición no competitiva (Figura 3.2b), las líneas son intersectadas en el eje X, K_s no se ve afectado, la μ_{\max} disminuye en presencia del inhibidor y no puede ser restablecida por la adición de concentraciones elevadas de sustrato. Esta relación muestra que el grado de inhibición puede aumentar cuando la concentración del sustrato se aumenta. En la inhibición acompetitiva (Figura 3.2c) las líneas son paralelas. Los valores de μ_{\max} y K_m disminuyen en la presencia del inhibidor.

En la figura 3.3 se muestran los diagramas Lineweaver-Burk correspondientes a la inhibición mixta que se caracteriza por el efecto del inhibidor sobre la pendiente; las concentraciones pueden ser intersectadas cada una arriba o abajo del eje X negativo, lo que significa que hay cambios en K_s y μ_{\max} . Se puede presentar una disminución en el valor de μ_{\max} y un aumento de K_m en presencia del inhibidor ó μ_{\max} y K_s disminuyen al mismo tiempo pero no lo hacen en la misma proporción.

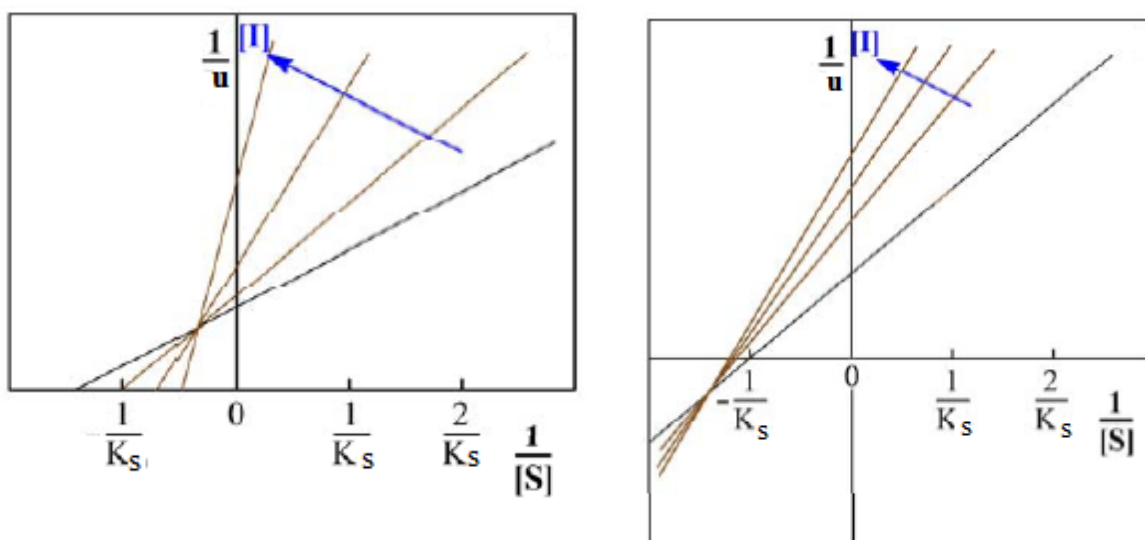


Figura 3.3 Diagramas Lineweaver-Burk correspondientes a la inhibición mixta
(Fuente: Modificado de Saboury, 2009)

La tabla 3.2 presenta la influencia de cada uno de los tipos de inhibición con respecto a μ_{\max} y K_s .

Tabla 3.2 Efectos de los diferentes tipos de inhibición

Tipo de inhibición	Efecto sobre μ_{\max}	Efecto sobre K_s
Competitiva	No altera	Aumenta
No competitiva	Disminuye	No altera
Acompetitiva	Disminuye	Disminuye
Mixta	Disminuye	Aumenta

3.5 Técnicas de ecología molecular para el estudio de la diversidad microbiana

El estudio de las comunidades procarióticas mediante técnicas independientes de cultivo o herramientas moleculares representa un gran avance para el estudio de comunidades complejas como aquellas que participan en los procesos biológicos. Estas técnicas pueden ser ampliamente utilizadas para observar los cambios ocurridos en las comunidades microbianas a lo largo del tiempo y pueden ser asociados con cambios fisicoquímicos en el medio circundante. Los resultados obtenidos mediante estas técnicas son un gran aporte a la ingeniería ambiental y aumentan enormemente la visión de la vasta diversidad de microorganismos en los sistemas biológicos complejos sin la necesidad de cultivarlos.

Las comunidades procarióticas presentes en cualquier proceso de tratamiento de aguas residuales son diversas debido a la formación de consorcios altamente estructurados con diferentes capacidades metabólicas. Las interacciones entre ellos, las condiciones fisicoquímicas del medio y la biodisponibilidad de los recursos permiten las transformaciones necesarias para la degradación de compuestos complejos. Por lo tanto, la caracterización de estas comunidades en cualquier proceso de tratamiento de aguas residuales es fundamental para comprender la ecología de esta comunidad y los procesos de transformación que en ella ocurren.

El uso de métodos biológicos moleculares se basa en el análisis comparativo de pequeñas unidades ribosomales RNAs que son usadas como marcadores moleculares, para proporcionar el conocimiento de la relación evolutiva de los microorganismos, permitiendo su agrupación e identificación a través de la secuencia de los genes obtenidos (Woese, 1987). Los genes de rRNA son evolutivamente conservados, siendo bastantes útiles para describir las relaciones filogenéticas entre los organismos. El análisis de secuencias 16S rRNA es el método más utilizado para el estudio filogenético de bacterias y arqueas. Este gen es encontrado en todas las células procarióticas y en elevado número de copias en el genoma; también contiene regiones variables que permiten diferenciar a las especies detectadas y regiones muy conservadas que pueden ser utilizadas para hibridar sondas o iniciadores (*primers*) de PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Por ello, el 16S rRNA es empleado para establecer la relaciones filogenéticas entre los diferentes procariontes, sean de cultivos aislados o de muestras ambientales complejas como suelo, agua, biopelículas, sedimentos, entre otros.

En las últimas décadas varias técnicas moleculares han sido desarrolladas contribuyendo significativamente al conocimiento de la variabilidad genética de los procariontes en muestras ambientales. Dentro de las técnicas más utilizadas se destacan la electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (DGGE), el polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP), la construcción de bibliotecas (clonación y secuenciación) y la hibridación fluorescente *in-situ* (FISH, Fluorescence in situ Hybridization).

La técnica de DGGE se basa en la diferente movilidad de los fragmentos de DNA desnaturalizado a través de un gel generando diferentes patrones de bandas que actúan

como un código de barras, lo que refleja la diversidad procariótica de la muestra. Sakamoto (2002) utilizó la técnica de DGGE para comprobar la estructura de las comunidades microbianas complejas presentes en sistemas de lodos activados modificados para la remoción biológica de fósforo en exceso. Se encontró una estructura de comunidad microbiana compleja, y algunas poblaciones eran semejantes entre los días de muestreo.

El RFLP también describe la diversidad genética de una muestra, para ello se generan fragmentos del mismo tamaño por PCR para después someterlos a incubaciones con enzimas de restricción que cortan secuencias específicas de DNA. Las diferencias en la secuencia de los fragmentos de DNA amplificados generan fragmentos de diferentes tamaños que también puede ser vista igualmente como una huella digital de una comunidad.

La técnica de clonación y secuenciación de productos de PCR es bastante útil en estudios de ecología. Esta técnica consiste en amplificar una sección deseada –como el fragmento 16S rRNA– a partir de DNA extraído de una comunidad. El producto de PCR pese a ser del mismo tamaño contiene secuencias de diferentes organismos que pueden ser separados mediante un proceso de clonación. Para ello, los fragmentos son insertados en vectores, como un plásmido, el cual se introduce en células competentes de *Escherichia coli* donde puede replicarse y producir más plásmidos que contienen el fragmento clonado. Subsecuentemente, las células transformadas son cultivadas en placa bajo condiciones que permiten la selección de las colonias deseadas, es decir, que contengan el plásmido con el inserto esperado (clonas). La lógica de la separación de secuencias de DNA con un mismo tamaño pero con diferente composición es la siguiente: en cada plásmido sólo se puede inserta una sola secuencia 16S rRNA amplificada, cada célula de *E. coli* puede sólo adquirir un plásmido durante el proceso de transformación, cada colonia del cultivo en placa se forma a partir de una célula. Por consiguiente, cada colonia o clona contiene una secuencia separada del 16S rRNA que puede ser ahora secuenciada.

Otra técnica aplicada para detectar bacterias específicas en cultivos mixtos es la técnica FISH, la cual permite conocer la morfología, localización, abundancia y actividad microbiana. Esta técnica se basa en el uso de sondas marcadas con moléculas fluorescentes que se unen específicamente a determinadas regiones de moléculas de rRNA (Wagner *et al.* 2003). El grado de conservación de la secuencia marcada por la sonda determina la distancia filogenética del grupo de microorganismos que se detectan.

La abundancia y estructura de la comunidad bacteriana en lodos activados y biopelículas ha sido estudiada usando diversas técnicas de microbiología (aislamiento e identificación morfológica) y de biología molecular, como es la secuenciación de genes 16S rRNA. Se reporta que en sistemas de biomasa suspendida los géneros más frecuentes son: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Aeromonas*, *Nocardia* y *Lophomonas* (Marrot *et al.*, 2006). Las comunidades bacterianas reportadas frecuentemente para biopelículas son las *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Citromonas*, *Zooglea*, *Chromobacter*, *Alcaligenes* y algunas veces bacterias filamentosas como *Beggiatoa*, *Thiothriz* y

Sphaerotilus (Mara y Horan, 2003). Generalmente, los procesos de lodos activados presentan géneros de bacterias similares a los procesos de biopelícula.

Calderón *et al.* (2012) realizaron un análisis comparativo de la diversidad microbiana presente en un reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR) para el tratamiento de aguas residuales urbanas y encontraron que los grupos de bacterias que más sobresalen son *Betaproteobacteria* (46%), *Firmicutes* (34%), *Alfaproteobacteria* (14%) y *Gammaproteobacteria* (9%).

Ishak *et al.* (2012) reportan que las especies que se destacan en los sistemas biológicos para la degradación de los compuestos tóxicos procedentes de aguas residuales de refinerías de petróleo son: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Actinomycetes*, *Nocardia*, *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Comamonas* y *Bacillus*, mostrando eficiencias de remoción superior al 95% de DQO y 97.5% de hidrocarburos totales. Por otro lado, Silva *et al.* (2010) investigaron la diversidad microbiana en un reactor biológico con membrana y en un sistema de lodos activados durante el tratamiento de aguas residuales de refinerías, encontrando que en el MBR predominó *Betaproteobacteria*, principalmente con los géneros *Thiobacillus* y *Thauera*, mientras que en el sistema de lodos activados predominó la clase *Alfaproteobacteria*, representadas por bacterias no cultivables relacionadas al orden *Parvularculales*.

Con respecto a los microorganismos responsables de la degradación de fenol, algunos estudios han reportado los siguientes tipos de bacterias: *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Flavimonas oryzihabitans*, *Pseudomonas luteola*, *Alcaligenes*, *Sarcina*, *Desulfovibrio*, *Bacillus*, *Acinetobacter* (Buitron *et al.*, 1998; Lante *et al.*, 2000; Barrios-Martinez *et al.*, 2006; Marrot *et al.*, 2006; Indu Nair *et al.*, 2008). También, algunos estudios reportan que cultivos puros de *Pseudomonas putida*, *Candida parapsilopsis* y *Candida tropicalis* son especies degradadoras de fenol a bajas y altas concentraciones (Hidalgo *et al.*, 2002; Rigo y Alegre, 2004; Al-Khalid y El-Naas, 2012).

En forma general, los grupos reportados para sistemas con biomasa suspendida y biomasa adherida son *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Deltaproteobacteria*, *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Planctomycetes* y *Acidobacteria* (Wiszniewski *et al.*, 2011; Biswas y Turner, 2012).

4. NUEVAS TECNOLOGÍAS DE REACTORES BIOLÓGICOS

Como se mencionó anteriormente, existen varios tipos de reactores biológicos para el tratamiento de aguas residuales, los cuales presentan algunas desventajas que limitan su funcionamiento y desempeño. Por esta razón, los trabajos de investigación en este campo han sido dirigidos a perfeccionar y desarrollar nuevos sistemas de tratamiento biológico que permitan alcanzar altas remociones de materia orgánica en un menor tiempo sin afectar la estabilidad de los reactores, y de esta forma poder sustituir a los sistemas convencionales.

Dentro de las nuevas tecnologías se encuentran los reactores biológicos con membrana (**MBR**, por sus siglas en inglés *Membrane Bioreactor*) con el desarrollo de biomasa en suspensión y el diseño de sistemas de biomasa adherida como los reactores de biopelícula de lecho móvil (**MBBR**, por sus siglas en inglés *Moving Bed Biofilm Reactor*). Estos procesos pueden ser combinados entre sí dando lugar a un sistema híbrido conocido como **MBMBR** ó **BF-MBR** (por sus siglas en inglés *Moving Bed Membrane Bioreactor* ó *Biofilm membrane reactor*), el cual combina el principio de un reactor MBBR con una membrana de filtración en un mismo equipo. Los MBMBR se caracterizan por ser sistemas más robustos y compactos, en donde se obtiene un efluente de mejor calidad, como se detallará más adelante.

4.1 Reactores de biopelícula de lecho móvil (MBBR)

Los MBBR fueron desarrollados en Noruega a finales de los años 80 y principios de los 90, con el fin de conjuntar en un solo sistema, las mejores características del proceso de lodos activados con las de los procesos de biopelícula (Ødegaard *et al.*, 1994; Rusten *et al.*, 2006). Estos sistemas se encuentran patentados por la compañía AnoxKaldnes (*Europe Patent No. 0.575.314* y *USA Patent No. 5.458.779*) (Rusten *et al.*, 2006). Para el año 2009, se habían registrado más de 450 plantas de tratamiento de aguas residuales a gran escala en 50 países alrededor del mundo (Veolia Water Company).

Los MBBR son operados de manera similar que los sistemas de lodos activados pero con la adición de soportes que están en continuo movimiento (Ødegaard, 2006). El proceso se basa en el crecimiento de biomasa en la superficie de soportes plásticos que se mueven libremente dentro del reactor. El movimiento se produce por la turbulencia generada por sistemas de aireación (difusores de aire) en los reactores aerobios (Figura 4.1a) o por mezcla mecánica (agitadores) en reactores anóxicos o anaerobios (Figura 4.1b).

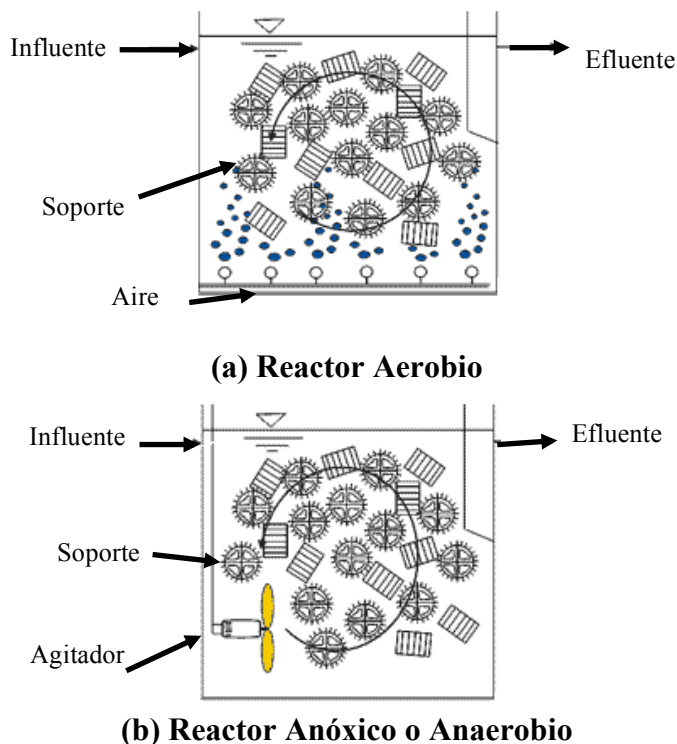


Figura 4.1 Principio de los Reactores de Biopelícula de Lecho Móvil
(Modificado de Veolia Waters Solutions y Technologies)

Los soportes se usan para maximizar el área superficial disponible para el crecimiento de la biopelícula dentro del reactor. Los soportes tienen como función garantizar la fijación de los microorganismos en su superficie a través de la producción de las sustancias poliméricas extracelulares (SPE). La colonización de los soportes en el reactor dependerá en cada caso del grado de tratamiento deseado, cargas orgánica e hidráulica, temperatura y transferencia de oxígeno (Valdivia, 2005). Los soportes pueden tener diferentes formas y tamaños que incluyen cilindros lisos (Andreottola *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2009), cilindros con cruces internas y aletas externas (Ødegaard, 2006), rectángulos y cubos (Golla *et al.*, 1994; Valdivia, 2005) ó esferas (Valdivia, 2005). Los materiales que se han empleado para los soportes incluyen cerámica, espuma, alcohol polivinílico (PVA), poliuretano y polietileno de alta densidad (Valdivia, 2005; Ødegaard, 2006; Ngo *et al.*, 2008). Generalmente tienen una densidad de 0.95 g/cm^3 , lo que les permite moverse fácilmente dentro del reactor (Ødegaard *et al.*, 1994). En los sistemas MBBR, poco o nada de la biopelícula crece adherida a la parte externa de los soportes, debido a la erosión causada

por las frecuentes colisiones entre las piezas y las paredes del reactor (Ødegaard *et al.*, 1994, Rusten *et al.*, 2006).

Los MBBR se caracterizan por presentar una elevada capacidad de remoción de materia orgánica y nitrogenada (Ødegaard *et al.*, 2006). Se ha demostrado que pueden trabajar a altas cargas orgánicas y TRH relativamente cortos (en el rango de 4 horas) obteniendo efluentes de alta calidad con respecto a la DBO, NTK y SST (Ahl *et al.*, 2006; Ivanovic y Leiknes, 2008). De acuerdo con Rusten *et al.* (2006) cuando se trabajan a cargas orgánicas mayores de 12 g DQO/m²d la disminución de DQO se sitúa entre el 40 y 50% mientras que para cargas orgánicas más bajas (3-6 kg DBO/m³h) la eficiencia de remoción de DQO es mayor al 90 % (Valdivia, 2005). Broch-Due *et al.* (1994) reportó remociones de DQO de 65-70 % trabajando a cargas volumétricas de 10-50 kg DQO/m³d. Ødegaard (2006) obtuvo remociones de DBO en el rango de 95 a 85 % para cargas de 15 y 60 g DBO/m²d, respectivamente. Por otro lado, se ha encontrado evidencia de nitrificación y desnitrificación simultáneas en este tipo de reactores (Rusten y Eliassen, 1993; Yang *et al.*, 2010) debido a los gradientes de la concentración de oxígeno disuelto como resultado de las limitaciones de difusión entre la fase acuosa y la biopelícula que permiten la existencia de micro-zonas anóxicas. Se han usado con mucho éxito en el tratamiento de aguas residuales municipales (Rusten *et al.*, 1994; Ødegaard *et al.*, 2006; Falletti y Conte, 2007) y de las provenientes de las industrias lácteas (Andreottola *et al.*, 2002), petroquímica (Whang *et al.*, 2009) y refinerías de petróleo (Schneider *et al.*, 2011; Dias *et al.*, 2012).

Las principales ventajas de estos sistemas (Ødegaard *et al.*, 1994, Rusten *et al.*, 1995, Rusten *et al.*, 2006; Aygun *et al.*, 2008; Chan *et al.*, 2009) son:

- Área mínima de instalación. Todo el volumen útil del reactor es utilizado eficientemente debido al uso de soportes que aumentan el área para el crecimiento del consorcio microbiano.
- Presenta mayor resistencia a los choques de carga.
- Experimentalmente se ha constatado que las tasas de nitrificación y desnitrificación en este tipo de procesos son superiores a las obtenidas en los procesos convencionales.
- No se requiere recirculación de lodo para mantener las altas concentraciones de biomasa en el reactor.
- No se presentan problemas de obstrucción o colmatación del lecho como ocurre en los reactores de lechos fijos.
- No requieren retrolavado.
- Bajos costos de capital, operación, mantenimiento y reemplazo.
- Permite incrementar el desempeño de las unidades de tratamiento biológico ya existentes, como es el sistema de lodos activados, debido a que pueden ser adaptados sin necesidad de hacer grandes modificaciones.
- La eficiencia del tratamiento no depende de las características de separación del lodo, debido a que la concentración de biomasa a ser separada es por lo menos diez veces menor a la de los sistemas convencionales.

- Fácil operación.

Desventajas

- Si se trabaja con cargas orgánicas altas, es necesario trabajar con niveles de O₂ más altos (>4 mgO₂/L) debido al elevado gradiente de O₂ a lo largo de la capa de la biopelícula, y por lo tanto aumenta el consumo energético (Rusten *et al.*, 2006).
- En algunos casos, pueden ocurrir problemas asociados a la hidrodinámica y presentar la formación de regiones estancadas.
- Producción de bacterias filamentosas que presentan una gran dificultad de separación del efluente, por lo que pueden añadirse a la descarga de sólidos totales en suspensión, demanda química y bioquímica de oxígeno, siendo necesario la instalación de un sedimentador secundario.

Para el buen funcionamiento del sistema MBBR se deben tener en cuenta algunos aspectos de operación como: la fracción de llenado, hidrodinámica del reactor, flujo de aire (procesos aerobios) y formación de la biopelícula.

La fracción de llenado es la relación entre el volumen ocupado por los soportes y el volumen total del reactor. Es una variable fácilmente manipulada, pudiendo ser modificada de acuerdo con la necesidad del área específica para el crecimiento de la biopelícula en cada situación. Ødegaard *et al.* (2006) recomienda una fracción de llenado menor al 70%, con el fin de proporcionar un buen movimiento de los soportes, sin que se presenten problemas hidrodinámicos. Algunos autores han reportado poca variaciones en el rendimiento de los MBBR cuando se usan fracciones entre el 30 y 70% del volumen total del reactor (Mannina y Viviani, 2009; Falletti y Conte, 2007).

El flujo de aire utilizado para mantener los soportes en suspensión es generalmente superior al flujo que se requiere para mantener la concentración de OD adecuada en el efluente (> 3 mg/L). La turbulencia dentro de los MBBR es de extrema importancia porque es un factor determinante en la transferencia de oxígeno disuelto y de los nutrientes para que lleguen a los microorganismos; también, evita la formación de zonas estancadas y mantienen un bajo espesor de la biopelícula, para que no se presenten problemas de difusión de los sustratos a través de la biopelícula (Rusten *et al.*, 2006). El movimiento de los soportes permite que ocurra un desprendimiento natural de la biopelícula, haciendo posible el desarrollo de nuevos microorganismos sin que el espesor de la biopelícula aumente.

Formación de biopelícula

Las biopelículas son sistemas extremadamente complejos, constituidos de células y colonias microbianas que se desarrollan adheridos a superficies, incorporadas en una matriz polimérica, cuya estructura y composición son funciones de la edad de la biopelícula y de las condiciones ambientales y operacionales (Hall-Stoodley y Stoodley, 2002). Las microcolonias presentes en la biopelícula están separadas por canales de agua altamente

porosos que facilitan el transporte de nutrientes a todas las capas que la conforman (Valdivia, 2005).

Las sustancias poliméricas extracelulares (SPE), también denominadas exopolímeros o biopolímeros, producidas por los microorganismos, ayudan en la adhesión microbiana en los soportes. Están compuestas por polisacáridos que representan más del 65% del material extracelular, proteínas (1-60%), lípidos (1-40%) y ácidos nucleicos (1-10%) (Flemming y Wingender, 2001). Dependiendo de las especies involucradas, las microcolonias pueden estar compuestas por apenas el 10 a 25% de microorganismos y del 75 a 90% de la matriz polimérica (Costerton, 1999).

La formación de biopelículas puede ser descrita a través de cuatro etapas:

1. La formación de biopelículas inicia con una adhesión de un pequeño número de células libres en la superficie sólida.
2. Las células fijas se alimentan de los nutrientes presentes en la fase líquida, creciendo y reproduciéndose, conjuntamente con la producción de exopolímeros.
3. Las células dispersas y el material particulado, presentes en el medio líquido, se adhieren a la biopelícula.
4. Ocurren pérdidas de material celular individual (erosión) y de agregados mayores.

La formación de la biopelícula ejerce un papel importante que se refleja en la estructura y en las propiedades físico-químicas de la biopelícula. Las propiedades de la biopelícula son influenciadas por el tipo de sustrato disponible, la concentración inicial, la morfología de las células y las condiciones físico químicas (Lazarova *et al.*, 1995). Se ha visto, por ejemplo, que las biopelículas más rígidas y homogéneas, son obtenidas en presencia de grandes fuerzas de cizalla.

La etapa de crecimiento de la biopelícula está influenciada por las condiciones hidrodinámicas y por las cargas orgánicas aplicadas. Los agregados microbianos formados normalmente son densos y el transporte de solutos del medio líquido hacia los microorganismos es lento (Stewart, 2003). Se ha visto que puede ocurrir una estratificación microbiana en la biopelícula favoreciendo la distribución de las bacterias con crecimiento más acelerado en las capas superiores y las de crecimiento más lento al interior de la biopelícula. Algunos estudios reportan que la biopelícula adherida a los soportes es más gruesa a medida que pasa el tiempo y la transferencia de oxígeno disuelto al interior de la biopelícula va disminuyendo; por lo tanto, la capa exterior de la biopelícula será aerobia dando paso a la nitrificación y la capa interior de la biopelícula es anóxica/anaerobia dando como resultado el proceso de desnitrificación (Yang *et al.*, 2009, 2010); este fenómeno refleja incrementos en las eficiencias de remoción del NTK. El espesor de la biopelícula (profundidad de la biopelícula en que los sustratos penetran) en el proceso de MBBR varía entre 0.1 y 1 mm y se recomienda que sea menor a 100 μm , para que la transferencia de masa sea completa (Andreottola *et al.*, 2002; Ødegaard *et al.*, 2006).

La etapa de desprendimiento de la biopelícula es un fenómeno aleatorio, siendo caracterizada por fenómenos como la muerte de microorganismos en las capas más

profundas de la biopelícula y por las fuerzas de cizallamiento debido a la hidrodinámica en los sistemas MBBR. Otro fenómeno que puede ocurrir, es la presencia de metazoarios, como los rotíferos, que provocan un desprendimiento de la biopelícula del soporte y, consecuentemente, la liberación de sólidos suspendidos.

Los microorganismos que se desarrollan adheridos a una superficie se ven menos afectados por las alteraciones en las condiciones ambientales (temperatura, pH, concentración de nutrientes, productos metabólicos y sustancias tóxicas) que los microorganismos de crecimiento en suspensión debido a que si se presenta algún cambio en estos factores, la biopelícula le confiere estabilidad al proceso y se registran mínimos efectos en la comunidad microbiana (Valdivia, 2005).

4.1.1 Evaluación de la tecnología MBBR

Jahrem *et al.* (2002) evaluaron la eficiencia de un MBBR durante el tratamiento aerobio de un efluente proveniente de una industria del papel y celulosa, usando soportes Kaldnes K1 con una fracción de llenado del 58%. Comprobaron que el reactor operó de forma eficiente a condiciones termofílicas (55 °C), presentando remociones de DQO soluble entre el 60 y 65% a TRH entre 13 y 23 horas.

Hosseini y Borghei (2005) estudiaron el comportamiento de un MBBR durante el tratamiento de un efluente sintético que contenía fenol. Hubo variaciones en el TRH (24, 16, 12 y 8 h) y en las concentraciones de fenol (DQO de 200, 400, 620 y 800 mg/L). La fracción de llenado fue del 70%. Estos autores observaron que las eficiencias de remoción de DQO variaron entre el 70 y 98% dependiendo el TRH y concluyeron que los MBBR son resistentes cuando hay choques de carga.

Aygun *et al.* (2008) analizaron la remoción de DQO de un efluente sintético con cargas orgánicas variables (6 a 96 g DQO/m²d) y un TRH de 8 h. La fracción del llenado fue del 50% y usaron soportes Kaldnes K1. Las eficiencias de remoción variaron entre 45 y 95%, dependiendo de la carga orgánica aplicada, obteniendo la eficiencia más baja para la carga orgánica más alta. Los autores necesitaron de un mes para empezar a ver la adhesión y crecimiento de biopelícula en los soportes. También, mencionan que la cantidad de biomasa adherida a los soportes se incrementa con el aumento de la carga orgánica superficial.

Rusten *et al.* (1995) demostró que para alcanzar eficiencias de remoción de nitrógeno superiores al 95% se necesita trabajar con cargas orgánicas menores a 3 g DQO/m²d, cuando las cargas orgánicas aplicadas aumentan (4 y 12 g DQO/m²d) la eliminación de nitrógeno corresponde al 70%. Bassin *et al.* (2008) investigó la nitrificación de efluentes salinos en un MBBR y en un SBR a un TRH entre 12 y 48 h. La salinidad del efluente no afectó la nitrificación, pero la presencia de compuestos orgánicos recalcitrantes provocó una inhibición en el proceso.

Para el tratamiento de aguas residuales provenientes de refinerías, Johnson *et al.* (2000) evaluaron la utilización de un MBBR como un pretratamiento al sistema de lodos activados

ya existente en una refinería de petróleo y obtuvieron una eficiencia de remoción de DQO de aproximadamente el 62% y el aumento de la eficiencia de nitrificación en el sistema de lodos activados. El MBBR se comportó como un tanque de igualación para los sistemas subsiguientes.

Schneider *et al.* (2011) mostraron el desempeño de un MBBR en el tratamiento de un efluente de refinería de petróleo con posterior ozonización seguido de un tratamiento con una columna de carbón activado. El mejor desempeño del reactor fue con TRH de 6h. Las concentraciones medias de DQO y N-NH₃ en el efluente variaron entre 40 y 75 mg/L para (eficiencias de remoción de 69-89%) y entre 2 y 6 mg/L (eficiencias de remoción de 45-86%), respectivamente.

Dias *et al.* (2012) trataron aguas residuales provenientes de una refinería de petróleo en un MBBR, seguido de un filtro lento de arena y osmosis inversa. Se obtuvieron remociones de DQO de más del 90%, nitrógeno amoniacal del 75% y fenoles del 95% con un TRH de 9 h.

4.2 Reactores biológicos con membrana (MBR)

Los reactores biológicos de membranas (MBR) son una tecnología innovadora en el tratamiento de aguas residuales porque permiten cumplir con los requerimientos exigidos en las normas ambientales para la calidad y reutilización de los efluentes (Visvanathan *et al.*, 2000; Yang *et al.*, 2006). Actualmente existen más de 2000 plantas MBR instaladas en diversas partes del mundo y muchas otras en fase de proyecto o construcción (Judd, 2006). Los países en los que más se ha extendido esta tecnología son Japón (que cuenta aproximadamente con el 66% de los procesos a nivel mundial), Reino Unido, Francia, EE.UU, China, Alemania, Canadá y Corea del Sur.

El proceso MBR es una modificación del proceso de lodos activados en donde la separación sólido/líquido se lleva a cabo por una membrana de filtración, la cual permite separar del agua tratada los compuestos tales como sólidos en suspensión y microorganismos. Este módulo de membranas sustituye al sedimentador secundario que se emplea en el proceso de lodos activados. Las membranas empleadas en los MBR se sitúan generalmente entre los intervalos de micro y ultrafiltración, con un tamaño medio de poro entre 0.05 y 0.4 μm (Stephenson *et al.*, 2002; Judd, 2006; Le-Clech *et al.*, 2006).

Los MBR presentan dos configuraciones dependiendo de la disposición de las membranas. La primera configuración consiste en un reactor biológico con membranas externas (Figura 4.2a) en donde el licor mezclado es bombeado al módulo de membrana. En la segunda configuración, la membrana se encuentra sumergida en el reactor y el permeado se succiona directamente (Figura 4.2b). Los MBR con membranas sumergidas son más recomendados y usados debido a que se requiere menos espacio para su instalación y los costos de energía son menores, esta diferencia se atribuye a la ausencia de la bomba de recirculación usada en el módulo externo (Yamamoto *et al.*, 1989; Gander *et al.*, 2000; Stephenson *et al.*, 2000).

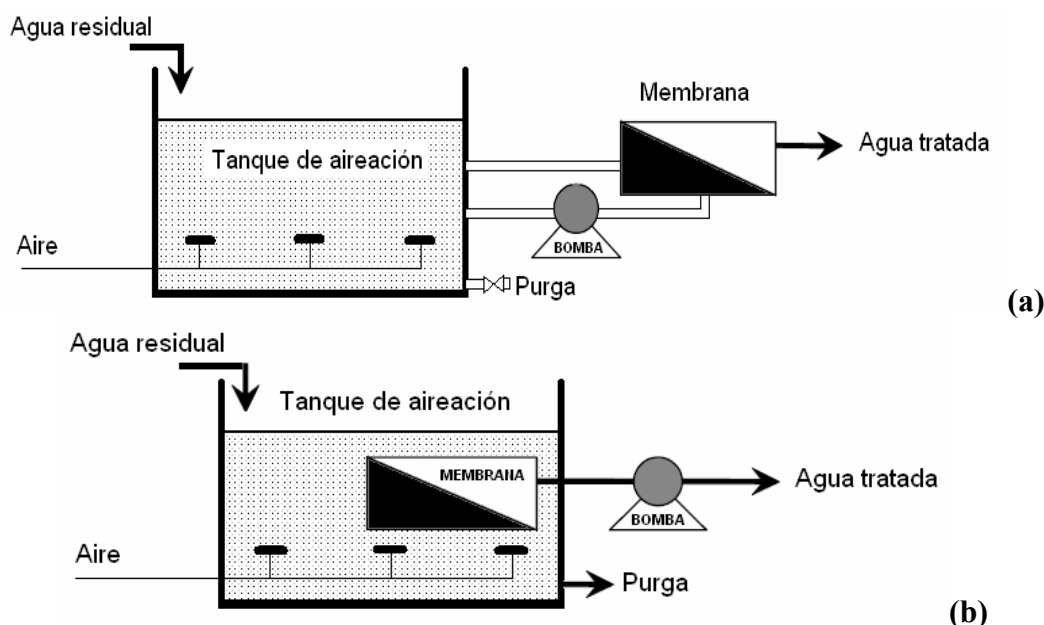


Figura 4.2 a) Reactor de membranas externas b) reactor de membranas internas

El funcionamiento general de los MBR consiste en la entrada del influente al reactor, el cual se pone en contacto con la biomasa dando lugar a las reacciones biológicas que permiten la degradación de la materia orgánica. Luego la mezcla es filtrada pasando a través de las paredes de la membrana a causa de una pequeña depresión producida por una bomba centrífuga. El agua filtrada se descarga del sistema mientras que la biomasa se devuelve al reactor. El exceso de lodos se bombea y se descarga con el fin de mantener una edad de lodos constante. Este ciclo se alterna con un retrolavado, en el que se invierte el sentido del flujo para forzar el paso del agua filtrada desde el interior al exterior de la membrana con el fin de limpiarla. Periódicamente, en función del grado de ensuciamiento, se realizan limpiezas químicas en las membranas mediante su inmersión en una solución química. Las configuraciones de las membranas más usadas en los MBR son membranas de fibra hueca, plana y tubular (Judd, 2006).

Se ha demostrado que los MBR presentan muchas ventajas en comparación con los procesos de lodos activados, como son la alta calidad del efluente, mínimo espacio requerido, menos producción de lodos y flexibilidad de operación (Visvanathan *et al.*, 2000). A continuación se detallan las ventajas y desventajas de los MBR.

Ventajas

- Eliminación del sedimentador secundario, reduciendo de este modo el espacio requerido para su instalación (Liang y Song, 2007).
- Son muy versátiles ya que se pueden adaptar a las plantas de lodos activados existentes, aumentando de esta forma las cargas orgánicas a tratar que pueden asumir las plantas actuales (Côté *et al.*, 2004).
- Menor producción de lodos como resultado de la elevada concentración de biomasa en el reactor. Operar a concentraciones altas de biomasa permiten la reducción del

tamaño de las unidades de tratamiento y por ende, la disminución de generación de lodo hasta 50% comparado con los lodos activos (Côté *et al.*, 1997).

- En los MBR, el tiempo de residencia celular (TRC) y el tiempo de residencia hidráulica (TRH) son independientes, favoreciendo así el desarrollo de microorganismos nitrificantes (Melin *et al.*, 2006). A un TRC alto se incrementa la concentración de lodos, aumentando la degradación de contaminantes.
- Obtención de efluentes de excelente calidad sin necesidad de un tratamiento terciario como es el caso del proceso de lodos activados ya que los sólidos y coloides presentes en el agua residual son eliminados a través de la membrana de filtración. El efluente queda prácticamente libre de microorganismos presentando además valores bajos de DQO, DBO₅, nitrógeno, fósforo y algunas sustancias consideradas disruptores endocrinos como los bifenoles (Liang y Song, 2007; Spring *et al.*, 2007) lo que permite su descarga directamente en cuerpos de agua superficiales o para reúso.
- El uso de la membrana evita problemas de crecimiento de los lodos filamentosos y desgasificación de lodos, proporcionando un control óptimo del tiempo de residencia de los microorganismos (Stephenson *et al.*, 2000).
- La distribución del tamaño de los flóculos en los sistemas MBR es menor (3-40 µm) que los flóculos de los lodos activados (70-300 µm), estimulando una alta actividad microbiana en el sistema que contribuye a una mejor remoción de material orgánico (Ng y Hermanowicz, 2005).
- Son aptos tanto para tratamiento de aguas residuales municipales como para el tratamiento de efluentes industriales (Judd, 2006)

Desventajas

Como cualquier tecnología nueva, los sistemas MBR también presentan ciertos problemas en su instalación y mantenimiento. Las desventajas son:

- Se requiere mayores costos de capital y operación.
- El consumo de energía es alto debido a las altas presiones requeridas en el sistema; un estudio realizado por Judd y Jefferson (2003), demuestra que los consumos energéticos de los MBR con membranas sumergidas están entre 0.1 y 0.3 kWh por cada m³ de agua tratada y son similares a los de las plantas convencionales, mientras que los MBR externos demandan energía de 3.9 kWh/m³.
- Otra limitación es la posible acumulación en el biorreactor de compuestos inorgánicos no filtrables como metales pesados que a determinadas concentraciones pueden ser dañinos para la población bacteriana o afectar a la integridad de la membrana (Cicek *et al.*, 2001)
- Para la desnitrificación se requiere añadir un tanque anaerobio antes del tanque de aireación con recirculación convencional (Gander *et al.*, 2000).

4.2.1 Ensuciamiento de membranas

Una característica fundamental e inherente a cualquier proceso de membrana es el ensuciamiento de la membrana. Este factor, en el caso de los sistemas MBR ha limitado su comercialización porque se convierte en un problema que afecta el rendimiento del proceso y aumenta los costos de operación debido a las continuas limpiezas químicas que se tienen que hacer y que en un tiempo determinado reduce la vida media de la membrana (Chang *et al.*, 2002).

Por tal motivo, muchas investigaciones se han enfocado en estudiar las causas, características y métodos de ensuciamiento para así poder proponer modelos que puedan optimizar y reducir el ensuciamiento de las membranas en los sistemas MBR (Chang y Lee, 1998; Thomas *et al.*, 2000; Bouhabila *et al.*, 2001; Defrance y Jaffrin, 1999; Ognier *et al.*, 2002; Meng *et al.*, 2009 y 2010; Drews, 2010).

El ensuciamiento de la membrana se define como la acumulación de materia sobre y dentro de la membrana que provoca una reducción del flujo de permeado con el tiempo. Las causas del ensuciamiento dependen de muchos factores tales como deposición de partículas en la superficie de la membrana, adhesión de macromoléculas a la superficie de la membrana y taponamiento de los poros por la adsorción de materia disuelta.

Existen tres tipos de ensuciamiento de membrana:

- **Ensuciamiento reversible-externo:** Causado por la formación de una capa de torta en la superficie de la membrana y puede ser atacado por una técnica simple de lavado.
- **Ensuciamiento irreversible-interno:** Provocado por la adsorción de componentes orgánicos dentro de los poros (bioensuciamiento). Se necesita una limpieza química combinada con retrolavados para atacarlo. El ensuciamiento por adsorción es parcialmente reversible dependiendo de la fuerza de adhesión de las partículas y del lavado físico.
- **Ensuciamiento irrecuperable:** Se presenta cuando la permeabilidad de la membrana disminuye considerablemente por el deterioro que sufre por el uso de limpiezas químicas. En este tipo de ensuciamiento es necesario reemplazar la membrana.

Según Bourgeois *et al.* (2001), los mecanismos de ensuciamiento de membrana son:

Gel o Formación de la capa de torta: Es un caso extremo de concentración de polarización donde una gran cantidad de materia ha sido acumulada en la superficie de la membrana (Figura 4.3a). La concentración por polarización describe la tendencia del soluto a acumularse a un lado de la membrana, en el área del agua de rechazo, dando lugar a una zona donde la concentración del soluto es mayor.

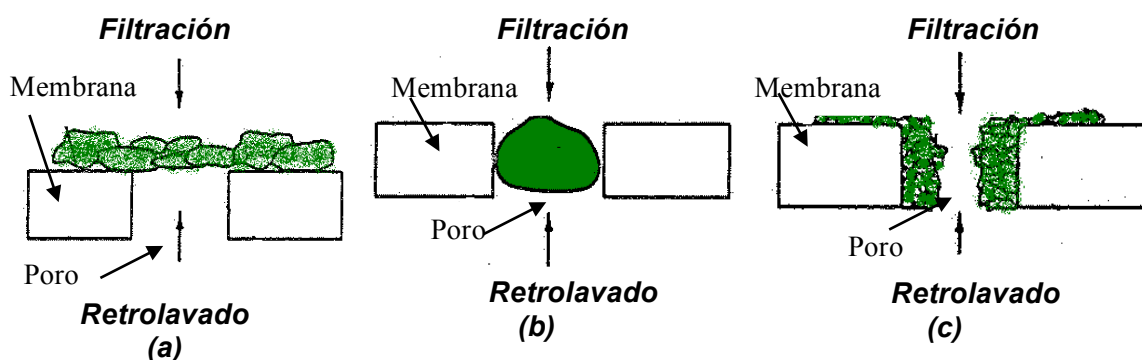


Figura 4.3 Mecanismos de ensuciamiento de membranas. (a) Formación capa de torta. (b) taponamiento de poros. (c) Reducción del tamaño de poro

Taponamiento de los poros: es causado por la inserción de macromoléculas orgánicas (EPS) dentro de los poros de la membrana y algunos metales que sirven como fijadores. Pequeñas bacterias también pueden contribuir a este factor (Figura 4.3b).

Reducción del tamaño de los poros: Algunos flocculantes, particularmente pequeñas bacterias y SPE solubles entran a los poros de la membrana y van formando una pared en el poro, provocando una reducción de la sección del área del poro y eventualmente incrementando la resistencia a la filtración (Figura 4.3c).

Aunque es difícil establecer una regla general sobre el ensuciamiento de membranas en los MBR, Chang *et al.* (2002) muestran que la naturaleza y el alcance del ensuciamiento están fuertemente influenciados por las características de la membrana (configuración, material, hidrofobicidad, porosidad y tamaño de poro), características de la biomasa (SSLM, SPE, estructura y tamaño de los flóculos, material disuelto) y condiciones de operación del sistema (configuración, aireación, TRH/TRC, PTM).

Se ha visto que las características de la biomasa, influyen considerablemente en el ensuciamiento de la membrana (Drews, 2010). Se ha reportado que la concentración de SSLM afecta directamente la resistencia de filtración de la membrana. Chang *et al.* (2002) demostraron que la resistencia de la membrana incrementa linealmente con la concentración de SSLM y Yamamoto *et al.* (1989) también reportó que el flujo disminuye abruptamente cuando la concentración de SSLM excede los 40 g/L en un sistema sumergido MBR.

Por otro lado, las sustancias poliméricas extracelulares (SPE) y los productos microbianos solubles (PMS), se consideran como un factor muy influyente en el fenómeno de ensuciamiento (Chang *et al.*, 2002). Las SPE representan la principal fracción soluble debido al metabolismo y lisis celular e incluyen a diferentes clases de macromoléculas como son las proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos, y fósfolípidos, así como otros compuestos que se encuentran en la superficie exterior de las células de los microorganismos del lodo y en los espacios intercelulares de los flóculos (Flemming, 2001). Las SPE pueden formar una matriz de gel altamente hidratada donde se embeben los

microorganismos, lo que puede ocasionar la aparición de barreras al flujo de permeado en los procesos de filtración con membrana. El concepto de ensuciamiento debido a los PMS es relativamente similar que el de las SPE. Los PMS son compuestos biodegradables que se liberan durante la lisis de la célula, la síntesis o son excretados por algún propósito (Laspidou *et al.*, 2002) y algunos autores consideran que son SPE solubles (Rosenberger *et al.*, 2005; Meng *et al.*, 2009). Durante la filtración los PMS se adsorben a la superficie y bloquean de forma progresiva los poros de la membrana o forman una estructura gelatinosa que constituye una posible fuente de nutriente para la biopelícula de microorganismos. Esto ocasiona una considerable resistencia hidráulica al flujo de permeado. En comparación a la distribución de tamaños, se ha encontrado para los PMS una distribución de pesos moleculares superiores a la medida para las SPE (Meng *et al.*, 2009).

Las condiciones de operación pueden influir en un aumento de la concentración de SPE en el licor mezclado. Entre ellas se encuentran, la concentración del sustrato, la aireación y la velocidad de carga del residual al sistema. Sin embargo, la variable más influyente es el tiempo de residencia celular o edad del lodo. Los MBR trabajan a edades mayores de lodos. Para valores elevados (30-100 días) puede observarse una mayor acumulación de las SPE y un aumento de la viscosidad del lodo. Estudios recientes han demostrado que edades mayores de lodo conllevan a un mayor requerimiento de aireación para lograr una adecuada limpieza de la membrana, por lo cual evidencia indirectamente el aumento del nivel de colmatación de la membrana producto de la capa gel/torta que es la que tiende a eliminarse con aire y donde se concentran gran parte de las SPE.

4.2.2 Aplicación de los sistemas MBR

Los sistemas MBR pueden trabajar tanto en condiciones aerobias como anaerobias. Los parámetros de diseño y operación para la selección del sistema dependen de la cantidad y tipo de contaminantes del influente, de la calidad del efluente que se desee obtener y del tipo comercial de MBR que se emplee. De acuerdo con la literatura, la mayoría de los sistemas MBR estudiados e instalados alrededor del mundo son de tipo aerobio. Los MBR se han utilizado con mucho éxito en el tratamiento aguas residuales domésticas e industriales, lográndose altas eficiencias en la remoción de contaminantes. En la tabla 4.1 se recopilan algunas eficiencias de remoción obtenidas en este tipo de reactores.

Para el tratamiento de aguas residuales de la industria del petróleo se han realizado estudios con MBR aerobios y anaerobios; sin embargo, en el caso específico de la remoción de hidrocarburos y fenoles se utilizan reactores aerobios (Scholz y Fuchs, 2000; Rahman y Al-Malack, 2006; Viero *et al.*, 2008) debido a que la degradación anaerobia de este tipo de compuestos es más lenta.

Tabla 4.1 Eficiencias de remoción para MBR reportadas por distintos autores

Parámetro	% de Remoción	Referencia
DBO	> 98%	Wen <i>et al.</i> , 2004
		Kishino <i>et al.</i> , 1996
DQO	98%	Al-Malack <i>et al.</i> , 2007
	99 %	Cicek <i>et al.</i> , 1999
N-NH ₄ ⁺	98%	Fan y Haung, 2002
	99%	Gao <i>et al.</i> , 2004
N _{Total}	99%	Trouve <i>et al.</i> 1994
SST	99%	Cicek <i>et al.</i> , 1999

Scholz y Fuchs (2000) utilizaron un bioreactor conectado a una unidad de ultrafiltración externa de flujo cruzado para el tratamiento de aguas residuales sintéticas con presencia de aceites lubricantes, aceites combustibles y surfactantes. Se trabajaron tiempos de residencia hidráulica de 7 a 14 h y cargas orgánicas entre 3-5 g/L.d. La concentración en el influente estuvo en el intervalo de 500-1000 mg/L en termino de hidrocarburos y la concentración de biomasa en el sistema se mantuvo por arriba de 48 g/L. Con este proceso, se obtuvieron eficiencias de remoción del 99.9% para los aceites y del 98% para los surfactantes con tiempo de residencia hidráulica de 13.3 h. También, se obtuvieron eficiencias de remoción de DQO y COD entre el 94 y 96%. Debido a las altas eficiencias de remoción de contaminantes aceitosos y a la retención completa de solidos en suspensión por la membrana de filtración, la calidad del efluente fue buena lo que posibilita su reúso en el proceso industrial. Estos mismos autores, realizaron una comparación de los parámetros de operación y desempeño entre un reactor de lodos activados convencional y un reactor biológico de membrana para tratar aguas residuales de refinería (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Comparación de los parámetros de operación y desempeño entre un reactor de lodos activados convencional y un MBR para tratar aguas residuales de refinería

Parámetro	Reactor biológico de membrana (MBR)	Sistema de lodos convencionales
Carga orgánica (kg DQO/kg SSVLM.d)	0.6-0.8	0.15-0.30
Carga orgánica volumétrica (kg DQO/m ³ .d)	8.6-12.9	0.75-1.0
Concentración de lodos (kg/m ³)	15-25	3-5
Relación DQO/N/P	100/0.75/0.09	100/1.7/0.3
pH	7-7.8	7.3-7.8
Eficiencia de remoción DQO (%)	97	82
Eficiencia de remoción aceites (%)	99.9	82

(Modificada de Scholz y Fuchs, 2000)

Seo *et al.* (1997) investigaron el tratamiento de agua residual proveniente de una industria petrolera. El sistema trabajó a un TRH de 3.67 días y un TRC de 300 días. La eficiencia de remoción de DQO fue mayor al 95%. La remoción de sustancias aceitosas fue de 76.1% resultando en promedio una concentración en el efluente de 4.4 mg/L. La concentración de sólidos suspendidos en el licor mezclado incremento gradualmente hasta alcanzar concentraciones de 2000 mg/L, que corresponde al doble de la concentración inicial de los sólidos suspendidos. A los 7 días de operación se realizó una limpieza a la membrana debido a que flux disminuyó a 2 L/m².h.

Qin *et al.* (2007) investigaron el tratamiento de agua residual de un petroquímica usando un MBR sumergido anóxico/aerobio a escala laboratorio. Usaron membranas planas de microfiltración y realizaron ensayos a diferentes tiempos de residencia hidráulico (TRH) y flux de membrana. Las mejores condiciones de operación fueron TRH=13 h y un flux de 12.5 L/m²h.

Rahman y Al-Malack (2006) usaron un MBR de flujo horizontal continuo con membrana externa a escala laboratorio (20 L) para tratar agua residual de una refinería de petróleo que contenía 160 g/L de petróleo y DQO entre 370 y 2,300g/L. Se manejaron 3 periodos de operación (Carga másica del influente_{1,2,3} = 42.75, 40.78, 35.86 g/d; TRH_{1,2,3} = 17, 22, 34 h; vel. Horizontal = 3.24, 2.69, 2.21 m/s; SSLM= 5000 mg/L). Los resultados muestran eficiencias de remoción de DQO mayores al 93%. Se utilizó limpieza química de la membrana con detergente ácido seguido de retrolavado.

Viero *et al.* (2008) observo el comportamiento de un MBR continuo con membrana sumergida a escala laboratorio usando diferentes tipos de agua residual de refinerías: agua residual del proceso de desalación del petróleo, agua ácida obtenida de las unidades de craqueo catalítico y agua drenada de los tanques de almacenamiento de petróleo crudo. Las condiciones de operación fueron Qaire = 2.5 L/min, TRH= 10 h, T= 25 °C, Tiempo filtración: 5 min, Tiempo retrolavado: 6.25 min, flux de permeado=15-17 L/m²-h-bar. Los autores observaron buenas eficiencias de remoción de materia orgánica, representadas por resultados de DQO y COT considerando la complejidad del efluente procesado. Las eficiencias de remoción de fenol fueron superiores al 99.3% y los autores concluyeron que los polisacáridos ocasionan un fuerte ensuciamiento de la membrana.

Barrios-Martínez *et al.* (2006) evaluaron el comportamiento de un reactor biológico de membranas usando biomasa aclimatada durante el tratamiento de agua residual sintética que contenía altas concentraciones de fenol (~1000mg/ L). Los autores reportaron la remoción del 100% de fenoles, los cuales no se registraron en el permeado.

Marrot *et al.* (2006) estudiaron la adaptación de un consorcio microbiano en un reactor biológico siendo el fenol la única fuente de sustrato. Los resultados de los experimentos muestran que es posible tratar efluentes con altas concentraciones de fenol (hasta 1g/L). La degradación de fenol fue superior al 80% durante todos los experimentos a un TRH de 6h.

Torres *et al.* (2008) presentaron un estudio donde evaluaron el desempeño de reactores biológicos con membranas poliméricas de microfiltración sumergida a escala piloto para el tratamiento de aguas residuales de refinерías. Usaron dos tipos de membrana: plana y de fibra hueca. Las unidades tuvieron una capacidad hidráulica entre 0.5 -20 m³/h y un área de 60-70 m², permitiendo operar con flux de permeado de 7-30 L/m²h. Los resultados obtenidos muestran que los dos MBR obtuvieron un efluente con turbiedad < 1 UNT DBO₅ < 5mg/L y N-NH₃ < 3mg/L, correspondientes a 98, 97 y 96% de remoción respectivamente.

Los sistemas MBR anaerobios son utilizados para el tratamiento de aguas residuales urbanas que contienen principalmente sustancias solubles y biodegradables (Harada *et al.*, 1994). Presentan una tasa de crecimiento lento de microorganismos por lo que requieren tiempos de residencia más largos para alcanzar la misma efectividad de depuración que los MBR aerobios. La configuración del módulo de membranas es externo por lo que necesitan una alta tasa de recirculación de agua. La principal desventaja es que presentan un mayor ensuciamiento de membranas generado por las sustancias orgánicas e inorgánicas como la estruvita que afecta la efectividad del sistema aumentando los costos de operación.

4.3 Reactores de biopelícula acoplados a una membrana de filtración (MBMBR)

Hoy en día, el propósito principal del tratamiento de aguas residuales es obtener efluentes de excelente calidad en plantas compactas de bajo costo y que puedan manejar grandes volúmenes de agua. Una alternativa para lograr este propósito es combinar un reactor de biopelícula de lecho móvil (MBBR) con una membrana de filtración, dando como resultado un proceso más compacto y eficiente, conocido como MBMBR (por sus siglas en inglés, *Moving Bed Membrane Bioreactor*).

Las primeras investigaciones sobre los MBMBR se reportan a inicios del año 2000 y 2001 en Noruega (Leiknes y Ødegaard, 2001; Lee *et al.*, 2001) y se desarrollaron como una alternativa para disminuir el ensuciamiento de la membrana que se presenta en los procesos MBR convencionales (Phattaranawik y Leiknes, 2010, 2011).

El proceso MBMBR consiste en dos etapas (Figura 4.4). En la primera etapa se lleva a cabo la degradación de la materia orgánica biodegradable del agua residual por el crecimiento de biomasa en pequeños soportes plásticos que se mueven libremente dentro del reactor. La segunda etapa consiste en una membrana de filtración sumergida que separa la biomasa, partículas y material coloidal del efluente (Ivanovic *et al.*, 2006; Leiknes y Ødegaard, 2007). El reactor dispone de difusores de aire en la parte inferior para proporcionar el oxígeno necesario para la biomasa y el movimiento de los soportes dentro del sistema.

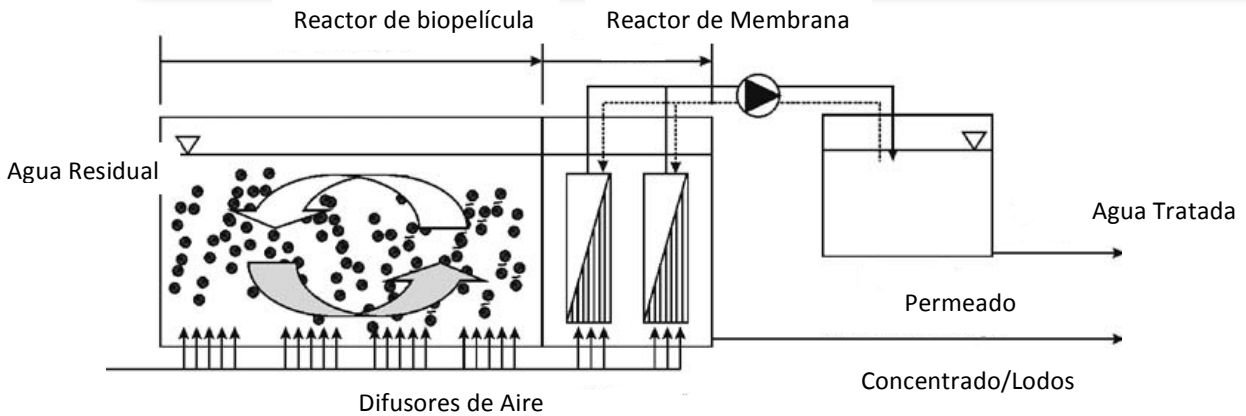


Figura 4.4 Diagrama Esquemático del Proceso MBMBR
(Modificado de Leiknes y Ødegaard, 2007)

Aunque la literatura sobre los MBMBR es aún limitada, las ventajas y desventajas que ofrecen este tipo de reactores son las siguientes (Lee *et al.*, 2006; Ivanovic *et al.*, 2006; Leiknes y Ødegaard, 2007, Yang *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010, Guo *et al.*, 2010; Phattaranawik y Leiknes, 2010):

Ventajas:

- En comparación con los sistemas de lodos activados, los MBMBR proporcionan una buena transferencia de oxígeno, tiempos de residencia hidráulica cortos, altas cargas orgánicas y altas tasas de nitrificación.
- La introducción de soportes proporciona un entorno adecuado para la existencia de zonas aerobias y anóxicas en el interior del reactor, permitiendo llevar a cabo el fenómeno de nitrificación y desnitrificación simultáneamente.
- Menor cantidad de lodos generados en comparación con el sistema de lodos activados y un reactor biológico con membrana convencional. La concentración de sólidos suspendidos en los MBMBR oscila en el rango de 0.45-1.1 g/L (Melin *et al.*, 2005; Ahl *et al.*, 2006) dependiendo de la carga orgánica aplicada mientras que en los MBR se han reportado concentraciones de SSLM entre 10 y 15 g/L (Le-Clech *et al.*, 2006).
- Reducción en la tasa de ensuciamiento de la membrana comparado con un sistema tradicional MBR.
- Reducción del consumo de energía por la baja viscosidad de los sólidos suspendidos y requieren de poco espacio para su instalación.
- Producen efluentes de alta calidad para ser reutilizarlos.

Desventajas:

- Aumento de bacterias filamentosas que ocasionan mala sedimentabilidad de lodos.
- Aumento de la cantidad de partículas submicrométricas que deben ser controladas para evitar un mayor ensuciamiento de la membrana.
- Aumento de las SPE, que genera la necesidad de más retrolavados o limpiezas químicas de la membrana.

4.3.1 Eficiencia del tratamiento

Las investigaciones sobre el desempeño de los MBMBR se ha centrado en el tratamiento de aguas residuales sintéticas con estudios muy limitados usando aguas residuales municipales; por tal motivo, las diferentes configuraciones y condiciones de operación varían en gran medida y aún necesitan ser investigadas para mejorar el proceso y mitigar el ensuciamiento de la membrana.

Leiknes y Ødegaard (2001) investigaron el desempeño de un MBMBR durante el tratamiento de un agua residual municipal. La biodegradación de la materia orgánica se llevó a cabo en el reactor de biopelícula mientras que la separación de la biomasa se realizó a través de un coagulante y una membrana de microfiltración (fibra hueca) a un flux constante de $60 \text{ L/m}^2 \cdot \text{h}$. La carga orgánica aplicada varió entre 30 y $45 \text{ kg DQO/m}^3 \cdot \text{d}$ con un TRH de 20-30 min. Los resultados mostraron una eficiencia de remoción de DQO de 85-90% y una alta calidad de permeado ($<5 \text{ mg SS/L}$; turbiedad $<1 \text{ UNT}$). Los autores concluyeron que los MBMBR pueden trabajar a cargas volumétricas más altas (10-15 veces) y TRH más cortos (10-30 veces) que los reactores biológicos con membranas.

Lee *et al.* (2001) compararon el rendimiento de filtración entre un sistema de biomasa en suspensión con un sistema de biomasa adherida en un reactor biológico con membrana sumergida bajo condiciones de operación simultáneas. Los reactores fueron alimentados con agua sintética, empleando membranas de fibra hueca con un tamaño de poro de $0.1 \mu\text{m}$ y un flux constante de $25 \text{ L/m}^2 \cdot \text{h}$. Para el crecimiento de biomasa adherida en el MBR, se usó el soporte BioMatrix con un área de superficie de 4.37 m^2 . El rendimiento fue determinado por las características de filtración y la calidad del agua tratada. Las eficiencias de remoción de ambos reactores fueron cercanas al 98% de DQO y 95% de N-NH_4 operando a un TRH de 8h. Con respecto a las características de filtración, el sistema de biomasa adherida presentó una tasa de ensuciamiento siete veces mayor que el sistema de biomasa en suspensión a pesar de que este último, registró una concentración de SS 30 veces más alta. Según los autores, este comportamiento se atribuyó a que la alta concentración de SSLM en el reactor de biomasa suspendida propició la formación de una capa dinámica sobre la superficie de la membrana que la protegió de coloides y compuestos orgánicos solubles. Ambos reactores presentaron composiciones y cantidades similares de EPS, lo que significa que la única diferencia entre los dos sistemas fue la concentración de SS.

Melin *et al.* (2005) operaron dos MBMBR en paralelo con diferentes THR, usando membranas de fibra hueca con corte de 30 kDa. Los reactores fueron alimentados con agua residual municipal mezclada con acetato de sodio. Las cargas orgánicas aplicadas variaron entre el intervalo de 4.1 y $26.6 \text{ g DQO/m}^2 \cdot \text{d}$, que correspondieron a bajas y altas cargas. El TRH fue de 45 min y 4 h. La presión transmembrana fue muy sensible a las variaciones de flux ($3.3 - 5.6 \text{ L/m}^2 \cdot \text{h}$). La fracción de llenado fue del 70 % usando soportes Kaldnes-K1. Los autores no encontraron diferencias significativas en las tasas de ensuciamiento con respecto a las bajas y altas cargas orgánicas aplicadas. Se presentaron diferencias en la concentración de SS y sedimentación de los lodos. Concluyeron que la alta concentración

de SS y un aumento de partículas en el sistema a cargas altas pudieron haber formado una capa taponante en la membrana en un tiempo más corto en comparación con los resultados a bajas cargas aplicadas.

Lee *et al.* (2006) sumergieron una membrana de fibra hueca en un reactor MBBR usando como soportes cubos de poliuretano recubiertos con carbón activado. El TRH fue de 10 h y el TRC de 10 días. La membrana estuvo en contacto directo con los soportes y el flux se mantuvo en 30 L/m².h. Se observó que al incrementar el flujo de aire (9 L/min) y la fracción de llenado con los soportes (hasta 20%), la tasa de ensuciamiento disminuyó y la concentración de SPE no varió a lo largo de los experimentos. Sin embargo, el tamaño de partícula aumento afectando ligeramente el desempeño de la membrana. Los autores también observaron que la colisión de los soportes con la superficie de la membrana incrementaban las fuerzas de fricción proporcionando la abrasión de la capa de la torta de la membrana, disminuyendo del ensuciamiento.

Sombatsompop *et al.* (2006) reportaron un mayor ensuciamiento en un reactor MBMBR que en un MBR. Ellos evaluaron el efecto del TRH sobre 3 reactores: un MBR, un MBMBR usando soportes fijos y un MBMBR con soportes en suspensión. Los experimentos se llevaron a cabo con iguales concentraciones de SS. Los resultados mostraron un mejor rendimiento con respecto a eliminación de la DQO en el MBMBR con soportes suspendidos, pero presentó un mayor potencial de ensuciamiento para todos los TRH aplicados en comparación con el MBR. La cantidad y composición de SPE y PMS en los reactores fueron similares. En un segundo experimento, mostró que el MBR presentó una tasa de ensuciamiento más elevado que los MBMBR.

Leiknes y Ødegaard (2007), operaron un MBMBR alimentado con agua municipal a bajas y altas cargas orgánicas (2 - 8 kg/m³d) y TRH menores a 4 h. El flux de la membrana fue de 50 L/m².h, alcanzado altas eficiencias de remoción independiente de las variaciones de carga aplicadas. El reactor presentó una baja tasa de ensuciamiento de la membrana, siendo las partículas coloidales (tamaño submicrón) las principales causantes de dicho ensuciamiento, y sugiriendo que la fracción de materia orgánica por debajo de 1.2 µm es un agente importante en el ensuciamiento de los MBMBR. Los autores concluyeron que los MBMBR presentan un mejor desempeño debido a que el uso de soportes ayuda a mantener una alta concentración de biomasa activa y reduce la formación de la capa taponante en la superficie de las membranas en comparación con los MBR convencionales que son operados a cargas volumétricas de 1-3 kg DQO/m³d, TRH entre 4 y 10 h y flux de 15-25 LHM.

Yang *et al.* (2009) compararon la capacidad de tratamiento de un reactor de biopelícula acoplado a una membrana (MBMBR) con un reactor convencional MBR. Ambos reactores mostraron altas remociones de materia orgánica y de nitrógeno. La tasa de ensuciamiento fue mayor en el MBMBR debido a la alta concentración de SPE y presencia de bacterias filamentosas.

Sun *et al.*, (2010) operó un sistema de biopelícula-MBR para tratar agua residual semi-sintética proveniente de los barcos, utilizando membranas cerámicas de fibra hueca acopladas en una configuración externa. Los parámetros de operación, tales como TRH, concentración de aceite en el influente, carga orgánica y salinidad del influente fueron evaluados. Se encontró una buena calidad de permeabilidad de la membrana cuando las concentraciones de aceite eran <5 mg/L. Se presentó un rendimiento significativo del sistema y una mejor calidad del permeado cuando se hizo una recirculación del concentrado al MBBR.

La Tabla 4.3 muestra un resumen de las condiciones de operación y de rendimiento de algunos de los estudios mencionados anteriormente. El influente a tratar es agua sintética en la mayoría de los casos. La DQO de los efluentes estuvo por debajo de 30 mg/L y el amonio en la mayoría de los casos ya no fue detectado. Hasta el momento no se han reportado estudios que utilicen el sistema MBMBR para tratamiento de aguas reales industriales. Se observa que las condiciones de funcionamiento y criterios de diseño son diferentes y necesitan ser investigados más a fondo para reducir al mínimo el ensuciamiento de la membrana.

Tabla 4.3 Compilación de las condiciones de operación y rendimiento de reactores MBMBR

	<i>Sun et al., 2010</i>	<i>Yang et al., 2009</i>	<i>Leiknes y Ødegaard, 2007</i>	<i>Lee et al., 2006</i>	<i>Lee et al., 2001</i>
Tipo de agua	Agua residual de barcos	Sintética	Municipal	Sintética	Sintética
Influente DQO (mg/L)	89.2 - 454	384 – 810	157 - 312	1,000	250
Efluente DQO (mg/L)	27.3 -44.2	N.D.	22.8-42-3	< 20	3-5
TRH	4-8 h	12 h	45-180 min	10 h	8
Flux (L/m²h)	13.5	6.25	20-60	25	25
Presión transmembrana (PTM)	0.04 bar	40 kPa	0.1-0.5 bar	< 30 kPa	26 kPa
Fracción de llenado (%)	66	-	70	5-20	-
Flujo de aire	-	0.15 m ³ /h	-	5-9 L/min	2.5 L/min
Biomasa adherida (mg/L)	-	662-1020	-	3900-4700	2000
Tamaño de poro y tipo de membrana	0.2 µm Cerámica	0.1 µm Fibra hueca	30kD Fibra Hueca	0.1 µm Fibra hueca polietileno	0.1 µm Fibra hueca
Tipo de soporte	Kaldnes K1	Soportes caseros	Kaldnes K1	Cubos de poliuretano	Biomatrix
Área superficial soportes (m²/m³)	-	900	350	35000	4.37 m ²
Área membrana (m²)	0.9	0.4 y 0.2	0.8	0.1	0.1

5. ESTRATEGÍA EXPERIMENTAL

En este capítulo se presentan los procedimientos llevados a cabo para la caracterización del agua desflemada y de los efluentes obtenidos a la salida de cada uno de los reactores biológicos empleados en este estudio. Además, se describe la estrategia empleada para la aclimatación de microorganismos y el modo de operación de los sistemas en discontinuo (SBR y MSBR) y en continuo (MBMBR y MBR). Por último, se detalla el procedimiento realizado para la identificación de las comunidades microbianas presentes en los sistemas por técnicas de ecología molecular y la determinación del ensuciamiento de la membrana.

5.1 Efluente industrial

Los efluentes utilizados fueron aguas desfleadas (AD) recolectadas a la salida de una torre agotadora de aguas amargas de dos refinerías de petróleo mexicanas: Refinería Ing. Antonio M. Amor (RIAMA) y Refinería Francisco A. Madero. En total se caracterizaron 6 lotes de AD, los cuales se utilizaron en diferentes etapas durante la realización de este estudio (Tabla 5.1). La frecuencia de recolección del agua desflemada fue variable debido a los regímenes de funcionamiento de los sistemas y del acceso a las refinerías de PEMEX.

Tabla 5.1 Distribución de los diferentes lotes de agua desflemada en este estudio

Refinería	Lote	Uso
Refinería Ing. Antonio M. Amor (RIAMA)	1	Montaje e implementación de técnicas analíticas
	2	Aclimatación de microorganismos
	3	Operación en discontinuo y en continuo etapa 1
Refinería Francisco A. Madero	4	Operación en continuo etapa 1
	5	Operación en continuo etapa 2
	6	Operación en continuo etapa 2

El agua recolectada fue almacenada en garrafones de 60 L y refrigerada a una temperatura de 4°C para su preservación.

5.2 Aclimatación de microorganismos

Con el objetivo de obtener un consorcio microbiano mixto capaz de degradar los contaminantes presentes en el agua desfleada y reducir el efecto inhibitor causado por dichos contaminantes (Moreno-Andrade, 2006), se realizó la aclimatación de microorganismos en un reactor por lotes con un volumen efectivo de 3 L.

El reactor fue inoculado con lodos activados provenientes de la planta de tratamiento de agua residual municipal Cerro de la Estrella de la Ciudad de México, con una concentración aproximada de 6 g SST/L.

Se utilizó la estrategia de eficiencias fijas (Moreno y Buitrón, 2004) por ciclos de 24 h. El reactor por lotes se alimentó con agua desfleada diluida con agua destilada a diferentes concentraciones (25, 50, 75 y 100 %V/V) y una solución de nutrientes necesaria para el crecimiento adecuado de la biomasa (Tabla 5.2).

Tabla 5.2 Medio mineral para la aclimatación de los microorganismos

Solución	Unidades	Cantidad (g/L)
Solución A	Fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4)	0.85
	Fosfato dibásico de potasio (K_2HPO_4)	2.175
	Fosfato dibásico de sodio dihidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	3.34
Solución B	Cloruro de amonio (NH_4Cl)	0.05
	Cloruro de calcio, anhidro (CaCl_2)	0.275
Solución C	Sulfato de magnesio heptahidratado ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.225
Solución D	Cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0.0025

(Fuente: Laboratorio Ingeniería Química Ambiental, Facultad de Química, UNAM)

Se realizaron pruebas de DQO, COD y fenoles en cada ciclo para evaluar la eficiencia de remoción del reactor. Los pasos de operación del reactor por lotes fueron: llenado (15 min), fase de reacción (23 h), sedimentación (30 min), vaciado (15 min). La concentración de agua desfleada se incrementó cuando las eficiencias de remoción de los parámetros anteriormente mencionados eran constantes por lo menos en tres ciclos lo que significa que se obtuvo un número variado de ciclos para cada concentración de agua desfleada. Una vez que los tiempos de degradación se estabilizaron y la actividad de los microorganismos ya no aumentó, se asumió que el proceso de aclimatación se había llevado a cabo satisfactoriamente.

5.3 Diseño, construcción y operación de los reactores SBR y MSBR

Se emplearon dos reactores biológicos discontinuos secuenciales (SBR) construidos en acrílico, con un volumen efectivo de 5 L cada uno. El primer reactor SBR corresponde al

reactor de biomasa suspendida ($\phi=15.2$ cm, $h=45$ cm) y el segundo reactor SBR al de biomasa adherida tipo MBBR (0.40 m x 0.20 m x 0.10 m) en donde se utilizaron soportes Kaldnes K1 (Figura 5.1a) para que se llevará a cabo la adhesión y formación de la biopelícula, este tipo de reactores se conocen como MSBR, por sus siglas en inglés *Moving-bed sequencing batch reactor* (Moussavi *et al.*, 2009). La densidad de los soportes fue de 0.95 g/cm³ y el área específica para el desarrollo de la biopelícula de 300 m²/m³, que corresponde a una fracción de llenado del 60% del volumen del reactor definido como el porcentaje del volumen del reactor ocupado por los soportes en el tanque vacío (Ødegaard, 2006). Algunos autores, recomiendan que este valor sea menor al 70%, con el fin de proporcionar un buen movimiento de los soportes, sin que se presenten problemas hidrodinámicos dentro del reactor (Rusten *et al.*, 2006). El área superficial expuesta para el crecimiento de microorganismos fue de 1.5 m².

Ambos reactores se inocularon con la biomasa previamente aclimatada y fueron alimentados con agua desflemada sin diluir para dar inicio al arranque en discontinuo por 24 horas durante 45 días. La forma de operación de los reactores SBR y MSBR fue: llenado (15 min), fase de reacción (23 h), sedimentación (25 min), vaciado (15 min), tiempo muerto (5 min). La aireación de los sistemas se realizó con aire comprimido por medio de un difusor poroso, el cual fue instalado en el centro de la base de cada reactor para permitir una buena distribución de las burbujas, asegurar una adecuada transferencia de oxígeno y proporcionar un buen movimiento de los soportes dentro del MSBR. El flujo de aire se mantuvo en 20 LPM (litros por minuto) en cada reactor, fue medido y controlado mediante un rotámetro Omega. Las condiciones de operación de los reactores se muestran en la tabla 5.3.

Tabla 5.3 Condiciones de operación de los reactores SBR

Parámetro	SBR	MSBR
Tiempo de reacción (h)	24	24
Temperatura (°C)	20	20
pH	6.7 ± 0.3	6.9 ± 0.3
Oxígeno Disuelto (mg/L)	3.4 ± 0.35	3.6 ± 0.3

Después de estabilizarse las eficiencias de remoción de DQO, COD y fenoles totales, se realizaron cuatro perfiles de degradación para realizar el análisis cinético en cada reactor. Se usaron diluciones de agua desflemada con agua destilada con concentraciones de 25, 50, 75 y 100 %. Para cada concentración se evaluó la capacidad de los microorganismos para degradar el tipo de sustrato al que fueron expuestos en un determinado tiempo. Se tomaron alícuotas (80 mL aprox.) cada 15 minutos durante la primera hora, posteriormente cada 30 minutos y finalmente cada hora para determinar los diferentes parámetros de respuesta en cada sistema. El tiempo de reacción de cada perfil finalizó cuando se obtuvieron valores constantes en la concentración de fenoles totales y DQO. Estos perfiles sirvieron para determinar el tiempo de residencia hidráulica necesario en la operación en continuo

Con los datos obtenidos se calcularon los coeficientes cinéticos usando la ecuación de Lineweaver-Burck descrita en el apartado 3.4:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{max}} \left(\frac{1}{S} \right) + \frac{1}{\mu_{max}} \text{ (Ecuación 1)}$$

Trazando los valores de $(1/\mu)$ vs $(1/S)$ en Prism 6 se obtuvieron las constantes cinéticas μ_{max} y K_s para cada reactor y se determinó el tipo de inhibición al que fueron sometidos los sistemas en discontinuo (Saboury, 2009).

5.4. Pretratamiento del agua desfleada

Debido a que el agua desfleada recolectada presentaba una concentración alta de grasas y aceites que podrían inhibir la actividad de los microorganismos, se realizó una separación por gravedad para minimizar este efecto antes de la operación en continuo de los reactores MBMBR y MBR. La separación se realizó en un tanque de 100 L por un tiempo aproximado de 12 h.

No obstante, dicho proceso no fue suficiente para remover considerablemente la concentración de las GyA debido a que los sistemas, principalmente el MBR, mostraron poca estabilidad frente a este fenómeno. Por tal motivo, fue necesario implementar un sistema de coagulación-floculación-filtración que permitió remover las grasas tanto emulsificadas como no emulsificadas del agua desfleada (Mijaylova *et al.*, 2002).

El segundo pretratamiento del agua desfleada utilizado consistió en 3 fases:

- **Sedimentación por gravedad:** se realizó en un tanque de 100 L por un tiempo aproximado de 6h.
- **Coagulación-Floculación:** Se realizó en un reactor por lotes con un volumen efectivo de 30 L al cual se le instaló una propela acoplada a un motoreductor. Como coagulante se utilizó una sal polimerizada de clorhidratos de aluminio PACHB que contiene 23-24% de alumina y 8-9% de cloruros; para el proceso de floculación se usó un polímero aniónico AN905VHM. Estos reactivos fueron proporcionados por la empresa SNF FLOERGER DE MÉXICO. Se realizó una prueba de jarras para determinar la dosis de coagulante y floculante de acuerdo a las recomendaciones del proveedor. De acuerdo a los resultados obtenidos en la prueba de jarras, se dosificaron 5 mL de una solución al 0.1% de coagulante catiónico y 2.5 mL de una solución al 0.1% de polímero aniónico, por cada litro de agua desfleada. El procedimiento de las muestras consistió en 1 min de mezcla rápida entre 150 y 200 r.p.m. después de adicionar el coagulante, con el fin de desestabilizar el aceite emulsificado. Posteriormente, se agregaba el floculante y la velocidad de agitación se reducía entre 60 y 80 rpm., durante 3 min. Al terminar la agitación, se dejaba

reposar la mezcla por un tiempo de 15 minutos para observar la formación de los flóculos.

- **Filtración:** Para retener los flóculos formados en el proceso de coagulación-floculación el agua se pasó por un filtro de arena.

La concentración de grasas y aceites en el agua desflemada se determinó de acuerdo a la norma mexicana NMX-AA-005-SCFI-2000 (SEMARNAT, 2000) usando un equipo de extracción Soxhlet.

5.5 Operación de los sistemas MBR y MBMBR

El dispositivo experimental empleado para el MBR se basó en el reactor de biomasa suspendida (SBR) al cual se le introdujo una membrana de filtración. Por otro lado, la configuración del sistema MBMBR se constituyó de dos fases separadas que consistían en el reactor de biopelícula de lecho móvil (MSBR) y un módulo de membrana de filtración. Según Sun *et al.* (2010) en los MBMBR la degradación de la materia orgánica se lleva a cabo en el reactor de biopelícula mientras que la separación de la biomasa, partículas y material coloidal del efluente se realiza a través de la membrana.

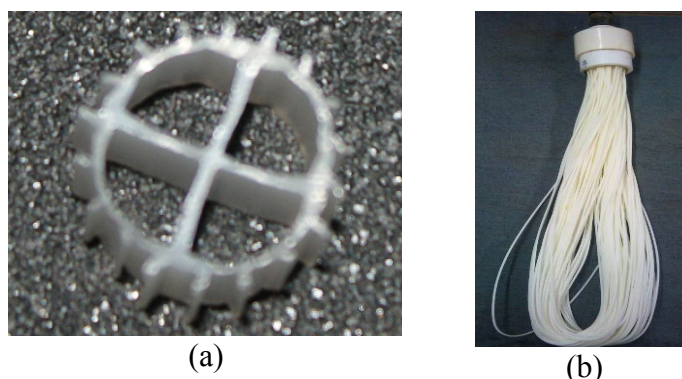


Figura 5.1 Materiales empleados en los reactores MBMBR y MBR (a) Kaldnes K1 (b) Membrana sumergida de ultrafiltración (Jofur S.A.)

Las membranas usadas en ambos sistemas fueron de fibra hueca de ultrafiltración (Figura 5.1b) fabricadas en fluoruro de polivinilideno (PVDF), con un área efectiva de 0.04 m^2 (Jofur S.A., China). Las especificaciones y condiciones de uso de las membranas se describen en el Anexo 1.

Con el fin de determinar si la concentración de grasas y aceites (GyA) que contenía el agua desflemada afectaba negativamente el desempeño de los reactores MBMBR y MBR, la operación en continuo se dividió en dos etapas:

- **Etapa 1:** Pretratamiento de agua desflemada por sedimentación por gravedad.
- **Etapa 2:** Pretratamiento de agua desflemada por procesos fisicoquímicos.

Para evaluar y comparar el funcionamiento de los reactores MBMBR y MBR durante la remoción de los contaminantes presentes en aguas residuales reales de refinerías, en cada etapa se implementó una estrategia experimental considerando la variación del tiempo de residencia hidráulica (TRH) y la carga orgánica volumétrica aplicada. Los sistemas operaron en continuo y en paralelo por un período de 105 días. Como se observa en la tabla 5.4, en cada reactor se llevaron a cabo seis experimentos con una duración de 15 días cada uno, a excepción del experimento II, el cual tuvo una duración de 30 días debido a que se presentaron problemas con el suministro del agua desflema.

Tabla 5.4 Condiciones de operación de los reactores MBR y MBMBR

Etapa	Experimento	Duración (días)	TRH (h)	Q (mL/min)	COV (kgDQO/m ³ d)
1	I	15	12	6.94	1.15
	II	30	9	9.26	1.54
	III	15	6	13.89	2.10
2	IV	15	6	13.89	0.73
	V	15	12	6.94	0.78
	VI	15	9	9.26	1.04

La figura 5.2 muestra los dispositivos experimentales usados en esta investigación.



Figura 5.2 Dispositivos experimentales correspondientes a la primera y segunda etapa de operación en continuo. (a) Etapa 1 (b) Etapa 2

5.5.1 Funcionamiento de los reactores

Etapa 1: La operación en continuo consistió en alimentar los reactores MBMBR y MBR con agua desflema por medio de una bomba peristáltica que tuvo un gasto variable entre 6.9 y 13.9 mL/min (1) dependiendo del tiempo de residencia hidráulica (6, 9 y 12 h) utilizado. El tratamiento del efluente se realizó a temperatura constante y el flujo de aire

para cada reactor fue de 20 LPM (litros por minuto) medido y controlado por un rotámetro (3). El agua tratada en ambos sistemas fue succionada a través de las membranas de ultrafiltración por medio de una bomba peristáltica (6) con un flujo entre 6.9 y 13.9 mL/min. La presión transmembrana se registró manualmente por medio de un manómetro (2) en cada sistema. Los dispositivos experimentales utilizados en esta etapa no contaron con ningún tipo de instrumentación como se observa en la figura 5.3.

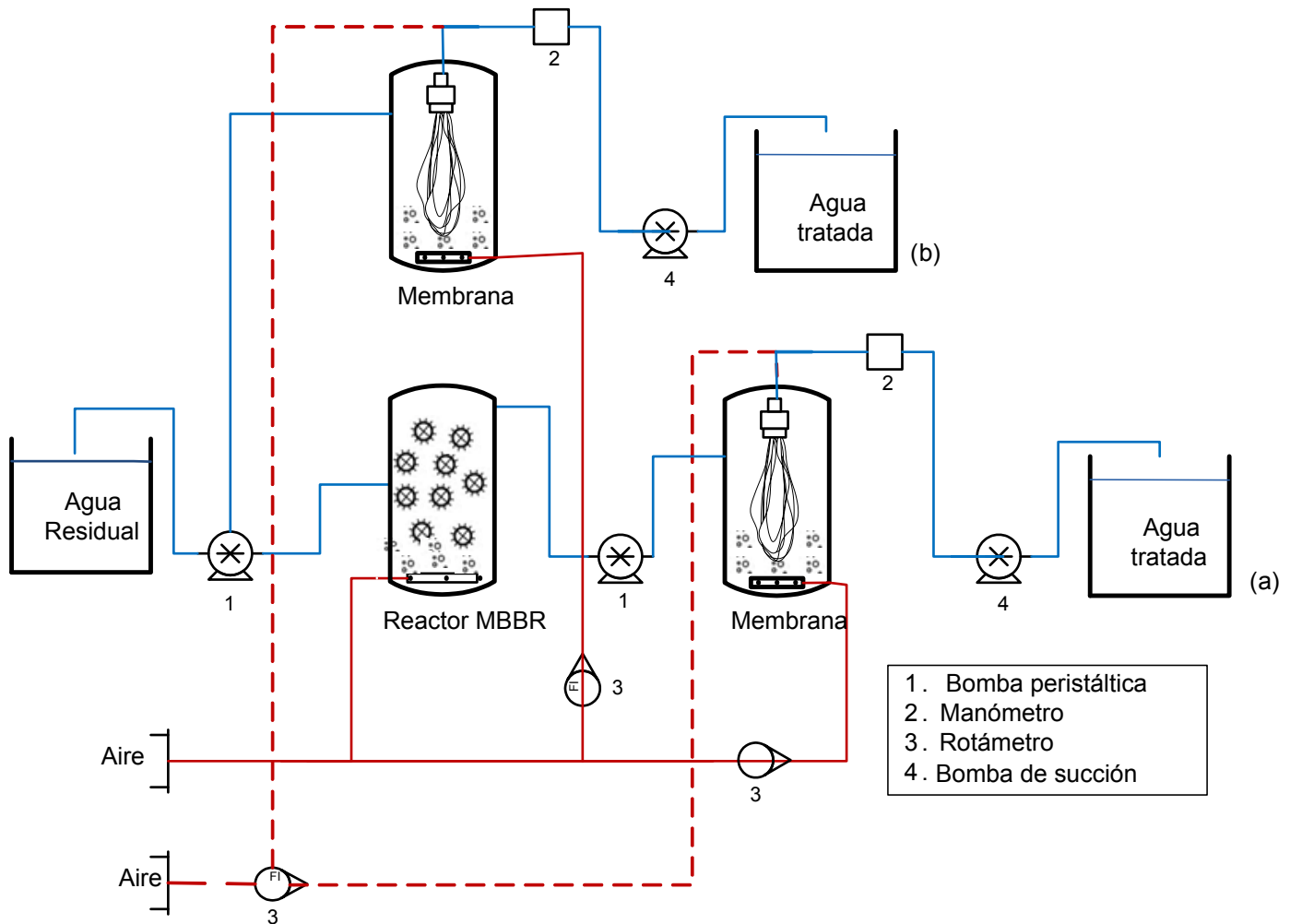


Figura 5.3 Esquema de los reactores biológicos sin instrumentación (Etapa 1)
(a) Reactor MBMBR (b) Reactor biológico de membrana MBR

Etapa 2: La alimentación del agua desflepada (1), la succión del agua tratada (6) y el suministro de flujo de aire (7) se realizó igual que en la etapa 1. En esta etapa los sistemas MBMBR y MBR contaron con instrumentación permitiendo un mejor control y registro de la presión transmembrana (PTM). La operación de la membrana en cada reactor incluyó tres ciclos: permeado, retrolavado y relajación. Durante el permeado, la válvula 4 se mantuvo abierta permitiendo el paso y la filtración del agua durante 24 horas; transcurrido este tiempo dicha válvula se cerraba y por 30 segundos se abría la válvula 5 para iniciar el

retrolavado con aire comprimido. Luego, las membranas en cada sistema contaron con un período de relajación por 10 segundos antes de iniciar nuevamente el ciclo de permeado. El desempeño de la membrana fue evaluado por los cambios en la permeabilidad a través del tiempo a flux constante, lo que significa que cuando se presentaba un aumento de la PTM se registraba una disminución en la permeabilidad de la membrana. La PTM se registró cada minuto mediante un transductor (3) conectado a una tarjeta de adquisición de datos de National Instruments. A la salida de cada reactor se instaló un flujómetro (8) para poder cuantificar el flux de la membrana. El esquema de los dispositivos experimentales utilizados en la segunda etapa se muestra en la figura 5.4.

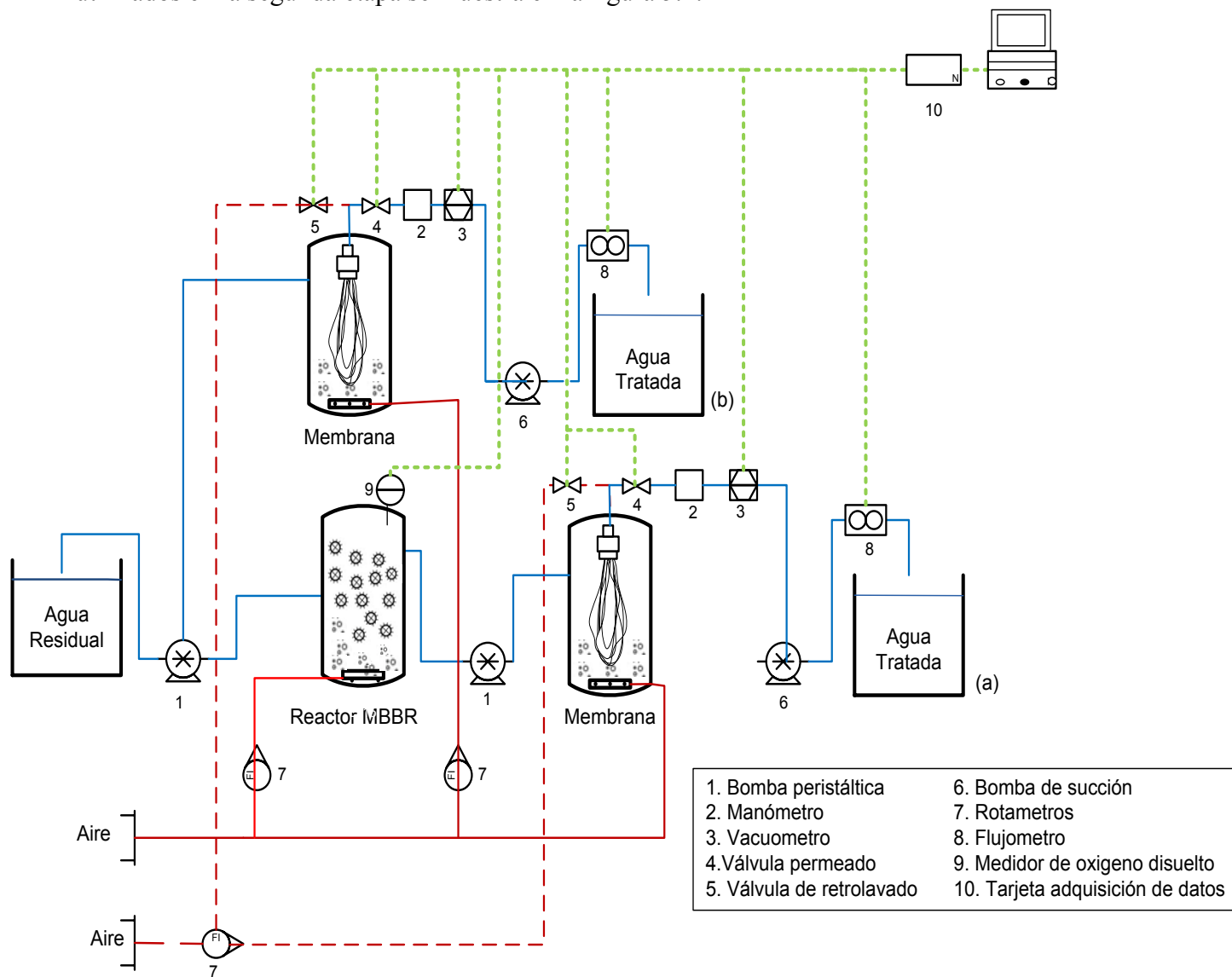


Figura 5.4 Esquema de los reactores biológicos con instrumentación (Etapa 2)
(a) Reactor MBMBR (b) Reactor biológico de membrana MBR

5.5.2 Monitoreo de los sistemas

Para determinar la eficiencia de remoción de los contaminantes presentes en el agua desfleada, se realizó un monitoreo de algunos parámetros indicativos de biodegradación tanto en el efluente como en la fase acuosa de cada uno de los reactores. La tabla 5.5 muestra los análisis realizados, el punto de muestreo y la frecuencia en que se ejecutaron.

Tabla 5.5 Parámetros de control y monitoreo en los reactores MBMBR y MBR

Parámetro	Punto de Muestreo	Período
DQO	E_{MBMBR} y E_{MBR}	Diario
COD	E_{MBMBR} y E_{MBR}	Diario
Fenoles Totales	E_{MBMBR} y E_{MBR}	Diario
N-NH ₃	E_{MBMBR} y E_{MBR}	3 veces por semana
Nitratos	E_{MBMBR} y E_{MBR}	3 veces por semana
NKT	E_{MBMBR} y E_{MBR}	3 veces por semana
Sulfuros	E_{MBMBR} y E_{MBR}	3 veces por semana
Sulfatos	E_{MBMBR} y E_{MBR}	3 veces por semana
Grasas y Aceites	E_{MBMBR} y E_{MBR}	Aleatoriamente
Dureza	E_{MBMBR} y E_{MBR}	Aleatoriamente
Turbiedad	E_{MBMBR} y E_{MBR}	Aleatoriamente
Oxígeno Disuelto	FA_{MBMBR}	Diario
pH	FA_{MBMBR} y MBR	Diario
SSTLM	FA_{MBMBR} y MBR	3 veces por semana
Observación microscópica	S, FA_{MBMBR} y MBR	Aleatoriamente
Masa seca de biomasa	B	2 veces por semana
Carbohidratos totales	FA_{MBMBR} y MBR , S	3 veces por semana
Proteínas totales	FA_{MBMBR} y MBR , S	3 veces por semana
Cromatografía HPLC	E_{MBMBR} y E_{MBR}	Aleatoriamente
Bioensayos de toxicidad	E_{MBMBR} y E_{MBR}	1 vez por experimento

(E) Efluente, (FA) Fase acuosa, (S) Soportes, (M) Membrana,

Tanto la operación de los reactores biológicos propuestos en este estudio como todas las técnicas analíticas empleadas para la caracterización del agua desfleada y del efluente obtenido a la salida de los reactores se llevaron a cabo en Laboratorio de Ingeniería Química Ambiental, de la Facultad de Química, UNAM. Las técnicas analíticas, métodos y equipos usados se mencionan en el Anexo 2.

Para determinar los compuestos fenólicos presentes tanto en el agua desfleada como en el efluente obtenido a la salida de los sistemas MBMBR y MBR se realizó un análisis de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en un cromatógrafo Waters (Serie Alliance, modelo e2695). El procedimiento consistió en separar los compuestos orgánicos a 30 °C utilizando una columna C₁₈ en fase reversa con un volumen de inyección de muestra de 50 µL. La fase móvil fue una mezcla de agua ultrapura (fase A) y metanol (fase B), con un

flujo de 0.75 mL/min. Se inició con un gradiente de 100 % de agua ultrapura, el cual cambió a 50 % de agua y 50 % de metanol al minuto 25. Después de 3 minutos, la composición de la fase móvil retornó a su valor inicial. La detección de los compuestos fenólicos se llevó a cabo a una longitud de onda de 254 nm usando un detector de diodos. La técnica se basó en el trabajo de Suárez (2006), quien reporta la presencia de diferentes intermediarios del fenol con tiempos de retención entre los minutos 10 y 13 y compuestos fenólicos a partir del minuto 16.

También, se realizaron bioensayos de toxicidad con el agua desfleada proveniente de las dos refinerías de petróleo a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%, pH=7) y con el agua tratada obtenida a la salida de los reactores MBMBR y MBR con el fin de evaluar el efecto de los contaminantes sobre la germinación de semillas *Lycopersicon esculentum* (jitomate). Se eligió esta técnica debido a que es de bajo costo, no requiere equipamiento sofisticado, es de fácil interpretación y proporciona respuestas rápidas y directas de las consecuencias de la contaminación; sin embargo, esta técnica no indica cuál compuesto es el responsable del efecto tóxico. La elección de las semillas *Lycopersicon esculentum* se debió a que este tipo de semillas al igual que *Lactuca sativa* (lechuga) presentan menor variación y son más sensibles a la toxicidad. A pesar de que este tipo de semillas no son una especie representativa de los ecosistemas acuáticos, la información generada a partir de los bioensayos de toxicidad proporcionan datos acerca del posible efecto de los contaminantes en las comunidades vegetales cercanas a los cuerpos de agua contaminados.

Según Sobrero y Ronco (2004), los bioensayos de toxicidad son una prueba estática de toxicidad del agua en la que se pueden evaluar los efectos fitotóxicos de compuestos puros o de mezclas complejas en el proceso de germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas (la radícula y el hipocótilo) durante los primeros días de crecimiento. Estos autores también mencionan que los bioensayos de toxicidad se han aplicado con mucho éxito para evaluar la toxicidad de aguas superficiales (lagos, ríos), aguas subterráneas, aguas para consumo humano, aguas residuales domésticas e industriales, además de lixiviados de suelos, sedimentos, lodos u otras matrices sólidas.

El procedimiento de los bioensayos de toxicidad consistió en colocar 10 semillas sobre una capa de algodón y una capa de papel filtro dentro de cajas de Petri, adicionándose 10 mL de cada una de las muestras. Posteriormente, estas cajas se colocaron en un urna oscura, a una temperatura de 20 ± 2 °C, durante 168 horas (7 días). Se prepararon 5 réplicas por cada muestra; para el control negativo se usaron 3 blancos de agua destilada y para observar la sensibilidad frente al compuesto tóxico de referencia se usó sulfato de zinc ($ZnSO_4$) como control positivo. Una vez transcurrido el tiempo de exposición, se cuantificó el número de semillas germinadas y el largo del hipocótilo y la radícula (Figura 5.5). Combinando el porcentaje de germinación de las semillas y el largo de las raíces se calculó el índice de inhibición de germinación (IG), relacionado principalmente con la evaluación del control positivo (agua destilada), como se describe en la ecuación 2.

$$IG (\%) = \frac{(Ga*La)}{(Gc*Lc)} * 100 \text{ (Ecuación 2)}$$

Donde: Ga= Número de semillas que germinaron en la muestra, adimensional
La= Longitud de elongación del hipocótilo en la muestra, mm
Gc= Número de semillas que no germinaron en control positivo, adimensional
Lc= Longitud de elongación del hipocótilo en control positivo, mm



Figura 5.5 Bioensayos de toxicidad a 25 y 100% de agua desfleada

A partir del IG para cada una de las soluciones, se evaluó la toxicidad aguda en términos de la CE_{50} (168 h) por interpolación lineal. Donde CE_{50} (168 h) es la concentración efectiva del agente tóxico que causa efecto agudo, expresado como la concentración que reduce en 50% el IG de las semillas en 168 h de exposición, se expresa en porcentaje.

Los efectos cuantificados sobre la elongación de la radícula o hipocótilo son efectos subletales mientras que la inhibición en la germinación puede considerarse como un efecto letal. Para determinar el efecto del agua desfleada sobre el desarrollo de las semillas de *Lycopodium esculentum*, se llevó a cabo un análisis de varianza de un sólo factor (concentración del agua desfleada).

Para emplear y utilizar los resultados de los bioensayos de toxicidad se emplean las unidades de toxicidad aguda (UTa), las cuales se utilizan como criterio base y se define como la inversa de la dilución del efluente que causa la respuesta aguda al finalizar el período de exposición de la especie. Se calcula mediante la expresión:

$$UTa = 100/CE_{50}$$

Tabla 5.6 Nivel de incidencia toxicológico

Nivel de Incidencia	Unidades Tóxicas
<i>No tóxico</i>	1
<i>Levemente tóxico</i>	>1-1.3
<i>Moderadamente tóxico</i>	>1.3-2
<i>Tóxico</i>	>2-4
<i>Muy tóxico</i>	>4

5.6 Cuantificación de la biomasa

Siguiendo la metodología descrita en el Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA 2005), se evaluaron dos veces por semana los sólidos suspendidos totales (SST) y los sólidos suspendidos volátiles (SSV) en el licor mezclado de los reactores de biomasa suspendida (SBR y MBR) para analizar el comportamiento de la biomasa y en los reactores de biomasa adherida (MBBR y MBMBR) para cuantificar el desprendimiento de la biopelícula.

Además, se cuantificó cada semana la biomasa seca adherida a los soportes en el reactor de biomasa adherida tanto en la operación en discontinuo como en continuo. Este procedimiento consistió en retirar un número determinado de soportes (cinco piezas) del reactor y secarlos en la estufa a una temperatura de 105 °C durante 1 hora, para posteriormente llevarlos a un desecador. Para calcular la concentración de biomasa adherida se obtuvo un valor promedio del peso de los soportes retirados y este valor se restó de un valor promedio del peso total de cinco soportes limpios. Sabiendo el número de soportes presentes en el reactor (1031 piezas) se multiplicó por el valor obtenido anteriormente y se dividió entre el área superficial total expuesta para el crecimiento de microorganismos (1.5 m²). Para saber si existía una variación en el peso de los soportes limpios, se pesaron individualmente diez piezas y la variación entre cada una fue de aproximadamente 0.0009 g, lo cual se considera insignificante.

Debido a que con la determinación de SST no se hace una distinción entre los microorganismos activos, masa inerte, exopolímeros y sustratos absorbidos, fue necesario calcular la concentración de proteínas y carbohidratos para tener una mejor cuantificación de la biopelícula presente en los soportes Kaldnes K1. Las técnicas analíticas utilizadas para determinar estos parámetros se muestran en la tabla 5.7 y anexo 3, se analizaron por medio de técnicas fotométricas.

Tabla 5.7 Técnicas analíticas para la determinación de SPE

Parámetro	Método	Referencia
Proteínas	Lowry	Lowry <i>et al.</i> , 1951
Carbohidratos	Fenol-Ácido sulfúrico	Dubois <i>et al.</i> , 1956

Para la segunda etapa de operación en continuo, se complementó la caracterización de la biomasa considerando la velocidad de sedimentación de los lodos (*VS*) y el índice

volumétrico de lodos (*IVL*). La velocidad de sedimentación ($VS_{30\text{min}}$) corresponde al volumen de lodo (mL) que sedimenta en un cono graduado (cono Imhoff) de un litro después de media hora de reposo. El índice volumétrico de lodos (*IVL*) es la relación entre la $VS_{30\text{min}}$ y su concentración de sólidos en el momento de la toma de la muestra.

5.7 Ensuciamiento de la membrana

Con el propósito de conocer el ensuciamiento de la membrana se determinaron las sustancias poliméricas extracelulares (*SPE*), tanto las solubles mejor conocidas como productos microbianos solubles (*PMS*) como las insolubles que se encuentran ligadas a los flóculos (sobrenadante) en cada reactor (*MBMBR* y *MBR*).

Los *SPE* y *PMS* se caracterizaron de acuerdo a la metodología propuesta por Le-Clech *et al.* (2006), donde se determinan carbohidratos y proteínas por las técnicas anteriormente descritas. Para el análisis de *EPS* en la biomasa fue necesario realizar un procedimiento de extracción que consistió en tomar una muestra de 50 mL de licor mezclado de cada reactor y centrifugar a 5,000 rpm durante 20 min para remover las *SPE* solubles de las *SPE* enlazadas al flóculo. Después de la recolección de las *SPE* solubles, el sobrenadante se lavó y se adicionaron 5 mL de NaOH (2N), después se centrifugó a 5,000 rpm durante 20 min. El sobrenadante se filtró sobre una membrana con tamaño de poro de 0.2 μm y se procedió a medir las proteínas y carbohidratos enlazados a los flóculos. Una vez finalizada la operación de los sistemas, se removió el módulo de membrana empleado en cada reactor y se almacenaron a 4°C para su posterior análisis.

La determinación del ensuciamiento de las membranas se realizó por medio de una técnica de visualización descrita por Wang *et al.* (2008), utilizando un microscopio electrónico de barrido (*MEB*), modelo JEOL 5900-LV con microanálisis EDS, de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (*USAI*) de la Facultad de Química, UNAM.

Para la disección de las membranas, se cortó una fibra en cuadrados de 1 cm y se fijaron con glutaraldehído al 2% durante 48 horas. Posteriormente, los cuadrados de membrana obtenidos se lavaron con buffer de fosfatos hasta eliminar cualquier residuo de glutaraldehído. A continuación, se procedió a realizar la deshidratación de las muestras mediante lavados sucesivos con diluciones de etanol (20%, 40% 60% y 100% de etanol absoluto). Finalmente, las muestras se recubrieron con película de oro para ser observadas en el microscopio electrónico de barrido.

5.8 Determinación e identificación de bacterias por técnicas moleculares

Una vez finalizada la operación en continuo de los reactores *MBMBR* y *MBR*, se procedió a realizar la identificación de las comunidades procarióticas presentes en el inóculo y en las diferentes etapas de operación de los reactores, con el propósito de determinar si existían o no cambios en su composición por medio de la técnica de PCR, clonación y secuenciación. El trabajo experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología Molecular y Epigenética del Instituto de Ecología-UNAM.

Se recolectaron en total 5 muestras, cada una por triplicado. La distribución y nomenclatura de las muestras se reporta en la tabla 5.8.

Tabla 5.8 Distribución de las muestras analizadas

	Muestra	Nombre
	Inóculo	<i>Inóculo</i>
Reactores en discontinuo	SBR	3
	MSBR	I
Reactores en continuo	MBR	10
	MBMBR	IV

- Extracción y purificación de DNA

La extracción del DNA de la comunidad bacteriana presente en cada muestra fue realizada de acuerdo a la metodología descrita por Centeno *et al.* (2012), con algunas modificaciones.

Para obtener una pastilla de microorganismos de las muestras de los bioreactores, se depositó 1 mL de muestra en tubos Eppendorfs estériles y se centrifugó a 14,000 rpm durante 7 min. El sobrenadante se descartó y la pastilla obtenida se resuspendió en 500 μ L de buffer de extracción (100 mM Tris-HCl, 20 mM NaCl, 100 mM EDTA, pH 8). Los organismos resuspendidos fueron incubados con 60 μ L de bromuro de hexadeciltrimetilamonio 6% (CTAB) y 50 μ L de lisozima (50 mg/mL, Sigma Aldrich) a 37 °C durante 30 minutos. Seguido por una incubación con 300 μ L de dodecilsulfato sódico 10% (w/v) y 10 μ L de proteínaasa K (10 mg/mL, Sigma Aldrich) a 55 °C durante 2 horas.

Tras las incubaciones enzimáticas, las muestras se centrifugaron para separar la fracción de biomasa restante y obtener el sobrenadante. La fracción acuosa fue sometida a tres procesos de extracción consecutivos empleando el mismo volumen de una mezcla de fenol/cloroformo/isopropanol (25:24:1). Una vez adicionada la fracción orgánica al tubo, éste se agitó vigorosamente y se centrifugó a 7,000 rpm durante 5 min para separar las fases. En cada paso la fracción acuosa fue recuperada y transvasada a un tubo limpio. Posteriormente, se agregaron 50 μ L de acetato de sodio 3M y un volumen de isopropanol (ca. 400 μ L), se agitó la muestra y se incubó a -20 °C durante 20 min para precipitar el DNA. Para obtener la pastilla de DNA, las muestras se centrifugaron a 13,000 rpm durante 15 min, el sobrenadante fue descartado cuidadosamente y la pastilla de DNA se lavó con etanol al 70%. Una vez removidas las sales de la pastilla, se resuspendió en 30 μ L de agua grado molecular y se purificó empleando una columna de sílice mediante el kitDNeasy Blood y Tissue (QIAGEN), siguiendo las especificaciones del fabricante.

- Amplificación de segmentos del 16S rDNA

El DNA extraído se usó como templado para la amplificación de fragmentos 16S rRNA por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las amplificaciones fueron hechas con primers universales para amplificar segmentos del 16S rRNA de bacterias y arqueas,

mediante el primer directo TX9 (5'-GGATTAGAWACCCBGGTAGTC-3') y el reverso 1392 (5'-GACGGGCRGTGWGTRCA-3') (Ashby *et al.* 2007). En la tabla 5.9 se muestra la composición de la mezcla de reacción con un volumen total de 25 μL utilizada.

Tabla 5.9 Mezcla de reacción para amplificación por PCR

Componentes	Volumen
DNA molde (10-100 ng/ μL)	2 μL
Buffer PCR 10x	2.5 μL
MgSO ₄ 50 mM	1.25 μL
Primer tx9 (12.5 μM)	4 μL
Primer 1392 (12.5 μM)	4 μL
Mezcla de desoxirribonucleótidos trifosfato o dNTPs 10 mM	0.5 μL
(dATP, dTTP, dCTP, dGTP)	
DNATaq Polimerasa	0.25 U
(Invitrogen, Carlsbad, CA)	
Albúmina de suero bovino (BSA, 10 mg/mL)	1.25 μL
Dimetil sulfóxido (DMSO)	1.25 μL
Agua ultrapura Milli-Q	8 μL

El protocolo de amplificación incluyó un ciclo de desnaturalización a 94 °C (2 min); seguido de 30 ciclos de amplificación a 94 °C (1 min), 55 °C (1 min) y 72 °C (1 min) y finalmente un ciclo terminación a 72°C (15 min). Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador ESCO SWIFT™ MAXI Thermal Cycler (SWT-MX-BLC-1, ESCO Technologies Inc., Hatboro, PA, USA). Los productos obtenidos de PCR fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa (1.5%), teñidos con bromuro de etidio y fotodocumentados.

- Clonación y secuenciación

Los amplicones de aproximadamente 600 pb generados a partir del DNA extraído anteriormente, se ligaron al vector de clonación pCR[®]2.1 utilizando el sistema de clonación Original TA Cloning Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA) siguiendo las especificaciones del fabricante. Los vectores construidos se emplearon para transformar células quimiocompetentes de *Escherichia coli* Mach1™-T1R. La clonas que contuvieran vectores con el inserto deseado (fragmentos del 16S rRNA) se seleccionaron por α -complementación del gen codificante para la β -galactosidasa en placas con medio Luria Broth (LB) con ampicilina (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y 1.6 mg de 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactopiranosido dispersado en la superficie. Las clonas seleccionadas fueron separadas cuidadosamente y después empleadas como templado en un PCR de colonia bajo las condiciones anteriormente descritas sólo que empleando los primers especiales para el vector pCR[®]2.1: M13F (5'-GTAAAACGACGGCCAGT-3') y M13R (5'-AACAGCTATGACCATG-3'). Los amplicones obtenidos fueron enviados al secuenciador

de la Universidad de Washington (UW-HTGC) y secuenciados unidireccionalmente con un analizador ABI 3730xl DNA analyser (Applied Biosystems) empleando el primer M13F.

- *Análisis de datos*

Las secuencias de DNA obtenidas fueron primeramente limpiadas, para lo cual se alinearon mediante el programa ClustalW2 (Larkin *et al.*, 2007), se detectaron las regiones ajenas a los fragmentos 16S rRNA y se eliminaron mediante un proceso de edición manual con el programa SeaView (v. 4.2.12, Gouy *et al.*, 2010). Para el análisis se emplearon las herramientas disponibles en el Ribosomal Data Project (<http://rdp.cme.msu.edu/>) incluyendo la clasificación taxonómica de las mismas (Classifier, Wang *et al.*, 2007).

Las secuencias fueron agrupadas a nivel especie (97% identidad) y definidas como grupos taxonómicos operacionales (OTUs) para realizar una matriz de abundancia de especies presentes en cada muestra (Roselló-Mora y Amann 2001). La agrupación se realizó empleando el algoritmo del vecino más lejano (*furthest neighbor*) en el programa Mothur, donde también se calcularon las curvas de rarefacción de las diferentes muestras. La reconstrucción filogenética fue realizada con las secuencias que fueron designadas a nivel especie y se encontraron en el Inóculo y en las muestras del reactor (40 secuencias, *ca.* 580 nucleótidos) y secuencias de referencia obtenidas de las bases de datos al día 18 de Noviembre del 2013 (53 secuencias). Se empleó una aproximación de distancia por Neighbor joining y el modelo de Kimura 2P (Kimura 1980, 100 bootstrap) empleando el programa SeaView (Gouy *et al.*, 2010).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Caracterización del agua residual

Una de las etapas más importantes para el tratamiento de aguas residuales de refinerías de petróleo es la caracterización fisicoquímica del efluente debido a que presentan una matriz de contaminantes muy variada y compleja que depende de muchos factores como del tipo de petróleo procesado, las unidades de tratamiento del que provienen y la forma de operación (Wake, 2005; Al Zarooni y Elshorbagy, 2006). Por tal motivo, es necesario conocer todos los compuestos presentes en el agua residual proveniente de esta industria para así proponer un tratamiento adecuado que los permita eliminar efectivamente.

En la tabla 6.1, se muestran los valores obtenidos de la caracterización del agua desflemada para los diferentes lotes usados a lo largo de este estudio, provenientes de la Refinería Ing. Antonio M. Amor (Salamanca, Guanajuato) y de la Refinería Francisco I. Madero (Cd. Madero, Tamaulipas).

Con los datos obtenidos se observó que la composición de las aguas desflemadas es muy variable a pesar de originarse en el mismo proceso. Las concentraciones de los compuestos presentes cambian de un lote a otro, indicando que los efluentes producidos en las refinerías de petróleo varían constantemente; por tal razón, es necesario proponer un sistema que soporte estos choques de carga y elimine exitosamente los contaminantes sin importar la complejidad del proceso del que provengan, para así evitar problemas a la actividad enzimática de los microorganismos si las aguas desflemadas son enviadas directamente a la planta de tratamiento de aguas residuales o si son reutilizadas en otros procesos dentro de las refinerías (Mutamim *et al.*, 2012).

Tabla 6.1 Caracterización fisicoquímica del agua desflema

Parámetro	Refinería RIAMA				Refinería Madero		Unidad
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4	Lote 5	Lote 6	
Temperatura	46	50	90	120	90	90	°C
pH	10	10	9	9	9	8	Unidades pH
DQO	1431	334	572	528	653	680	mg/L
DBO ₅	357	20	100	186	140	32	mg/L
COD	418	139	437	465	309	463	mg/L
NTK	364	146	211	118	50	41	mg/L
N-NH ₃	321	53	81	67	36	25	mg/L
N-orgánico	43	93	130	51	14	16	mg/L
Nitratos	<1	<1	<1	<1	<1	<1	mg/L
Fenoles	180	60	210	190	80	135	mg/L
Sulfuros	344	ND	28	8	ND	ND	mg/L
Sulfatos	690	210	1280	753	312	149	mg/L
Cloruros	41	60	54	90	95	58	mg/L
Grasas y aceites	5000	1000	200	824	1557	1297	mg/L
Sílice	29	135	61	95	8	8.5	mg/L
Turbiedad	557	51	12	50	205	22	UNT
Dureza	343	332	339	340	338	339	mg/L
Conductividad	382	250	526	292	481	380	μS/cm
Alcalinidad Total	1200	250	220	125	60	62	mgCaCO ₃ /L
SST	48	45	76	68	120	36	mg/L
SSV	43	41	60	63	109	32	mg/L

ND: No detectable

Las altas concentraciones registradas de fenoles, sulfuros y nitrógeno amoniacal en el agua desflema indican que no todos los compuestos tóxicos son extraídos durante el proceso de desorción al que son sometidas las aguas amargas debido algunas veces a problemas operacionales como el taponamiento de los platos de la torre agotadora y la reducción de la presión. Además, el olor característico de las aguas desflema se atribuye a la presencia de estos compuestos (Metcalf y Eddie, 2003).

Se observa que la relación DBO₅/DQO es menor a 0.35, lo que demuestra que el agua desflema es un efluente de difícil biodegradación o contiene una parte no biodegradable debido a su compleja composición (Mutamim *et al.*, 2012). Un tratamiento biológico convencional tal vez no pueda eliminar satisfactoriamente los contaminantes tóxicos presentes en este tipo de efluente; por tal motivo, es necesario contar con una adecuada aclimatación de microorganismos para lograr satisfactoriamente la degradación de los contaminantes tóxicos (Marañón *et al.*, 2008) e implementar un eficiente y novedoso sistema biológico para su tratamiento.

Como se mencionó en el apartado 3.3.1, el fenol ha sido aceptado como un componente adecuado para indicar el nivel de toxicidad del agua residual proveniente de las refinerías de petróleo y el rendimiento de biodegradación en los sistemas de tratamiento (Viero *et al.*, 2008). Algunos estudios han demostrado que el fenol tiene una relación directa con la DQO, donde cada mg de fenol equivale aproximadamente a 2.2 mg/L de DQO (Tyagi *et al.*, 1993; Hosseini y Borghei, 2005) y la relación de grasas y aceites con respecto a la DQO es de 3.47 g de DQO/g de grasas (Harper, 1976). Sin embargo, se observa que debido a la complejidad que presenta la matriz de las aguas desfleadas usadas en este estudio es difícil hacer una estimación de la DQO teórica.

Otro parámetro importante a considerar es la alta concentración de grasas y aceites (GyA) que contiene el agua desfleada. La presencia de GyA puede impedir la transferencia de oxígeno a los microorganismos e inhibir su actividad enzimática y también pueden afectar negativamente el funcionamiento de las membranas de ultrafiltración (Wiszniewski *et al.*, 2011). Para ver la influencia de este parámetro sobre el desempeño de los reactores MBMBR y MBR, se implementaron dos etapas en la operación en continuo que involucraron un pretratamiento físico (sedimentación por gravedad) y uno fisicoquímico (coagulación-floculación-filtración), los cuales ayudaron a reducir el contenido de GyA en el agua desfleada antes de entrar a los sistemas biológicos.

Aparte del fenol, algunos autores han asociado que la presencia de amonio, cianuros, sulfuros e hidrocarburos de 10 a 20 carbonos influyen en el nivel de toxicidad de las aguas residuales de refinerías y constataron que no hay un único contaminante que sea el responsable de toda la toxicidad que generan estas aguas (Dorris *et al.*, 1972). La toxicidad por los hidrocarburos se ve afectada por la sinergia con otros compuestos, y en el caso de los cianuros por la interacción con el N-NH₃ y Zn.

Los valores de pH básicos que presentan las aguas desfleadas se debe a la adición de sosa cáustica para la eliminación del nitrógeno amoniacal en la torre agotadora. Se ha comprobado que un pH alcalino puede interferir en el crecimiento óptimo de microorganismos (Chan *et al.*, 2009) por tal motivo fue necesario neutralizarlo antes del tratamiento, adicionando ácido fosfórico al agua desfleada. Wake (2005) indica que el pH es un factor importante que influye en el nivel de toxicidad de las aguas residuales. A pH elevados y bajas concentraciones de O₂, el nitrógeno amoniacal llega a ser muy tóxico mientras que el nivel de toxicidad atribuido por los sulfuros se incrementa cuando hay una disminución en el pH.

Con respecto a las sales inorgánicas (cloruros, sulfatos y sílice), el agua desfleada presentó valores que no causarían problemas para su reúso porque se encuentran por debajo de la concentración indicada como se mostró en la tabla 2.3 y tampoco representan un problema a los ecosistemas acuáticos. La dureza del agua desfleada en todos los lotes está por arriba de los 300 mg/L, lo que indica que es un agua muy dura que traerá problemas de incrustaciones en equipos y tuberías y baja eficiencia en la transferencia de calor sino es tratada adecuadamente antes de su reúso.

La concentración de nitritos y nitratos estuvo por debajo de 1.0 mg N-NO_x/L por lo que se consideró despreciable, también el agua desfleada presenta una baja concentración de SST y SSV.

6.2 Aclimatación de microorganismos

En condiciones aerobias, el periodo de aclimatación de biomasa puede variar de horas hasta días (Moreno-Andrade y Buitrón, 2012). En este estudio, la aclimatación se llevó a cabo por un período de 20 días en los cuales se incrementó gradualmente la concentración del agua desfleada. Moreno-Andrade (2006) recomienda comenzar la aclimatación a bajas concentraciones de sustrato para que una vez que los microorganismos se adaptan al tipo de sustrato se aumente la concentración del tóxico a la que están siendo expuestos.

La tabla 6.2 muestra los datos obtenidos en el proceso aclimatación de microorganismos.

Tabla 6.2 Remoción de DQO y COD en el proceso de aclimatación

% de agua desfleada	Remoción máxima (%)					
	DQO		COD		Fenoles	
	Intervalo	Promedio	Intervalo	Promedio	Intervalo	Promedio
25	56-76	69	65-82	75	96-99	97
50	65-80	75	75-85	82	97-99	98
75	68-82	76	78-80	80	98-99	98
100	74-83	78	78-83	81	97-99	98

Las mediciones diarias de los parámetros indicativos muestran que se obtuvieron eficiencias de remoción entre el 69 y 78% para la DQO y del 75 al 81% para el COD. Con respecto a los fenoles, las eficiencias de remoción en todos los casos fueron mayores al 98% para las cuatro soluciones de agua desfleada durante la etapa de aclimatación.

En los experimentos realizados con las soluciones de agua desfleada al 25% se obtuvieron los porcentajes más bajos de remoción de DQO (69%) y de COD (75%), esto se atribuye a que en esta fase los microorganismos empezaban a asimilar el sustrato. En los siguientes experimentos que involucraron soluciones de 50, 75 y 100% de agua desfleada, se obtuvieron mayores porcentajes de remoción llegando hasta un 78% de DQO como 82% de COD.

La figura 6.1 muestra el comportamiento de la degradación de la DQO, el COD y los fenoles totales durante el proceso de aclimatación de los microorganismos. Se observa que fueron necesarios cinco ciclos de experimentación para cada concentración de agua desfleada. Se presentó un aumento en la remoción de materia orgánica hasta lograr su estabilización independientemente de la concentración inicial del agua residual con que se trabajara y se observa que dicho porcentaje permaneció constante a partir del cuarto y quinto ciclo de experimentación. Esto significa que los microorganismos se adaptaron al tipo de sustrato al que fueron expuestos y no se presentó un efecto inhibitorio sobre su actividad

por la presencia de compuestos fenólicos. Wiggings *et al.* (1987) *apud* Moreno-Andrade (2006), mencionan que durante la aclimatación, los microorganismos degradadores se acostumbran a toxinas en su ambiente, con lo cual pueden degradar el sustrato debido a esta tolerancia. Sin embargo, las eficiencias de remoción de la DQO no sobrepasaron el 80% durante el proceso de aclimatación, esto lleva a la hipótesis que la presencia de algunas sustancias recalcitrantes presentes en el agua desflemaada ejercían un efecto inhibitorio dentro del reactor que no permitía una biodegradación completa de todos los contaminantes.

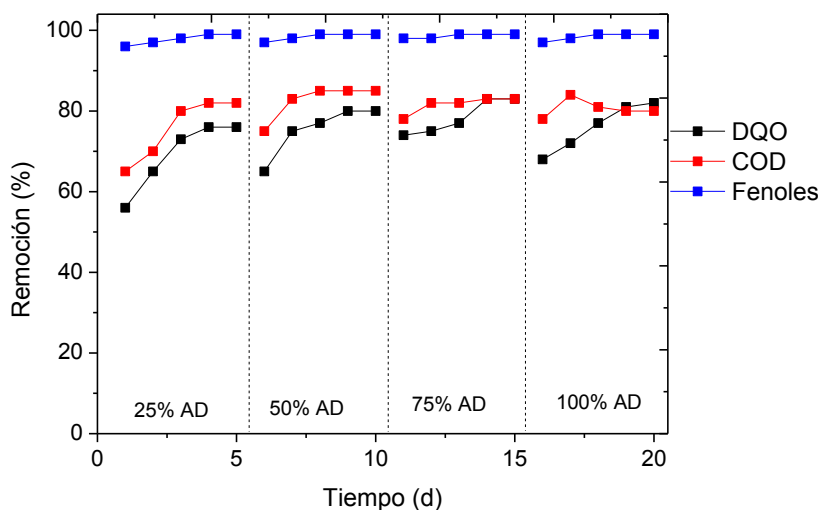


Figura 6.1 Eficiencia de remoción de DQO, COD y fenol durante el proceso de aclimatación

Una vez que se logró la aclimatación de los microorganismos se procedió a inocular los dos reactores biológicos discontinuos secuenciales. Como se mencionó anteriormente, el primer reactor corresponde al reactor de biomasa suspendida (SBR) y el segundo al reactor de biomasa adherida (MSBR). En el reactor MSBR, el desarrollo de la biopelícula en los soportes Kaldnes K1 tuvo una duración de cinco semanas. Este tiempo fue similar al reportado por Aygun *et al.* (2008) para la adhesión y crecimiento de la biopelícula en los soportes Kaldnes K1 durante el tratamiento de un efluente sintético en un MBBR aplicando altas cargas orgánicas (6, 12, 24, 48 y 96 g DQO/m²d). Por otro lado, Ødegaard *et al.* (1994) sugieren que cuando se trabaja con aguas sintéticas o municipales, el mayor desarrollo de la biopelícula se obtiene alrededor de las dos semanas, sin embargo, en esta investigación el desarrollo fue más lento y se atribuye a las características fisicoquímicas del agua residual proveniente de las dos refinerías mexicanas.

6.3 Operación de los reactores SBR y MSBR

Se evaluó la biodegradación de la materia orgánica a través de la remoción de la DQO, COD y fenol durante 45 días, alimentando los reactores cada 24 h. Los datos obtenidos durante esta etapa se observan en la tabla 6.3.

Tabla 6.3 Comportamiento de los reactores SBR y MSBR

Reactor	DQO (mg/L)			COD (mg/L)			Fenoles (mg/L)		
	Entrada	Salida	η (%)	Entrada	Salida	η (%)	Entrada	Salida	η (%)
SBR	487±42	119±30	75	276±32	46±4	83	50±2.5	0.5±0.2	99
MSBR	504±35	117±29	79	261±40	29±9	88	50±2.5	0.5±0.2	99

La concentración inicial de DQO fue de 487 ± 42 mg/L en el SBR, y se obtuvo una concentración de salida en el intervalo de 89 a 149 mg/L, que corresponde a una eficiencia de remoción (η) del 75%. Para el COD, la concentración inicial fue de 276 ± 32 mg/L y se obtuvo una reducción entre 42 y 50 mg/L que equivale al 83% de remoción.

La concentración inicial de DQO en el MSBR fue de 504 ± 35 mg/L y se registró una reducción en el intervalo de 78 y 126 mg DQO/L, con una eficiencia de remoción de 79%. El COD presentó una concentración inicial de 261 ± 40 mg/L y se registró una disminución hasta el intervalo de 20 y 38 mg/L, correspondiente al 88% de remoción.

La carga orgánica volumétrica aplicada al SBR varió entre 0.44 y 0.52 kg DQO/m³.d mientras que para el MSBR osciló entre 0.47 y 0.54 kg DQO/m³.d que corresponde a una carga orgánica superficial entre 1.56 - 1.80 g DQO/m².d; el valor medio de la carga orgánica eliminada fue de 0.12 kg DQO/m³.d para el SBR y de 0.10 kg DQO/m³.d para el MSBR. Aunque las diferencias obtenidas en la remoción de materia orgánica son mínimas entre ambos reactores, con estos datos se observa que cuando hay variaciones de carga el reactor de biomasa adherida presenta mejor capacidad de amortiguación que el reactor de biomasa suspendida.

En general, las remociones de DQO, COD y fenoles alcanzadas en ambos reactores son buenas y congruentes con los datos reportados en otros estudios realizados con aguas residuales de refinería, en donde se registran eficiencias de remoción de DQO entre el 65 y 90 % y de fenoles arriba del 90 % (Silva *et al.* 2002; Sokol 2003; Hosseini y Borghei 2005; Ishak *et al.* 2012). Sin embargo, se observa que los porcentajes de eficiencia de remoción de materia orgánica obtenidas en el MSBR fueron ligeramente superiores a los obtenidos en el SBR. Este hecho es similar a lo reportado por Moussavi *et al.* (2009) en donde el MSBR presenta un mejor rendimiento en la remoción de DQO y fenol debido a una comunidad de microorganismos más activos en la biopelícula. Esto se traduce en un mejor rendimiento del sistema en comparación con los microorganismos de crecimiento en suspensión debido a que los microorganismos que se desarrollan adheridos a una superficie poseen una mayor actividad metabólica y se ven menos afectados por alteraciones en las condiciones ambientales tales como temperatura, pH, concentración de nutrientes, productos metabólicos y sustancias tóxicas (Cohen, 2001). Con respecto a la concentración de fenoles en ambos reactores, se inició con una concentración de 50 ± 2.5 mg/L y se logró alcanzar concentraciones finales en promedio de 0.5 mg/L, indicando que hubo una remoción del 99.9 % en los sistemas.

Cuantificación de biomasa en los SBR

En la figura 6.2a se muestra la cuantificación de biomasa durante el período de operación de los reactores biológicos secuenciales. Se observa que en el reactor de biomasa suspendida la concentración de sólidos suspendidos totales en los primeros diez días de operación en discontinuo aumento hasta estabilizarse en aproximadamente 2200 mg SSLM/L. Estos valores son congruentes con los encontrados en los sistemas de lodos activados (1200-4000 mg SSLM/L) (Metcalf y Eddy, 2003). La relación de SSVLM/SSLM se mantuvo prácticamente estable entre 0.8 y 0.85, indicando el poco grado de mineralización del lodo en suspensión y mostrando que la mayoría de los sólidos suspendidos eran microorganismos (Sombatsompop, 2007).

En el caso de la concentración de SST en el reactor de biomasa adherida, se observa que la concentración de la biomasa en suspensión es relativamente baja, en un intervalo entre 450 y 560 mg SST/L, mostrando que no se presentó un desprendimiento considerable de la biopelícula.

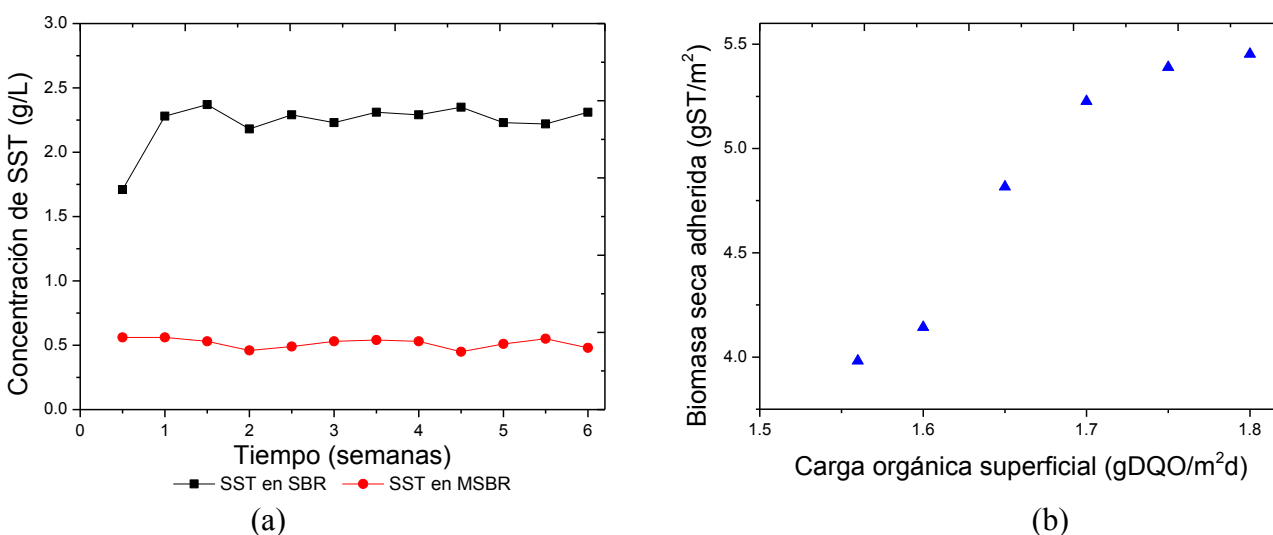


Figura 6.2 (a) Concentración de SST en los reactores SBR y MSBR
(b) Comportamiento de la concentración de biomasa adherida con respecto a las cargas orgánicas superficiales

Con respecto a la concentración de biomasa seca adherida a los soportes se observó un aumento a lo largo del tiempo de experimentación. Se registraron valores que oscilaron entre 3.98 g ST/m² y 5.45 g ST/m² a diferentes cargas orgánicas superficiales entre 1.56 - 1.80 g DQO/m²d. Estos valores están dentro del intervalo reportado por Pasinetti y Emondi (2003) *apud* Valdivia (2005) que mencionan que para el tratamiento de aguas residuales domésticas la concentración de biomasa oscila entre 4 y 9 g ST/m². Aygun *et al.* (2008) indican que la cantidad de biomasa adherida a los soportes se incrementa con el aumento de la carga orgánica superficial, lo mismo ocurre en este estudio en donde a mayor carga

orgánica aplicada se obtiene mayor cantidad de biomasa adherida (Figura 6.2b). La relación de SSV/SST fue de 0.9 y 1. Además, los resultados son congruentes con observaciones hechas a los soportes en el laboratorio, donde cada semana se visualizaba que el grosor de la biopelícula en los soportes iba aumentando hasta ocupar casi todo el espacio disponible en el interior de los soportes. Por otro lado, no hubo formación de biopelícula en la parte externa de los soportes debido a la erosión causada por las frecuentes colisiones entre las piezas y las paredes del reactor, como lo reportan algunos autores (Ødegaard *et al.*, 1994; Rusten *et al.*, 2006).

Algunos estudios han demostrado que el desempeño de los reactores con biomasa adherida es mejor debido al área superficial disponible para el crecimiento de la biopelícula que genera una mayor actividad microbiana que los reactores con biomasa suspendida (Ivanovic y Leiknes, 2012). Lee *et al.* (2001) reportan que alrededor de 1/3 de la concentración de biomasa adherida fue capaz de alcanzar las mismas tasas de degradación que la biomasa suspendida total. Aygun *et al.* (2008) sugieren que la actividad de la biopelícula implicada en la degradación del fenol fue de alrededor de 8 veces más que la de la biomasa suspendida. Bajaj *et al.* (2008) menciona que los reactores con biomasa adherida presentan una alta concentración de biomasa (30-40 g SSV/L) comparado los sistemas de lodos activados (1.5–2.5 g SSV/L), esto se debe a la elevada área superficial disponible para la formación de biopelícula.

Perfiles de degradación:

Cuando las eficiencias de remoción se estabilizaron en los dos reactores, se realizaron cuatro perfiles de degradación en cada reactor para evaluar la capacidad de los microorganismos para degradar el tipo sustrato al que fueron expuestos en un tiempo determinado y observar si se registraba una disminución en su actividad enzimática. El tiempo de reacción fue diferente para cada concentración empleada de agua desflema (Tabla 6.4).

Tabla 6.4 Duración de los perfiles de degradación

Perfil de degradación	Dilución de agua desflema en agua destilada (%)	Duración (h)
1	25	2
2	50	3.45
3	75	5
4	100	5.15

En la figura 6.3 se observan las curvas de degradación de DQO para los reactores SBR y MSBR. Para los perfiles 1 y 2, el mayor consumo de DQO se registró durante la primera hora en ambos reactores, lográndose una concentración final de materia orgánica menor a 56 mg/L en el SBR y de 37 mg/L en el MSBR. Para los perfiles 3 y 4, la máxima remoción se alcanzó después de la segunda hora, para luego mantenerse casi constante en ambos reactores. La concentración final de DQO en el SBR fue de 66 mg/L para el perfil 3 y 80 mg/L para el perfil 4, mientras que en el MSBR fue de 70 mg/L y 86 mg/L,

respectivamente. Los resultados indican que un aumento en la concentración inicial del influente afecta la eficiencia de remoción de DQO significativamente en ambos reactores y este hecho se puede atribuir a la inhibición de la actividad microbiana, como se detallará más adelante.

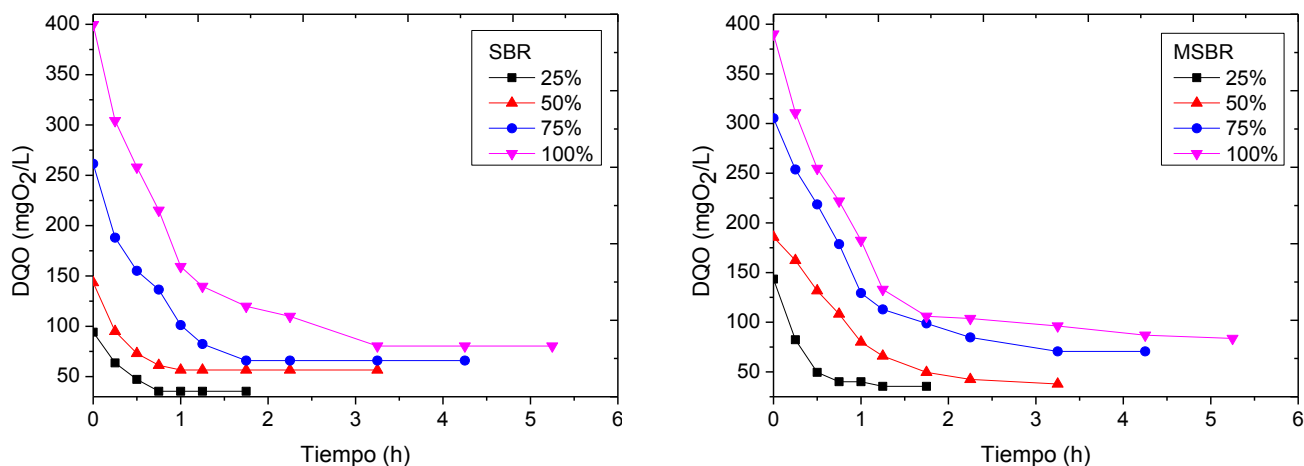


Figura 6.3 Perfiles de degradación de la DQO para los reactores SBR y MSBR

En la figura 6.4 se aprecia que en los dos reactores se removió más del 98 % de fenoles alcanzando una concentración final inferior a 0.6 mg/L en cada perfil de degradación durante la primera hora de reacción, indicando que la biomasa fue capaz de degradar los compuestos tóxicos presentes en las aguas desflemdas sin importar el tipo de aglomeración microbiana utilizada. En general, las concentraciones finales obtenidas de DQO y fenoles en los dos reactores son similares, sin embargo se observa que el reactor MSBR presenta un rendimiento superior y una mayor estabilidad frente a variaciones de la relación A/M (alimento/microorganismos) y eliminación de contaminantes.

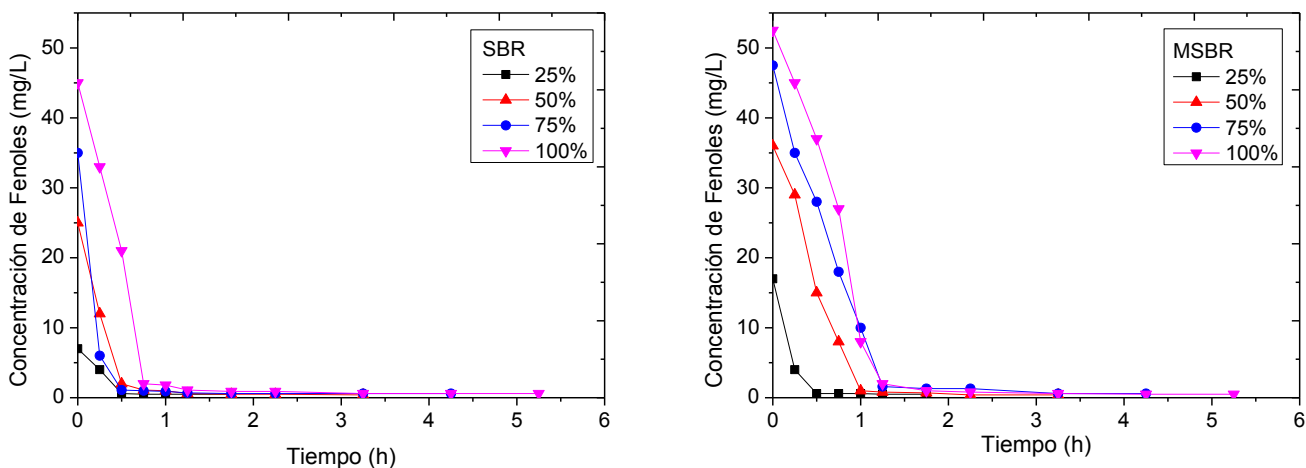


Figura 6.4 Perfiles de degradación de fenoles para los reactores SBR y MSBR

Determinación de coeficientes cinéticos

Los coeficientes cinéticos se obtuvieron con los resultados obtenidos de la DQO para cada concentración de agua desfleada debido a que se trata de un agua real con una matriz compleja de contaminantes y el fenol no causó un efecto inhibitorio. La ecuación de Monod se linealizó de acuerdo con la ecuación de Lineweaver-Burk para cada reactor (biomasa suspendida y biomasa adherida) como se muestra en las figura 6.5 y 6.6.

En general, se puede observar que con los datos experimentales obtenidos hay un buen ajuste para el modelo propuesto, mostrando coeficientes de correlación (r^2) mayores a 0.9 en ambos reactores. Se determinó la ordenada en el origen, que corresponde a la tasa máxima específica de crecimiento (μ_{\max}) y la pendiente, que corresponde al coeficiente de saturación de sustrato K_s dividido por μ_{\max} .

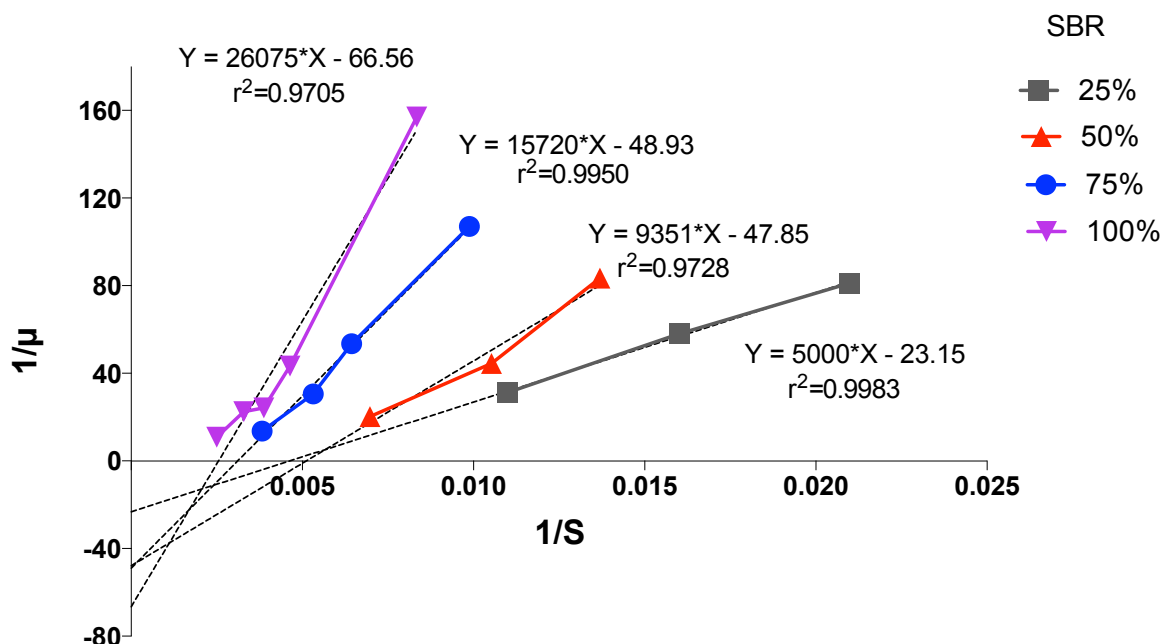


Figura 6.5 Diagrama Lineweaver-Burk para la cinética de degradación en el SBR

Los diagramas de Lineweaver Buck determinan que los sistemas están siendo afectados por un inhibidor y el tipo de inhibición que más se ajusta es el de inhibición mixta. Saboury (2009) menciona que en la inhibición mixta se presentan cambios en K_s (aumenta) y μ_{\max} (disminuye) al mismo tiempo y la intersección de las líneas se puede presentar por arriba o por abajo del eje X negativo. En este estudio, la intersección se da por abajo del eje X positivo y se atribuye a la complejidad de la composición del agua residual con la que se trabajó. La variación de los coeficientes cinéticos como se muestra en la tabla 6.5, confirman la inhibición mixta dentro de los reactores debido a que la rapidez máxima de crecimiento disminuye y el coeficiente de saturación media aumenta, como se mencionó anteriormente.

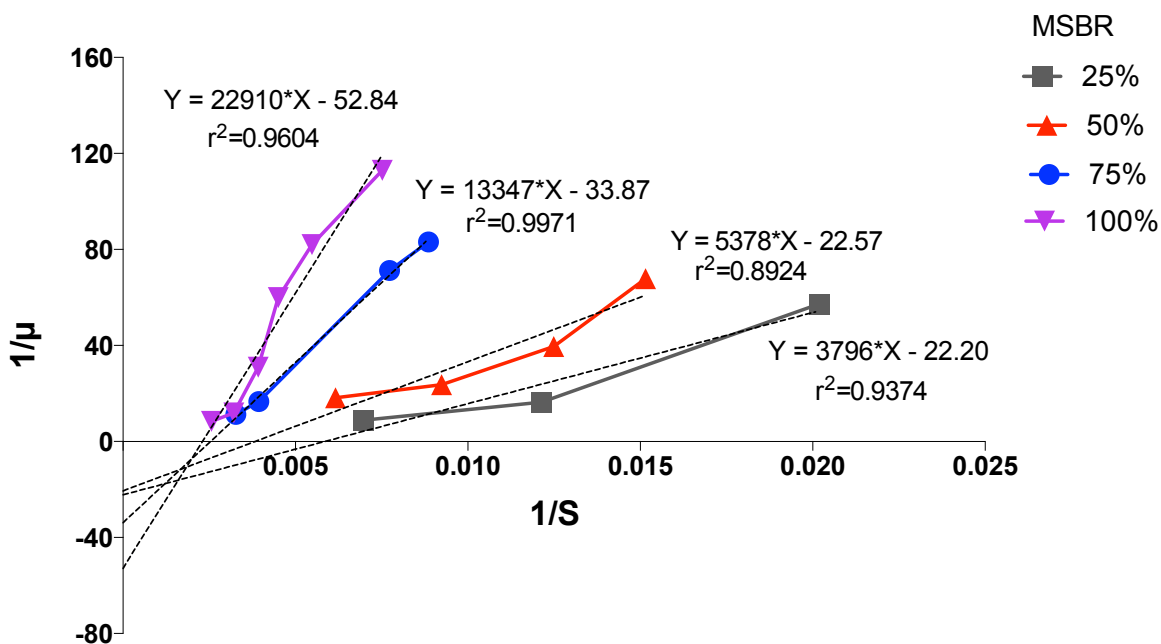


Figura 6.6 Diagrama Lineweaver-Buck para la cinética de degradación en el MSBR

Tabla 6.5 Coeficientes cinéticos obtenidos en este estudio

SBR				MSBR			
S (mg/L)	μ_{max} (h ⁻¹)	μ_{max} (d ⁻¹)	Ks (mgDQO/L)	S (mg/L)	μ_{max} (h ⁻¹)	μ_{max} (d ⁻¹)	Ks (mgDQO/L)
94	0.043	1.032	215.0	143	0.045	1.080	170.9
145	0.021	0.504	196.3	185	0.044	1.056	236.6
261	0.020	0.480	314.4	305	0.029	0.696	387.0
400	0.015	0.360	391.1	390	0.019	0.456	435.2

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede determinar que la afinidad de los microorganismos al sustrato es baja en ambos sistemas, ya que los valores de Ks son superiores a la concentración de sustrato. También, como se ha mencionado, el agua residual posee múltiples sustratos que hacen que los microorganismos presentes en el medio muestren preferencia por algunos de estos compuestos favoreciendo sus degradaciones pero sin permitir una degradación total de los contaminantes. En este sentido, se puede afirmar que a pesar de que los fenoles se remueven satisfactoriamente, hay compuestos presentes en el agua desfleada que los microorganismos no son capaces de degradar causando una inhibición en los sistemas.

Muy pocas investigaciones reportan las cinéticas de degradación de aguas residuales de refinera en donde se obtienen los coeficientes cinéticos considerando la DQO como sustrato. Rahman (2004) encontró que los coeficientes cinéticos cambian cuando se presenta un cambio en la concentración de SSLM, el autor reportó que a una concentración

de 3000 mg SSLM/L, μ_{\max} tiene un valor de 0.653 d^{-1} (0.027 h^{-1}) y K_s de 397 mg DQO/L mientras que para una concentración de 5000 mg SSLM/L, μ_{\max} tiene un valor de 1.2 d^{-1} (0.05 h^{-1}) y K_s de 659 mg DQO/L. Zhang *et al.* (2002) determinó los coeficientes cinéticos en un reactor MBR durante el tratamiento de aguas residuales de una petroquímica, reportando un valor de 154.2 mg/L para K_s y de 0.185 d^{-1} para μ_{\max} . Tellez *et al.* (1995) determinó los coeficientes cinéticos para el agua residual producida en un yacimiento petrolero usando técnicas respirométricas y encontró un valor para K_s de 1.37 mg/L y μ_{\max} de 0.136 h^{-1} . En la tabla 6.6. se muestran algunos de los coeficientes cinéticos reportados para distintos sistemas biológicos.

Tabla 6.6 Valores de los coeficientes cinéticos para bacterias aerobias (*)

Tipo de agua residual	Sistema de tratamiento	μ_{\max} (d^{-1})	K_s (mg DQO/L)	Referencia
Sintética	LA	1.28 – 6.46	289 - 2933	Kaly andurg, 2003
Municipal	LA	2 - 10	15 - 70	Metcalf y Eddy, 2003
Municipal	LA-Membrana filtración	5.6 -8.1	250 - 3720	El-Kebirr, 1991
Industrial	LA	0.77	2980.5	Suman <i>et al.</i> 2004
Petroquímica	MBR	0.185	154.2	Zhang <i>et al.</i> 2002
Refinería	LA-Membrana de filtración	0.65 – 1.2	397 - 660	Rahman, 2004
Refinería	SBR	0.36 - 1.32	187 -391	En este estudio
Refinería	MSBR	0.49 – 0.97	170 - 428	En este estudio

Fuente: (Modificada de Rahman, 2004)

Por otro lado, Rancaño (2011), determinó los coeficientes cinéticos para la degradación de fenol en aguas de refinería y obtuvo que la cinética de Monod describe bien la degradación del fenol cuando se parte de concentraciones de este compuesto inferiores a 300 mg/L. Reportó valores de μ_{\max} entre 0.016 y 0.1 h^{-1} y de K_s entre 21 y 40 mg/L, para concentraciones entre 40 y 260 mg/L de fenol. Generalmente, los valores de los coeficientes cinéticos obtenidos están dentro del intervalo los procesos de lodos activados encontrados en la literatura, los cuales consideran la DQO como sustrato.

6.4 Pretratamiento del agua desflemada

La alta presencia de GyA puede impedir la transferencia de oxígeno a los microorganismos presentes en los reactores e inhibir su actividad enzimática; también, pueden afectar negativamente el funcionamiento de las membranas de ultrafiltración. Para impedir estos problemas se implementó un pretratamiento del agua desflemada que involucró un proceso

de sedimentación por gravedad y un proceso de coagulación-floculación-filtración para los lotes de agua desflemada.

Sedimentación por gravedad: Este tratamiento se aplicó a los lotes 3 y 4 de agua desflemada proveniente de la Refinería Ing. Antonio M. Amor, que registraban una concentración de GyA de 200 y 824 mg/L, respectivamente. La sedimentación por gravedad redujo muy poco este parámetro, en donde la concentración final promedio fue 195 mg/L para el lote 3 y 811 mg/L para el lote 4. Las concentraciones iniciales de DQO, COD y fenoles no se vieron afectadas. Este efluente se usó en la operación en continuo de la etapa 1.

Coagulación-floculación-filtración: A simple vista el agua desflemada contenía una alta concentración de grasas y aceites y por tal motivo se propuso un pretratamiento más efectivo para reducir este parámetro. En la tabla 6.7, se presentan las características del agua residual después del pretratamiento fisicoquímico, donde se puede observar que hubo una remoción significativa de grasas y aceites que conllevó a la disminución cerca de la mitad de la DQO y el COD. La coagulación-floculación-filtración se efectuó en los lotes 5 y 6 del agua desflemada proveniente de la Refinería Francisco I. Madero, usada en la etapa 2.

Tabla 6.7 Características del agua desflemada después del proceso fisicoquímico

	Grasas y Aceite (mg/L)		DQO (mg/L)		COD (mg/L)		Fenol (mg/L)	
	Lote 5	Lote 6	Lote 5	Lote 6	Lote 5	Lote 6	Lote 5	Lote 6
Recolectada de la refinería	1557	1297	653	680	316	463	80	135
Proceso Físicoquímico	66	80	363	387	161	269	62.5	110
Remoción (%)	95	93	44	43	49	42	21	19

6.5 Operación en continuo (MBMBR y MBR)

Se inicia la operación en continuo tanto del sistema de biopelícula acoplado a una membrana de filtración (MBMBR) como del reactor biológico de membrana (MBR). Como se mencionó anteriormente la operación en continuo se divide en dos etapas y los reactores en cada etapa se operaron a tres diferentes tiempos de residencia hidráulica que corresponden a 12, 9 y 6 h.

Etapa 1

Esta etapa tuvo una duración de 60 días y las características del influente cambiaron cada 30 días debido al suministro del agua desflemada. Durante los primeros 30 días de operación se alimentaron los reactores con agua desflemada correspondiente al lote 3,

mientras que para los 30 días siguientes se suministró agua desflema del lote 4. Ambos lotes fueron recolectados en la refinería Ing. Antonio M. Amor.

Etapa 2

Para la segunda etapa de la operación en continuo se utilizó agua desflema proveniente de la refinería Francisco I. Madero que corresponde al lote 5 y 6. Esta etapa tuvo una duración de 45 días. Durante los primeros 15 días de operación, se alimentaron los reactores con el lote 5 de agua desflema y se consideró un tiempo de residencia hidráulica de 6 horas. Para los siguientes 30 días que corresponden a los TRH de 12 y 9 h se utilizó el lote 6 de agua desflema.

En la tabla 6.8 se muestra la carga orgánica aplicada a los sistemas para cada TRH evaluado. El tiempo de retención celular (TRC) correspondió al período de experimentación de cada etapa debido a que no existió una purga de lodos en los sistemas durante su operación.

Tabla 6.8 Valores de carga orgánica aplicados a los sistemas MBMBR y MBR

Etapa	Experimento	TRH (h)	TRC (d)	Carga orgánica volumétrica (kg DQO/m³d)*	Carga superficial MBMBR (g DQO/m²d)
1	I	12	60	1.15	3.84
		9		1.54	5.13
	II	9		1.42	4.73
	III	6		2.10	7.01
2	IV	6	30	0.73	2.43
	V	12		0.78	2.60
	VI	9		1.04	3.47

*Carga orgánica utilizada en ambos reactores

6.5.1 Remoción de materia orgánica

Etapa 1

En ambos reactores, la concentración inicial de DQO para los experimentos I y II fue de 578 mg O₂/L y del COD de 437 mg/L. Con respecto a la remoción de materia orgánica durante el experimento I (TRH=12 h), se registró una concentración final de la DQO de 195 ± 17 mg O₂/L en el MBMBR y de 215 ± 28 mg O₂/L en el MBR que equivale a una eficiencia de remoción del 73 ± 6% y 68 ± 5%, respectivamente. La concentración final de COD en el MBMBR fue de 85 ± 12 mg /L mientras que en el MBR fue de 98 ± 7 mg /L, obteniéndose remociones del 81 ± 2.8% y del 79 ± 1.6%, respectivamente.

Para el experimento II (TRH=9 h), en el reactor MBMBR las concentraciones finales de DQO permanecieron en 209 ± 6 mg O₂/L y del COD en 88 ± 7 mg/L mientras que en el

MBR fueron de 232 ± 11 mg O₂/L para la DQO y de 91 ± 5 mg /L para el COD. Tanto para el sistema MBMBR como para el MBR, las eficiencias de remoción de DQO obtenidas fueron del $63 \pm 1\%$ y $59 \pm 4\%$, respectivamente; la tasa de remoción para el COD fue del $79 \pm 1\%$ en ambos sistemas.

Debido a que se contó con un nuevo lote de agua desflemada (Lote 4) que presentaba una concentración inicial de 528 mg O₂/L de DQO y 465 mg/L de COD, se operó nuevamente a un TRH de 9 h para evitar una desestabilización de los reactores y luego se redujo el TRH a 6 h (experimento III). A pesar de que cambiaron las concentraciones iniciales de materia orgánica, la tasa de remoción al TRH de 9 h fue similar a la obtenida con el lote 3 de agua desflemada en cada reactor. Por otro lado, se observa que la remoción de materia orgánica en el experimento III (TRH=6 h) presenta una variación irregular sobretodo en el reactor biológico de membrana (MBR) debido a que las concentraciones finales variaron entre un intervalo de 237 a 295 mg DQO/L y entre 133 a 147 mg COD/L, correspondiente al $49 \pm 5\%$ y $69 \pm 1\%$ de remoción, respectivamente. En el reactor MBMBR se registró una reducción en el intervalo de 138 a 210 mg DQO/L, equivalente al $64 \pm 7\%$ de remoción; para el COD la concentración final estuvo en el intervalo de 103 y 135 mg/L que corresponde al $74 \pm 7\%$ de remoción. El bajo desempeño de los reactores principalmente del MBR al finalizar esta etapa, se atribuye a una acumulación de grasas y aceites que desestabilizaron los sistemas.

Etapa 2

Para el experimento IV, los reactores se alimentaron con agua desflemada del lote 5. La concentración inicial de DQO y COD fue de 363 mg O₂/L y 161 mg/L, respectivamente. Con respecto a la remoción de materia orgánica para el TRH de 6 h, se obtuvo una concentración de salida en el intervalo de 20 a 28 mg DQO/L en el MBMBR y de 20 a 26 mg O₂/L en el MBR, que corresponde a una eficiencia de remoción del 86% en ambos reactores. La disminución de COD fue similar en los dos sistemas registrándose una concentración final de 25 ± 2 mg/L que equivale al 85% de remoción.

La concentración inicial para los experimentos V y VI fue de 387 mg O₂/L para la DQO y de 269 mg/L para el COD (lote 6). Para el TRH de 12 h, se lograron concentraciones finales de DQO y COD en el MBMBR de 42 ± 16 mg O₂/L y 33 ± 8 mg/L, respectivamente. En el MBR las concentraciones fueron de 62 ± 9 mg O₂/L para la DQO y de 36 ± 7 mg/L para el COD. En el MBMBR, las remociones de DQO y COD equivalen al 87% para ambos parámetros mientras que en el MBR se registró una eficiencia de remoción de DQO del $84 \pm 2\%$ y de COD del $86 \pm 2\%$. Para el último experimento que corresponde al TRH de 9 h, las concentraciones finales en el MBMBR fueron de 50 ± 6 mg DQO/L, correspondiente al $87 \pm 2\%$ de remoción y de 33 ± 2 mg COD/L equivalente a una remoción $88 \pm 0.8\%$. En el MBR se registró una concentración final de 60 ± 10 mg DQO/L ($\eta = 84 \pm 2\%$) y 36 ± 2 mg COD /L ($\eta = 86 \pm 2\%$).

La figura 6.7 presenta el comportamiento de la remoción de materia orgánica durante toda la operación en continuo de los dos sistemas. Se observa que durante la primera etapa las

concentraciones finales de DQO y COD en el reactor MBMBR siempre fueron menores en comparación con el reactor MBR. Sin embargo, a partir del día 60 de operación y con excepción de algunos puntos, las concentraciones finales de materia orgánica fueron similares mostrando poca variación entre los dos sistemas. Esto indica la robustez y eficiencia de los dos reactores biológicos propuestos en este trabajo, los cuales tienen la capacidad de remover altas concentraciones de materia orgánica a tiempos de residencia hidráulica más cortos de que los que se manejan actualmente en las refinerías de petróleo (TRH de hasta 80 h).

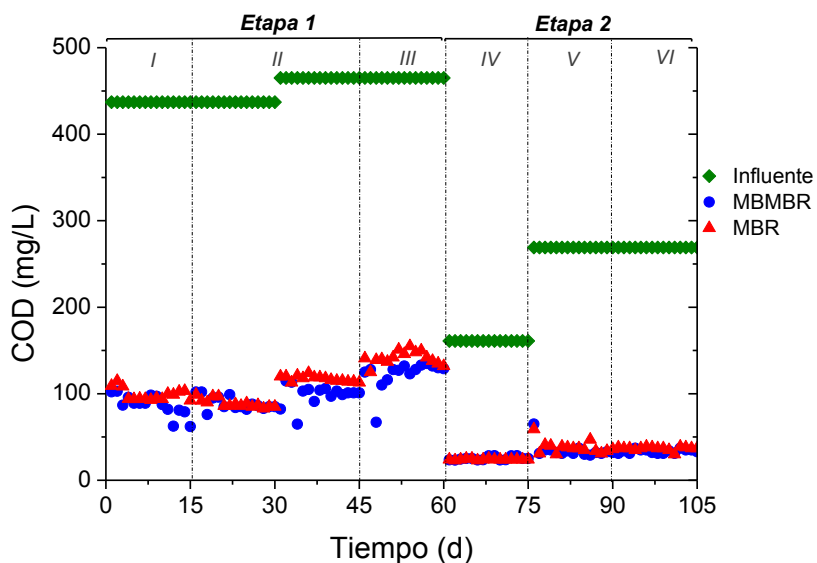
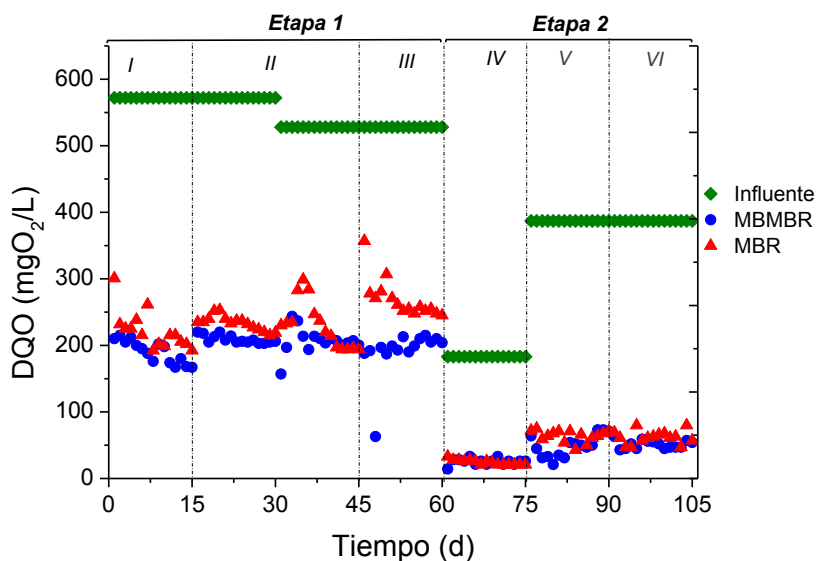
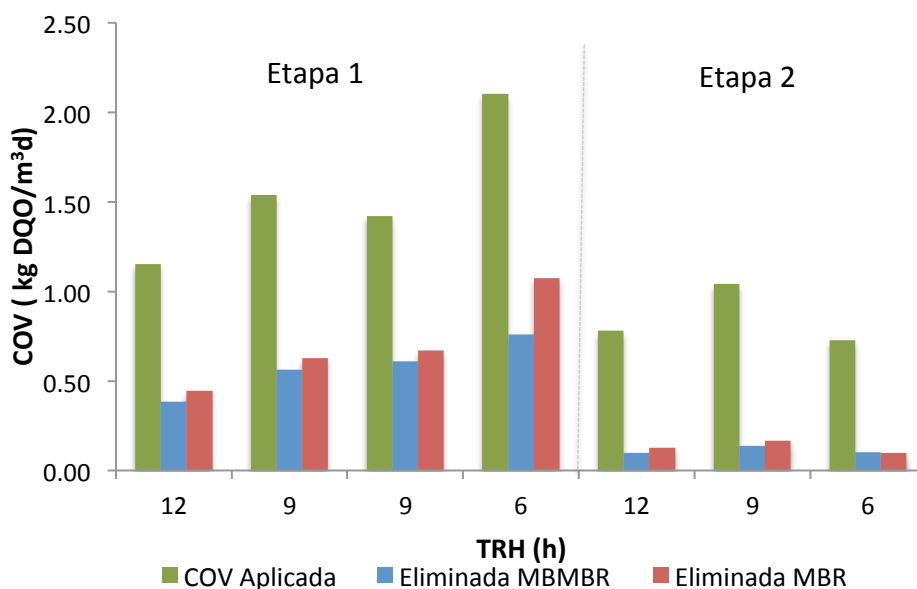


Figura 6.7 Concentraciones de materia orgánica a la entrada y salida de los reactores
(a) DQO y (b) COD

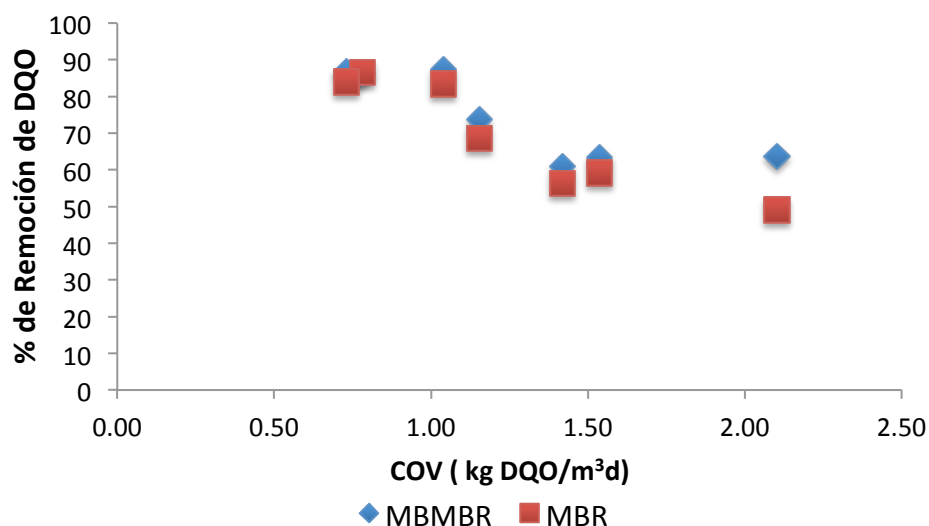
Las concentraciones finales de DQO obtenidas son similares a las reportadas en la literatura para el tratamiento de aguas residuales de refinerías (Jou y Huang, 2003; Rahman y Al-Malack, 2006; Viero *et al.*, 2008).

Usando la prueba T-student a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$, se encontró que $p=0.0371$, el cual es menor que α , por lo tanto se rechaza la hipótesis nula ($\mu_1=\mu_2$) y se obtiene que si existen diferencias significativas entre las concentraciones de DQO obtenidas en los dos reactores. Las concentraciones finales de DQO obtenidas en el reactor biológico de membranas (MBR) fueron significativamente más altas que las registradas en el reactor de biopelícula acoplado a una membrana de filtración (MBMBR). La media combinada con la desviación estándar para DQO fue de 131 ± 7.9 mg O₂/L para el MBMBR y 157 ± 9 mg O₂/L para el MBR. Mientras que para las concentraciones de COD, $p=0.1594$, y por lo tanto no existen diferencias significativas. La media combinada con la desviación estándar para el COD fue de 70.15 ± 3.6 mg/L en el MBMBR y de 77.93 ± 4 mg/L en el MBR. Las mejores eficiencias de remoción de materia orgánica durante toda la operación en continuo se observaron con los TRH de 12 y 9 h aplicadas en la segunda etapa.

Como se mencionó anteriormente, se aplicaron diferentes cargas orgánicas durante la operación en continuo que variaron entre 0.73 y 2.10 kg DQO/m³d. La figura 6.8a muestra la relación entre la carga orgánica volumétrica vs. el TRH. En la figura 6.8b se muestra la relación de la COV aplicada y la remoción de DQO. Se observa que a cargas orgánicas bajas (<1 kg DQO/m³d) los dos reactores (MBMBR y MBR) registran una buena remoción de DQO y presentan una operación más estable. Al aumentar la carga orgánica se presenta una mayor dispersión y se registran variaciones en la remoción de dicho parámetro.



(a)



(b)

Figura 6.8 (a) Relación entre la carga orgánica volumétrica vs. el TRH (b) Remoción de materia orgánica vs. carga orgánica aplicada

Sin embargo, se observa que el sistema MBMBR presenta un mejor rendimiento cuando se trabajó a cargas orgánicas mayores a 2 kg DQO/m³d, lo que se traduce a una mejor amortiguación del sistema cuando hay variaciones de carga. Por lo tanto, el sistema híbrido presenta una mayor capacidad de remoción de compuestos recalcitrantes que un sistema de sólo biomasa suspendida y por lo tanto se obtiene un efluente de mejor calidad.

Ivanovic y Leikens (2012) mencionan que no existe una diferencia en el grado de remoción de la materia orgánica entre un MBMBR y un MBR. Los autores reportan que cuando los sistemas son operados a TRH y TRC similares se logran altas eficiencias de remoción de DQO que oscilan entre el 95 y 99 %.

6.5.2 Remoción de compuestos fenólicos

Con respecto a la remoción de compuestos fenólicos presentes en las aguas desfleadas, ambos reactores presentaron concentraciones finales menores a 1 mg/L durante las dos etapas de operación en continuo. Como se observa en la figura 6.9, la concentración a la salida del MBMBR varió entre 0.2 y 0.6 mg/L y en el MBR entre 0.3 y 0.7 mg/L. Las eficiencias de remoción fueron del $99.9 \pm 0.1\%$ para ambos reactores.

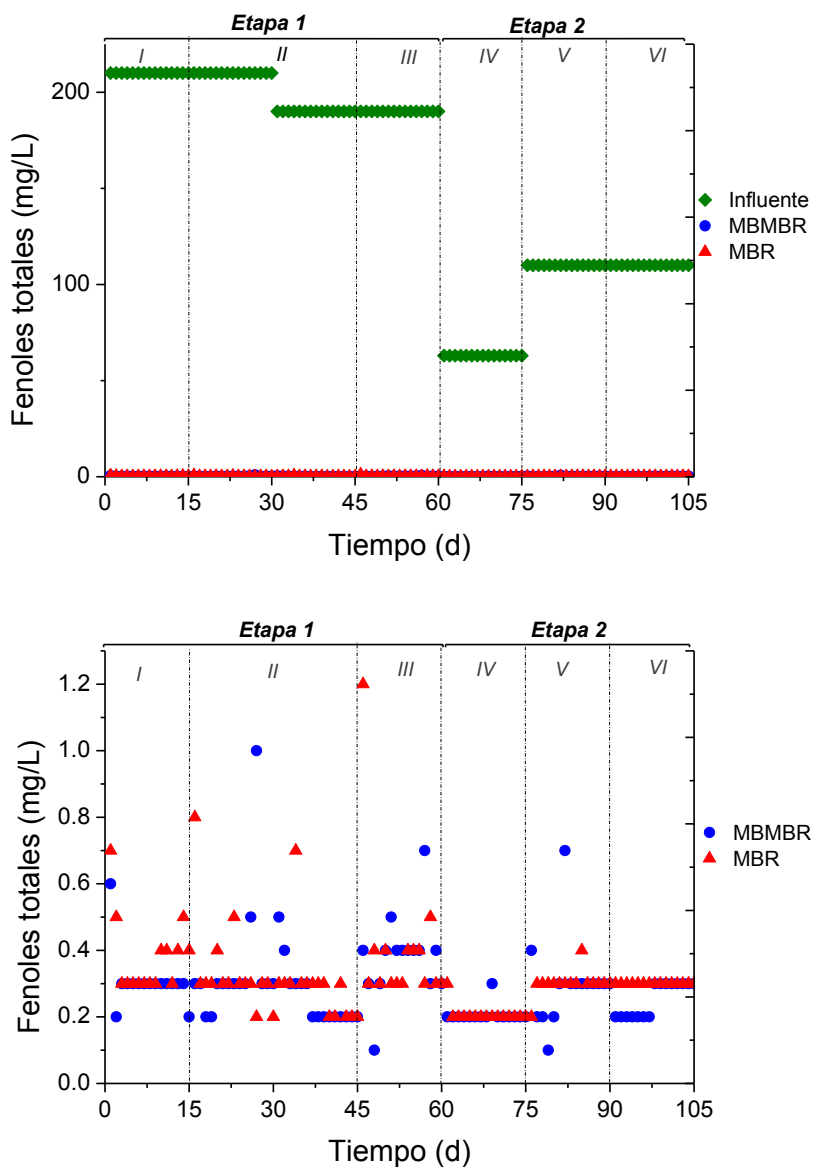


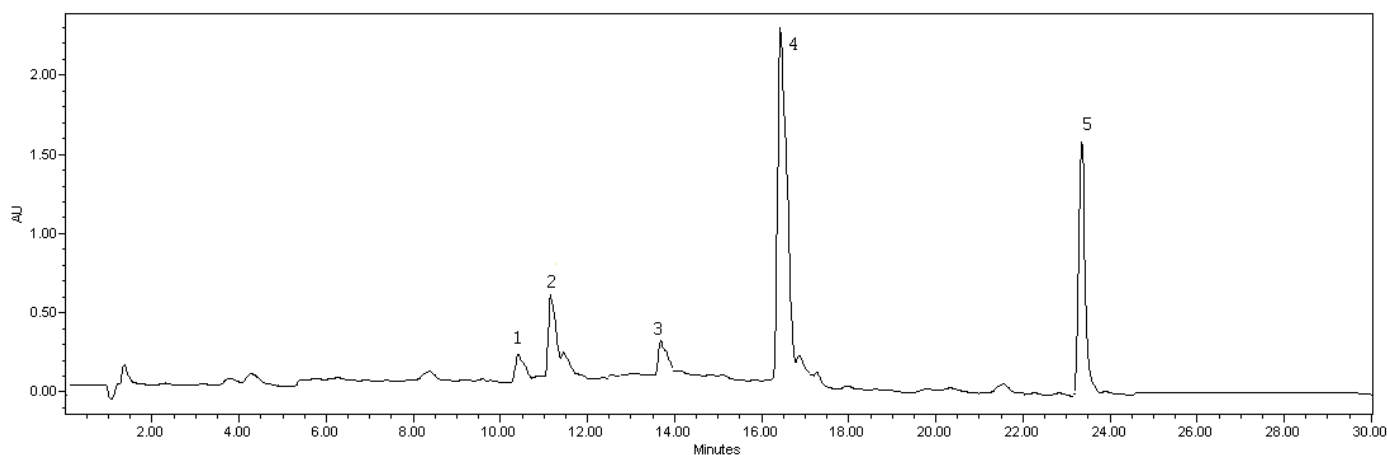
Figura 6.9 (a) Concentraciones de fenoles totales a la entrada y salida de los reactores MBMBR y MBR. (b) Concentraciones finales de compuestos fenólicos en el MBMBR y MBR

Aplicando la prueba t-student a $\alpha=0.05$, se encontró que la remoción de compuestos fenólicos en los dos reactores no presentan diferencias significativas ($p=0.1621$). Las concentraciones medias fueron de 0.2933 ± 0.01 mg/L en el reactor MBMBR y de 0.3181 ± 0.01 para el reactor MBR.

Las eficiencias de remoción de fenoles fueron similares a las reportadas en la literatura para el tratamiento de aguas residuales de refinерías. Viero *et al.* (2008) reportó eficiencias de remoción de fenol superiores al 98% durante las tres fases de operación llevadas a cabo en

un reactor MBR y Rahman y Al-Malack (2006) registró concentraciones finales de fenol en el permeado en un intervalo entre 0.85 y 3.75 mg/L. En reactores MBBR se registran eficiencias de remoción de fenol por arriba del 95% para aguas residuales de refineries (Schneider *et al.*, 2011; Dias *et al.*, 2012)

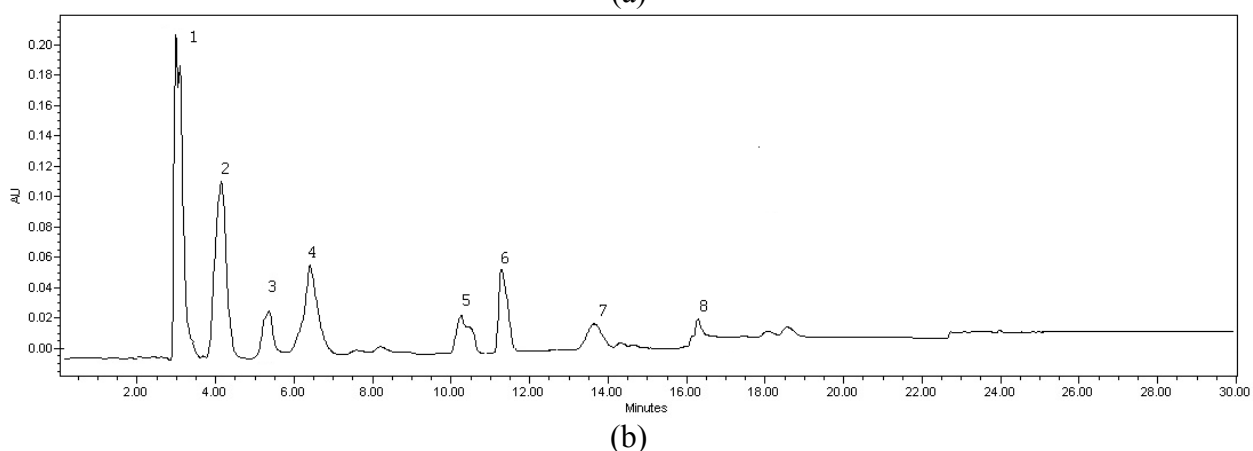
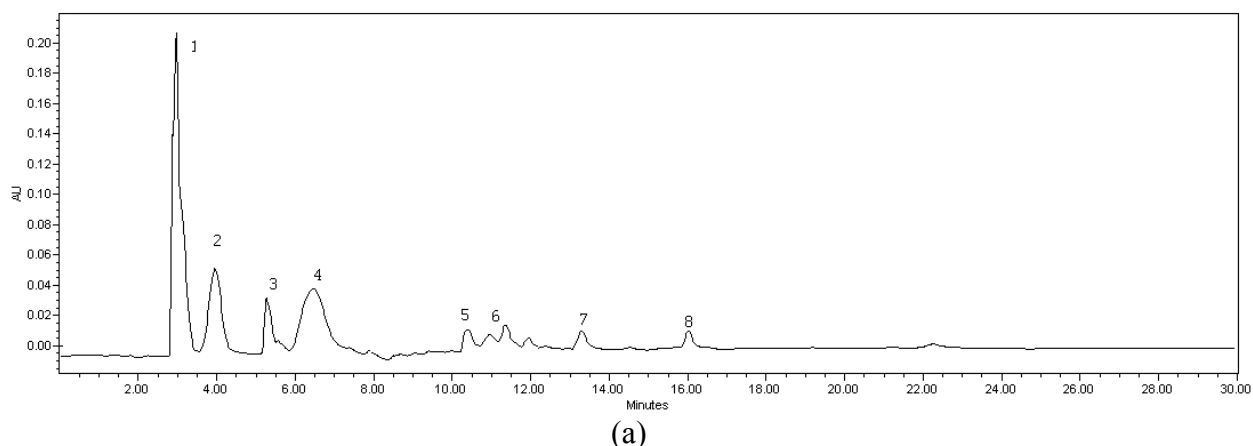
El análisis por cromatografía HPLC del agua desfleada (figura 6.10) muestra la presencia compuestos fenólicos tales como fenol y o-cresol, los cuales se registran en los minutos 16 y 23, respectivamente. También, se observaron algunos intermediarios generados en el proceso de biodegradación del fenol como son el catecol, resorcinol y ácido cis y trans-mucónico que se registran entre los minutos 10 y 13. Este resultado es similar al reportado por Lazcano (2010) quien realizó un análisis de cromatografía acoplado a espectrometría de masas para la identificación de compuestos fenólicos presentes en agua desfleada y encontró que el fenol y el 2-metilfenol (o-cresol) eran compuestos mayoritarios debido a sus concentraciones de 201.3 y 64.6 mg/L, respectivamente.



<i>Numero de Pico</i>	<i>Componente</i>	<i>Tiempo de retención (min)</i>
1	Resorcinol	10.547
2	Catecol	11.640
3	Acido trans-mucónico	13.809
4	Fenol	16.566
5	o-Cresol	23.661

Figura 6.10 Cromatograma HPLC del agua desfleada proveniente de la refinería Francisco I. Madero

Por otro lado, el análisis cromatográfico del agua tratada obtenida a la salida de los reactores MBMBR (figura 6.11a) y MBR (figura 6.11b) muestran que el fenol y el o-cresol fueron degradados por los microorganismos presentes en los sistemas debido a que no se registran en los minutos 16 y 23 como lo mostró el cromatograma anterior. Algunos autores han demostrado que factores abióticos como la aireación y el mezclado no influyen en la volatilización de los fenoles debido a que son muy solubles en agua y su presión de vapor es baja, por lo tanto se atribuye que la disminución de las concentraciones si se debe a la



<i>Numero de Pico</i>	<i>Componente</i>	<i>Tiempo de retención (min)</i>
1	Ácido Fórmico	3.245
2	Ácido Malónico	4.157
3	Acido Maleico	5.499
4	Ácido Succínico	6.204
5	Resorcinol	10.547
6	Catecol	11.640
7	Ácido Mucónico trans	13.08
8	Ácido 4-hidroxibenzoico	16.202

Figura 6.11 Cromatogramas HPLC realizados a una muestra de agua tratada en cada uno de los reactores (a) MBMBR (b) MBR

biodegradación (Yoong y Lant, 2001; Marrot *et al.*, 2006; Duan, 2011). También, se observa la presencia de algunos intermediarios, los cuales son producidos y acumulados a través de las rutas metabólicas llevadas a cabo durante la biodegradación del fenol y que no son totalmente eliminados del efluente (Marrot *et al.*, 2006). El proceso de biodegradación del fenol requiere de la presencia de oxígeno para iniciar el ataque enzimático en los anillos aromáticos. El primer paso de la ruta metabólica consiste en la incorporación de un grupo hidroxilo en el anillo que da lugar a un intermediario dihidroxilado susceptible a la acción

de dioxigenasas específicas que provocan la apertura del anillo. Los derivados dihidroxilados forman el catecol, el cual, puede ser oxidado mediante la ruta *orto* o la ruta *meta*, dependiendo de la posición en la que se efectuó la apertura del anillo. En la ruta *orto*, el anillo aromático es escindido por la enzima catecol 1,2 dioxigenasa produciendo ácido mucónico. En la ruta *meta* la ruptura del anillo ocurre por la enzima catecol 2,3 dioxigenasa dando como resultado el semialdehído 2-hidroximucónico. Los productos finales de ambas rutas son ácidos carboxílicos que pueden entrar al ciclo de kreps (Al-Khalid y El-Naas, 2012). En procesos de degradación aerobia de fenol, se ha demostrado que los microorganismos prefieren la ruta *orto* ya que es más efectiva que la ruta *meta* con respecto a la conversión de carbono a material celular (Aghapour *et al.*, 2013).

6.5.3 Compuestos nitrogenados

En ambos reactores, la concentración inicial de NH_3 durante la primera etapa varió entre 81 mg/L (experimentos I, II) y 67 mg/L (experimentos II y III). Mientras que la concentración inicial en la segunda etapa fue de 36 mg/L para el experimento IV y de 25 mg/L para los experimentos V y VI.

La figura 6.12 presenta el comportamiento de los compuestos nitrogenados en el reactor MBMBR. Durante la primera etapa, las concentraciones finales de nitrógeno amoniacal fluctuaron entre 24 y 47 mg NH_3 /L que correspondió a una eficiencia de remoción promedio de $54 \pm 4\%$. Para la segunda etapa se obtuvo una concentración final promedio de 18.5 mg NH_3 /L y una eficiencia de remoción del $41 \pm 2\%$. En general, las tasas de remoción de nitrógeno amoniacal para cada TRH fueron del 45% para 12 h, 40% para 9 h y 57% para 6 h durante la primera etapa y del 47%, 48% y 60% para los tiempos de residencia hidráulica de 6, 12 y 9 h de la segunda etapa, respectivamente.

Se observa que durante el primer experimento se registran las concentraciones más altas de N-NH_3 debido probablemente a que las bacterias nitrificantes se estaban desarrollando en el medio. Sin embargo, con el paso de los días fue posible registrar un consumo de N-NH_3 y la formación de nitrato en el efluente, lo que se atribuye a que la remoción de nitrógeno aumentaba a medida que iba aumentando el grosor de la biopelícula (Yang *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010). Se registró un aumento en la concentración de nitratos que varió entre 2.8 y 30 mg N-NO_3 /L en el efluente durante los seis experimentos en comparación con la concentración en el influente ($< 1\text{mg N-NO}_3$ /L). Las concentraciones de nitrito no fueron medidas a lo largo de este estudio, debido a que las bacterias que oxidan nitrito son considerados microorganismos más eficientes y dominantes que las bacterias que oxidan amonio (Yun *et al.*, 2004), de modo que el nitrito producido es prontamente convertido a nitrato. Con respecto al nitrógeno orgánico se observó que hubo una disminución pero se considera que la mayor parte del nitrógeno orgánico fue sintetizado por la población microbiana para formar nuevo material celular.

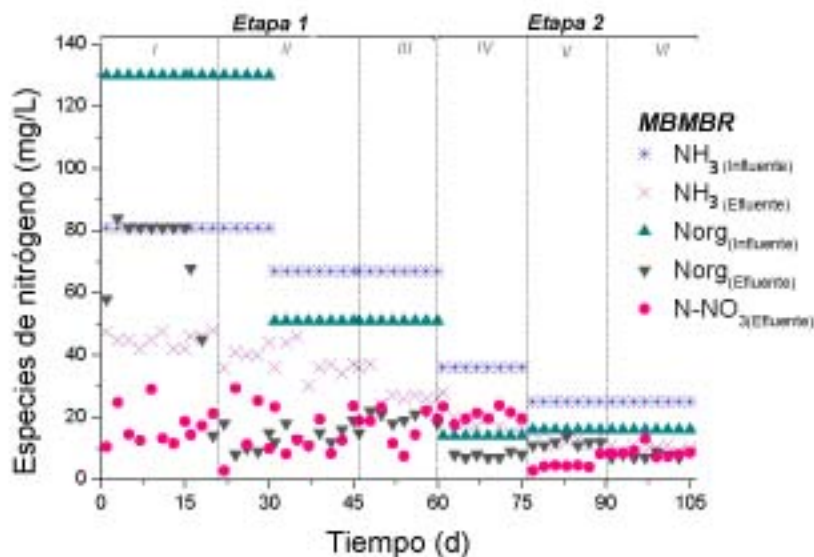


Figura 6.12 Concentraciones de los compuestos nitrogenados a la entrada y salida del reactor MBMBR

De esta forma, la medición de las concentraciones de nitrógeno amoniacal y de nitratos fueron suficientes para evidenciar si se presentaba o no el proceso de nitrificación. El nitrógeno total lo constituyeron el nitrógeno amoniacal y los productos que resultan de los procesos de nitrificación, en este caso nitratos (Valdivia, 2005). El balance de masa de las concentraciones de influente y efluente se definen de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} \text{N-NH}_3 \text{ INFLUENTE} &= (\text{N-NH}_3 + \text{N-NO}_3) \text{ EFLUENTE} \\ 58 \text{ mg N-NH}_3/\text{L} &= (28.2 \text{ mg N-NH}_3/\text{L} + 19.4 \text{ mg N-NO}_3/\text{L}) \\ 58 \text{ mg /L} &= 47.6 \text{ mg /L} + \alpha \\ \text{donde } \alpha &= \text{error} \end{aligned}$$

El balance de masa para el nitrógeno en un sistema de tratamiento de efluentes muestra que cerca del 90% del nitrógeno total disponible en el influente es metabolizado por la biomasa nitrificante y que aproximadamente el 8% desaparece posiblemente por otras reacciones microbianas como la adsorción y/o volatilización que pueden ocurrir en los sistemas aerobios (Sawaitayothin y Polprasert, 2007).

La degradación del nitrógeno amoniacal en efluentes de refinerías no es fácilmente obtenida por procesos biológicos convencionales debido a las altas cargas orgánicas aplicadas y las bajas tasas de crecimiento de las bacterias nitrificantes. Sin embargo, con los resultados obtenidos se puede afirmar que en el reactor híbrido MBMBR se tuvieron las condiciones adecuadas para que las bacterias nitrificantes se desarrollaran y transformaran el nitrógeno amoniacal en nitratos y fuera posible observar el proceso de nitrificación en conjunto con la remoción de materia orgánica. Esto se debe a la inmovilización de las bacterias nitrificantes, las cuales por el uso de soportes no fueron arrastradas fuera del

sistema, como sucede en el sistema de lodos activados y toman lugar en las capas más profundas de la biopelícula donde se logran presentar condiciones anóxicas/anaerobias. Botrous *et al.*, (2004) mencionan que en sistemas de biopelícula, ocurre normalmente una estratificación de la microbiota que favorece la distribución de las bacterias de crecimiento más acelerado en las capas superiores de la biopelícula mientras que las bacterias nitrificantes crecen y permanecen en el interior de la biopelícula.

El TRC es un parámetro importante que tiene implicaciones sobre la nitrificación. Al aumentar el TRC aumenta el número de especies que pueden interactuar en el sistema enriqueciendo las posibilidades de mejorar la capacidad de eliminar diversos contaminantes (González *et al.*, 2002). Rusten *et al.* (1995) encontraron que las tasas máximas de nitrificación se alcanzan en biopelículas maduras (después de 116 días de iniciada la nitrificación) mientras que en biopelículas jóvenes sólo llegan a un 50% de eliminación de amonio. En este estudio, a un TRC de 60 días se observó que la mayor remoción de nitrógeno amoniacal fue del 57%, esto explica las eficiencias de remoción obtenidas en el MBMBR y que corresponden a una nitrificación parcial.

Ødegaard *et al.* (1994) menciona que con cargas orgánicas menores o iguales a 5 g DQO/m²d es posible remover la mayor parte de la DQO y llevar a cabo la nitrificación. Las cargas en el MBMBR variaron entre 2 y 7 g DQO/m²d, por lo tanto, si se podía presentar el proceso de nitrificación.

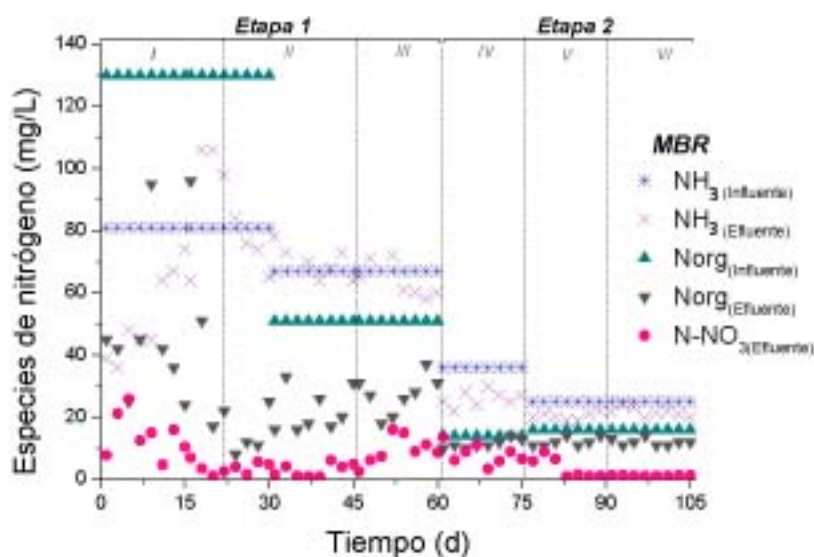


Figura 6.13 Concentraciones de los compuestos nitrogenados a la entrada y salida del MBR

En la figura 6.13 se muestra el comportamiento de los compuestos nitrogenados en el reactor biológico con membrana (MBR). La concentración de nitrógeno amoniacal en el agua tratada tuvo fluctuaciones durante la operación en continuo. Se observa una disminución en los primeros diez días de operación, lo que se atribuye a que la biomasa se

encontraba en la fase de crecimiento exponencial y por lo tanto el consumo de nitrógeno se debe a la síntesis de material celular. En los días posteriores, no se observa una disminución en la concentración de NH_3 , que se confirma con la baja concentración de nitratos en el efluente, por lo tanto se puede afirmar que no existió el proceso de nitrificación en el sistema MBR. Conforme a lo descrito por Stepheson (2000), una de las ventajas de los MBR es la alta eficiencia de remoción de compuestos nitrogenados debido a los altos TRC; en este estudio no fue observado ese hecho y se atribuye tal vez a la alta concentración de materia orgánica y presencia de tóxicos en el influente que no permitieron las condiciones adecuadas para el crecimiento de las bacterias autótrofas.

Varios motivos pueden influir en el proceso de nitrificación debido a que las bacterias nitrificantes (autótrofas) son aproximadamente 10 veces más sensibles a factores ambientales y a la presencia de compuestos tóxicos con respecto a las bacterias heterótrofas (Juliastuti *et al.*, 2003). Para que el proceso de nitrificación se lleve a cabo es necesario controlar algunos parámetros como la temperaturas (30 y 35°C), pH (entre 7.5 y 8.6) y la concentración de oxígeno disuelto (2.0 y 3.5 mg/L). Sin embargo, estos parámetros no afectaron negativamente el sistema MBR como se detallará más adelante.

La remoción de nitrógeno total ha sido más alta en los sistemas MBMBR en comparación con los MBR convencionales (Liu *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010, Ivanovic y Leiknes, 2012)

6.5.4 Comportamiento de las especies de azufre

La figura 6.14, muestra la variación de la concentración del H_2S y sus productos de disociación (HS^- y S^{2-}) en función del pH. Se observa que a valores de pH menores de 7 se incrementa la concentración de H_2S mientras que a valores mayores de 9, la especie predominante es el ion HS^- . El ion sulfuro S^{2-} solo se forma en condiciones altamente alcalinas (pH=14).

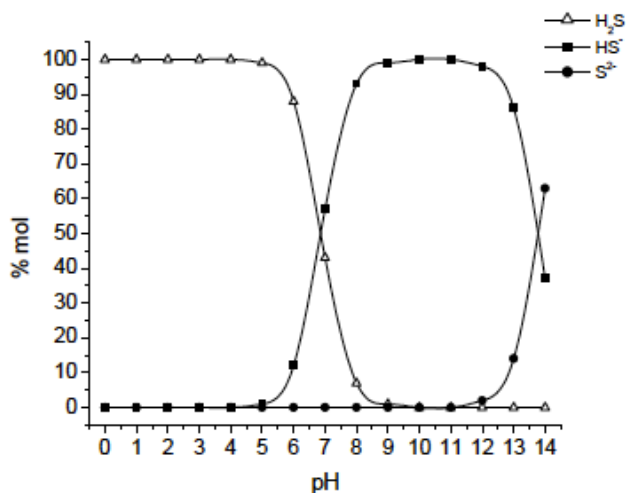


Figura 6.14 Distribución de las especies de azufre en función del pH
(Fuente: Márquez, 2004)

La solubilidad del H_2S es menor (0.40 g $\text{Na}_2\text{S}/100$ g de H_2O) en comparación con la del HS^- y S^{2-} (18.6 g $\text{Na}_2\text{S}/100$ g de H_2O) lo que significa que estas dos últimas especies son muy hidrosolubles mientras que el H_2S es parcialmente soluble. El equilibrio entre el H_2S en solución y el H_2S en la fase gaseosa es gobernado por la ley de Henry ($\text{H}_2\text{S}_{\text{aq}} = \alpha \text{H}_2\text{S}_{\text{gas}}$) donde el coeficiente de absorción α es de 1.99 a una temperatura de 30°C , por lo tanto el H_2S es muy volátil y puede disminuir significativamente la concentración del H_2S en la fase líquida. Los factores que influyen en la volatilización del H_2S son una disminución en el pH, aumento en la temperatura y aumento en la turbulencia del fluido, lo que significa que cualquier agitación en el medio provocaría un desprendimiento de esta especie de azufre (Churchill y Elmer, 1999).

Se observa que en las aguas desflemadas predomina el ion HS^- debido a que su pH se sitúa entre 8 y 10 unidades. Sin embargo como se mencionó anteriormente, el pH del agua desflemada se ajustó a 7 unidades antes de entrar a los sistemas biológicos para proporcionar así un crecimiento óptimo de los microorganismos, lo que originó una nueva distribución entre las especies de azufre que correspondió a que el 50% de los sulfuros disueltos estuvieran presentes como HS^- y el otro 50% como H_2S , la concentración del S^{2-} fue insignificante a este pH.

El comportamiento de las especies de azufre sólo se determinó en la primera etapa de la operación en continuo debido a que el agua desflemada utilizada en la segunda etapa (lote 5 y 6) no registró sulfuros. Como se muestra en la figura 6.15, las concentraciones iniciales de sulfuros fueron de 28 mg/L para los experimentos I y II y de 8 mg/L para los experimentos II y III. Las concentraciones finales a la salida de los reactores variaron entre 3 y 12 mg/L para el MBMBR mientras que en el MBR se encontró entre el intervalo de 3.5 y 14 mg/L.

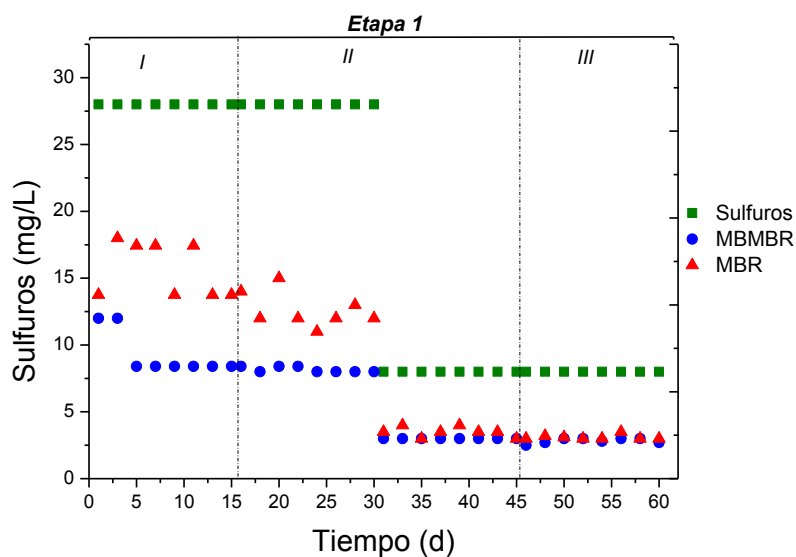


Figura 6.15 Concentraciones de sulfuros en el influente y efluente de los sistemas MBMBR y MBR

Por otro lado, la concentración de sulfatos en ambos sistemas permaneció constante durante los tres experimentos. Las concentraciones de sulfatos fueron de 1200 ± 15 mg/L para los experimentos I y II y de 800 ± 13 mg/L para el experimento II y III.

Con los resultados obtenidos, se puede suponer que no hubo una biodegradación de sulfuros en los sistemas y que la principal causa en la disminución de dicho compuesto se relaciona con la volatilización del H_2S por la disminución del pH en el agua desflorada y por la aireación dentro de los reactores. Este hecho se soporta en que no existió una oxidación de sulfuros a sulfatos debido a que no existió un aumento considerable en la concentración de estos últimos.

6.5.5 Comportamiento del pH y oxígeno disuelto (OD)

Las concentraciones de pH y OD fueron controladas y monitoreadas durante todos los experimentos debido a que la eliminación biológica de nutrientes es sensible a las variaciones de estos parámetros (Chan *et al.*, 2009). Para evitar la posible acidificación que podía ocasionarse por la generación de los ácidos carboxílicos, que son intermediarios en la degradación de los compuestos orgánicos presente en el agua residual (Watson *et al.*, 2002) se utilizó la solución buffer descrita en la tabla 5.2 (Solución A).

En la figura 6.16 se observa que el pH de ambos sistemas se mantuvo constante y cerca de la neutralidad a lo largo de todos los experimentos. Los valores de pH oscilaron entre 6.8 y 7.9. Con respecto a la concentración de oxígeno disuelto, el promedio obtenido fue de 3.6 ± 0.35 mg/L en los dos sistemas y este valor propició un buen movimiento de los soportes dentro del MBBR para que no existieran zonas muertas (Ødegaard *et al.*, 1994) y está por encima del mínimo requerido para el buen funcionamiento de los reactores.

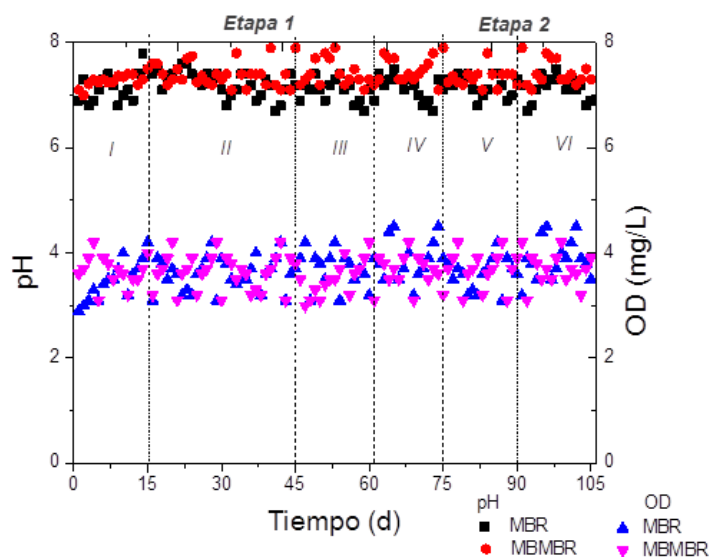


Figura 6.16 Comportamiento del pH y oxígeno disuelto (OD) en los sistemas MBMBR y MBR

Los valores de pH y OD obtenidos propiciaron las condiciones adecuadas para el crecimiento de las bacterias y reacciones biológicas llevadas a cabo en cada uno de los sistemas y estos datos fueron similares a los reportados por Yang *et al.* (2009) quienes mantuvieron el pH en un intervalo entre 7.6 - 8.5 y la concentración de OD mayor a 3 mg/L durante el funcionamiento de un reactor MBMBR y MBR.

Para llevar a cabo la nitrificación, se ha reportado que las bacterias encargadas de este proceso se desarrollan mejor en condiciones levemente alcalinas a un pH entre 7.5 y 8.6 (Mara y Horan, 2003). Se observa que en algunos casos, el pH en el sistema MBMBR fue ligeramente más alto en comparación con el MBR; sin embargo, el análisis estadístico indica que no hubo ninguna diferencia significativa de dicho parámetro entre los dos reactores. Por lo tanto, se puede inferir que el pH no tuvo un efecto sobre las variaciones en la nitrificación entre los reactores. La principal explicación para que se presentará el proceso de nitrificación en el MBMBR fueron los gradientes de concentración de OD como resultado de las limitaciones de difusión entre la fase acuosa y la biopelícula. En los procesos de biopelícula, la zona anóxica comienza normalmente a los 0.1-0.2 mm por debajo de la superficie de la biopelícula (Mara y Horan, 2003).

6.5.6 Grasas y Aceites (GyA)

Se realizaron pruebas aleatorias para determinar la concentración de GyA en el permeado de ambos reactores. Los resultados se muestran en la tabla 6.9.

Tabla 6.9 Concentración de grasas y aceites en el influente y efluente de los sistemas MBMBR y MBR durante la primera etapa

Etapa	Experimento	TRH (h)	Influente (mg/L)	Efluente MBMBR (mg/L)	Efluente MBR (mg/L)
1	I	12	195	104±23	125 ± 34
	II	9	811	410±29	633 ± 37
	III	6	811	430±23	652 ± 45
2	IV	6	66	2.0 ± 0.7	2.6 ± 0.8
	V	12	80	3.5 ± 0.4	3.5 ± 0.9
	VI	9	80	3.2 ± 0.1	3.6 ± 0.2

Al finalizar el experimento III, la actividad biológica de los microorganismos presentes en los reactores se vio afectada por la acumulación de las GyA debido a la formación de espuma y baja sedimentabilidad de los lodos principalmente en el reactor MBR, lo que provocó que unos días después los reactores colapsaran. Para comprobar si la acumulación de GyA eran las causantes de la formación de espuma y del colapso de los reactores se realizaron pruebas de dicho parámetro en el licor mezclado y se encontró una concentración de aproximadamente 20 g/L en el MBR y de 5 g/L en la fase MBBR del sistema híbrido. Por tal motivo fue necesario realizar nuevamente una aclimatación y someter el agua a un pretratamiento de GyA más eficiente. Según Galil y Levinsky (2005), la sensibilidad de los

procesos biológicos a algunos compuestos tóxicos puede provocar la reducción de la cantidad de biomasa activa en el reactor y reducir el contacto entre el sustrato y la biomasa lo que conduce finalmente a un fallo completo del proceso. Judd (2006) reporta que la presencia de espuma en los procesos de lodos activados es causada por TRC altos, temperatura elevada como también por la presencia de grasas y aceites y/o surfactantes en el influente. Además, menciona que la abundancia de actinomicetos tales como *Nocardia* o *Microthrix* se relacionan con la presencia de espuma en los reactores biológicos, sin embargo este tipo de microorganismos no se identificaron en la comunidad microbiana.

En la segunda etapa de operación, el promedio de la concentración de GyA en el efluente fue de 2.8 ± 0.4 mg/L en el MBMBR y de 3.3 ± 0.6 mg/L en el MBR, alcanzando una eficiencia de remoción mayor al 95% en ambos sistemas. Para comprobar que no se presentara una acumulación de GyA dentro de los reactores nuevamente, se realizó una medición en el licor mezclado a la mitad del tiempo de operación en esta etapa y la concentración de dicho parámetro no superó los 30 mg/L. De este modo, la actividad enzimática de los microorganismos no se vio afectada por las GyA, lo que permitió obtener mejores remociones de materia orgánica a la salida de los reactores con membrana en comparación con los sistemas de lodos activados (Sholz y Fuchs, 2000; Qin *et al.*, 2007; Wiszniowski *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2010). Sin embargo, Kurian *et al.* (2005) demostraron que el flux de la membrana puede disminuir durante un largo tratamiento de aguas oleosas debido a la presencia de residuos aceitosos y a la elevada concentración de sólidos suspendidos en los MBR.

6.5.7 Características de la biomasa

Para evaluar la cantidad de biomasa en suspensión existente dentro de los reactores se determinaron los sólidos suspendidos totales en el licor mezclado (SSLM). En el caso del reactor híbrido, a pesar de que la mayoría de la biomasa está fija en los soportes se cuantificaron los SST debido que existe un desprendimiento natural de la biopelícula que influye en la presencia de sólidos suspendidos en la fase acuosa. En la figura 6.17, se muestra el comportamiento de los SSTLM en ambos reactores y la concentración de biomasa adherida en los soportes del MBMBR.

Para el reactor MBR, se observa un incremento de la concentración de sólidos suspendidos totales en el licor mezclado durante la primera etapa de operación hasta mantenerse constante en aproximadamente 4.8 g SSTLM/L. Para la segunda etapa, se alcanzaron concentraciones aproximadas de 6 g SSTLM/L. Se observa que conforme se disminuía el TRH aumentaban los SSLM, este hecho se debe a que TRH cortos proporcionan más nutrientes a la biomasa, permitiendo un mayor crecimiento y por lo tanto una concentración mayor de SSTLM (Sombatsompop, 2007). Los valores observados demuestran la habilidad del reactor MBR para operar con concentraciones de biomasa superiores a los reportados para el proceso de lodos activados que difícilmente superan los 5 g/L. La presencia de la membrana garantizó una concentración elevada de biomasa que contribuyó a una mejor eficiencia del tratamiento y una menor producción de lodos. El contenido de SST dentro de los MBR oscila entre 8 y 15 g/L para el tratamiento de agua doméstica (Stepheson *et al.*,

2000; Rosenberger *et al.*, 2002), la baja concentración de SSTLM registrados en el MBR de este estudio se atribuye a la naturaleza de la fuente de carbono (agua tipo industrial) que pudo generar un menor rendimiento en la biomasa; sin embargo, estos valores fueron similares a las concentraciones de SSTLM reportadas para los MBR durante el tratamiento de aguas residuales de refinerías que oscilan entre 2 y 10 g/L (Rahman y Al-Malack 2006; Torres *et al.*, 2008; Viero *et al.*, 2008; Wiszniowski *et al.*, 2011). Durante todo el período de operación, la relación de SSV/SST se mantuvo siempre arriba de 0.8 indicando que no hubo acumulación de compuestos inorgánicos dentro del reactor, los cuales fueron absorbidos por la biomasa o extraídos por la membrana (Viero *et al.*, 2008) y la mayoría de los sólidos suspendidos eran microorganismos (Sombatsompop, 2007).

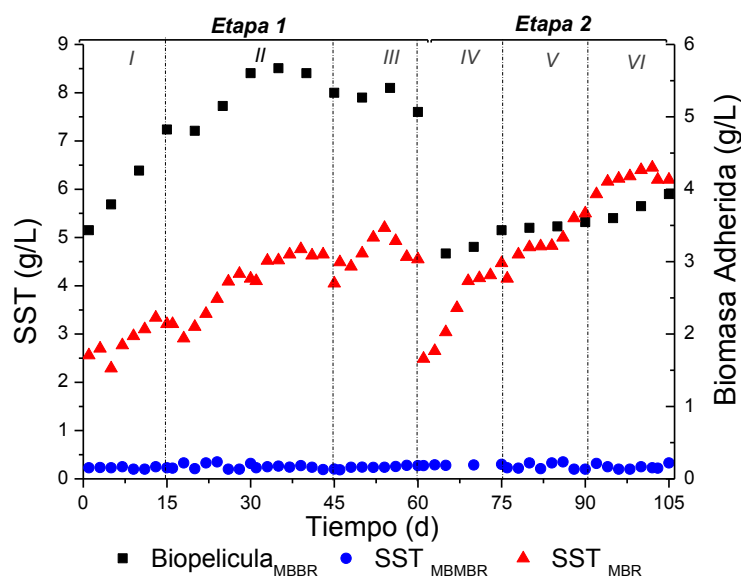


Figura 6.17 Generación de biomasa presente en los sistemas propuestos

Para el reactor MBMBR, la concentración de SST fue relativamente baja y constante. Se registró una concentración promedio de 300 ± 100 mg SSTLM/L, lo que indica que durante la operación en continuo no se presentó un desprendimiento considerable de la biopelícula que afectara el desempeño del sistema, cumpliendo con la principal característica de los reactores de biomasa adherida, en donde la mayoría de la biomasa presente en el sistema se encuentra fija en los soportes. La concentración de SSLM reportada para sistemas los MBMBR es muy variable, sin embargo, estos valores son siempre inferiores a los obtenidos en los reactores biológicos con membranas. Phattaranawik y Leiknes (2010, 2011) mencionan que por esta razón los reactores MBMBR presentan algunas ventajas sobre los MBR tales como: reducción del ensuciamiento de la membrana y baja viscosidad de los SSLM disminuyendo el consumo de energía de los sistemas de aireación.

Respecto a la cuantificación de la biomasa adherida a los soportes, se registró una concentración entre de 5.1 y 8.5 g ST/m² en la primera etapa y entre 4.6 y 5.9 g ST/m² para la segunda etapa. La concentración de biomasa adherida fue aumentando con la reducción del tiempo de residencia hidráulica obteniéndose las mayores concentraciones en el TRH de

6 h, esto era de esperarse, porque a mayor carga orgánica se registra una mayor cantidad de biomasa (Valdivia, 2005). Este hecho se comprueba con fotos comparativas de los soportes tomadas en diferentes tiempos de operación (Figura 6.18). Los valores obtenidos se encuentran dentro del intervalo de 4-9 g ST/m² que reportan Pasinetti y Emondi (2003) *apud* Valdivia (2005) para reactores de biopelícula que utilizan anillos Kaldnes como soporte. La concentración promedio de la biomasa adherida se extrapola a todo el volumen del reactor para estimar la biomasa como mg/L, los resultados fueron de 2.2 g/L para la primera etapa y 1.5 g/L en la segunda etapa. Estos resultados son congruentes con los reportados para sistemas MBMBR (Yang *et al.*, 2009) y para MBBR durante el tratamiento de aguas residuales de refinerías (Schneider *et al.*, 2011).

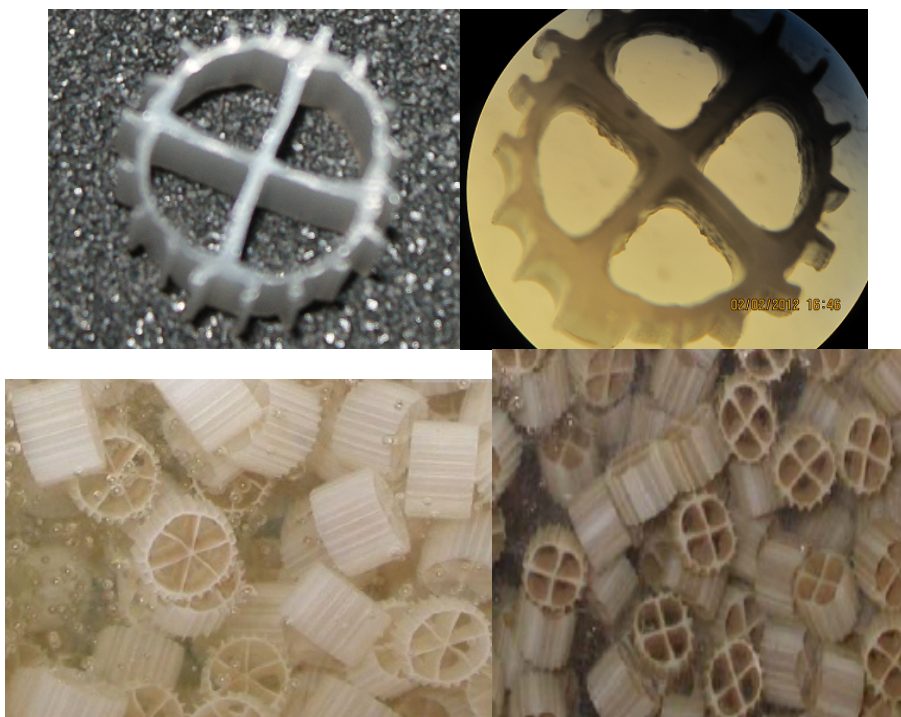


Figura 6.18 Fotografías comparativas del crecimiento de la biopelícula en los soportes

Otro de los análisis utilizados para la cuantificación indirecta de la biomasa adherida en los soportes fue la determinación de carbohidratos y proteínas totales, cuyos perfiles de concentración se muestran en la figura 6.19. Se observa una tendencia de aumento en la concentración de dichos parámetros con respecto al tiempo, lo cual se debe al incremento en la concentración celular a lo largo de los experimentos. Las concentraciones de carbohidratos totales se encontraron entre 118 y 354 mg/L mientras que la concentración de proteínas se registró entre 174 y 469 mg/L. Algunos autores reportan que en los sistemas de biopelícula la concentración de proteínas y carbohidratos es dos veces mayor que el valor obtenido en reactores de biomasa suspendida y este hecho se debe a que son un factor determinante en el proceso de adhesión de los microorganismos sobre la superficie de los soportes (Tavares *et al.*, 1994).

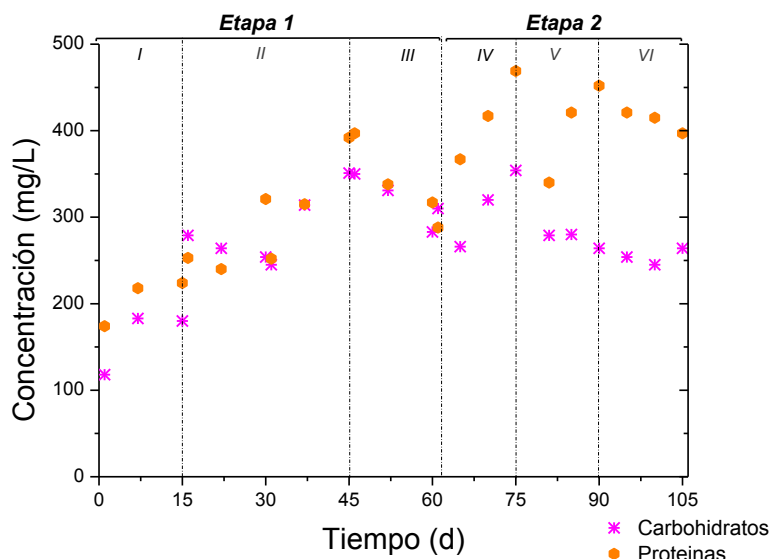


Figura 6.19 Concentración de carbohidratos y proteínas totales en el MBBR

Flemming y Wingender (2001) sugirieron que los carbohidratos son los compuestos predominantes en la composición de la biopelícula, sin embargo, otros autores reportan que las proteínas y los ácidos húmicos aparecen en cantidades significativas, siendo mayores que los carbohidratos en la biomasa (Dignac *et al.*, 1998; Nielsen *et al.*, 1997, Ng y Hermanowicz, 2005). Como sea, las concentraciones de los componentes de las SPE que conforman la biopelícula, depende de numerosos factores como el origen del lodo, la fase de crecimiento, las condiciones de operación del proceso, el tipo del reactor y del método de extracción para cuantificar las SPE.

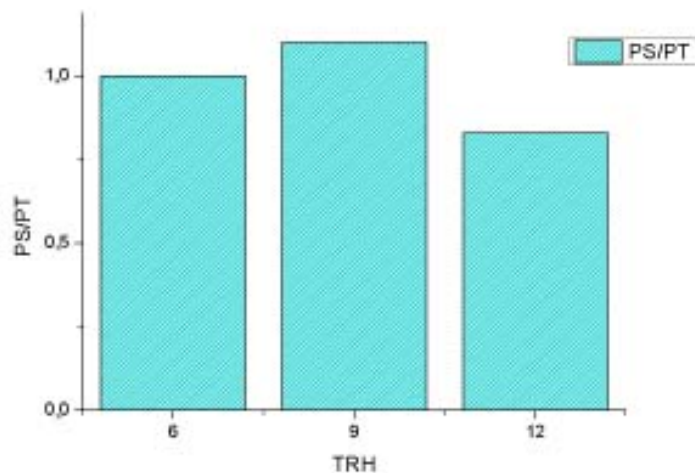


Figura 6.20 Relación PS/PT con respecto al TRH

La figura 6.20 muestra la relación entre los polisacáridos (PS) y las proteínas (PT) para cada tiempo de residencia hidráulica. Se observa que las medias de los valores para la relación PS/PT se encuentran entre 0.8 y 1.1. Estos valores son muy cercanos y por lo tanto no se observa una influencia del TRH con la relación PS/PT lo que significa que a pesar de registrarse un aumento de la biomasa adherida en los soportes, la relación entre la cantidad de carbohidratos y proteínas se mantuvo prácticamente constante a lo largo de este estudio.

6.5.8 Dureza y turbidez

La remoción de dureza en las dos etapas en continuo fue de 176 ± 5 mg CaCO₃/L lo que corresponde a una tasa de remoción del 47% para ambos sistemas. Estos resultados son consistentes con estudios reportados utilizando membranas de ultrafiltración. Xing *et al.* (2000) registraron una concentración de dureza en el permeado equivalente a 325 mg CaCO₃/L durante el tratamiento de aguas residuales municipales. Li *et al.* (2004) integraron una membrana de ultrafiltración (UF) dentro de un reactor de lecho fluidizado para la remoción de la dureza y obtuvieron una eficiencia de remoción del 60% en el sistema híbrido y del 16% sólo trabajando con la membrana. Viero *et al.* (2002), lograron una remoción de alrededor el 30% de la dureza con una membrana de ultrafiltración y del 54% con un membrana de osmosis inversa. Mancuso y Santos (2003) mencionan que el agua para reúso requiere de una concentración menor a 650 mg/L, por lo cual la dureza del agua tratada obtenida en los dos sistemas no es un inconveniente para su reúso dentro de las refinerías.

La turbidez del agua tratada fue menor a 1 UNT en ambos reactores y corresponde a una reducción mayor del 99% de dicho parámetro, lo que significa que hubo ausencia de material particulado en el permeado (Rahman y Al-Malack., 2006; Leiknes y Odegaard, 2007; Ivanovic *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2010; Phattaranawik y Leiknes, 2011).

6.5.9 Desempeño de la membrana

6.5.9.1 Presión Transmembrana (PTM)

Como se mencionó en la metodología, durante la primera etapa los sistemas no contaban con ningún tipo de instrumentación y por tal motivo la PTM se midió por medio de un manómetro durante los 60 días de operación. La PTM se mantuvo constante registrando un valor promedio de 5 kPa para el módulo de membrana del MBMBR y de 4 kPa para el MBR. También, se realizaron mediciones manuales para verificar el flujo de salida de los reactores en cada TRH, observándose variaciones mínimas (≤ 2 mL/min). Estas mediciones indicaron que la tasa de ensuciamiento fue casi nula en la primera etapa porque la permeabilidad de membrana no se vio afectada por el aumento de la PTM.

Para la segunda etapa de experimentación, la PTM se midió por medio de un transductor de presión conectado a una tarjeta de adquisición de datos. De acuerdo con la información aportada por el proveedor, el flux crítico de la membrana fue de 25 L/m²·h y el flux subcrítico de aproximadamente 20 L/m²·h. Durante toda la experimentación se trabajó a un

flux constata de 10.5 L/m²h para el TRH de 12 h, 13.8 L/m²h para el TRH de 9 h y 20.7 L/m²h para el TRH de 6 h. El flux de permeado siempre estuvo por abajo del flux crítico. El rango de flux de permeado reportado en la literatura para los MBMBR varía entre 3 y 60 L/m²h (Melin *et al.*, 2005; Leiknes y Ødegaard, 2007), sin embargo la mayoría oscila entre 13 y 25 L/m²h (Lee *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2009; Sun *et al.*, 2010).

La figura 6.21 muestra la variaciones de la PTM durante los 45 días de operación. Se observa que la PTM del reactor MBMBR varía entre 3.5 y 6.1 kPa mientras que la PTM del MBR entre 2.5 y 5.2 kPa. En ambos sistemas, la PTM no registró un rápido incremento por lo que se mantuvo relativamente constante. Este hecho se atribuye a que los sistemas MBMBR y MBR contaban con periodos de retrolavados y flujo de aire continuo que permitieron un mejor desempeño de la membrana (Leiknes y Ødegaard, 2001 y 2007; Ivanovik y Leiknes, 2008) y no fueron necesarias las limpiezas químicas. Aunque la diferencia de la PTM entre los dos reactores no es muy significativa, el reactor MBMBR registra una PTM más alta que el sistema MBR, lo que podría representar que en un largo plazo de operación el sistema MBMBR será más sensible a mostrar saltos en la PTM y por consiguiente, una tasa elevada de ensuciamiento de la membrana que el reactor MBR.

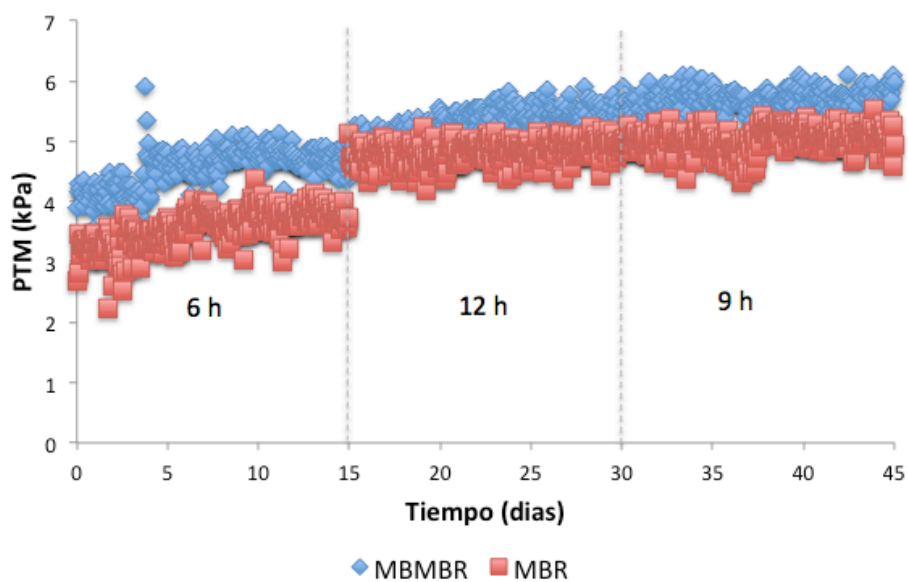


Figura 6.21 Perfiles de la presión transmembrana (PTM) durante la segunda etapa de operación en continuo

6.5.9.2 Sustancias poliméricas extracelulares solubles y enlazadas al flóculo

Las sustancias poliméricas extracelulares (SPE) son consideradas como uno de los principales contribuidores del ensuciamiento de las membranas en los procesos MBR (Drews *et al.*, 2006; Meng *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2009b). Como se mencionó anteriormente, las SPE pueden ser divididas en dos grupos: SPE ligadas o enlazadas que se encuentran adheridas a las células y las SPE solubles, que forman parte de los llamados productos microbianos solubles (PMS) que se encuentran disueltas en la

solución o débilmente ligadas a la célula (Laspidou y Rittman, 2002). Un análisis cuantitativo de las SPE tanto solubles como enlazadas a los flóculos fue realizado para comparar la concentración de SPE en ambos reactores y evaluar la influencia de este parámetro en el ensuciamiento de la membrana.

La tabla 6.10 presenta las concentraciones de las SPE solubles y enlazadas, representadas por la concentración de proteínas (PT) y carbohidratos (CB) para cada uno de los sistemas durante las dos etapas en continuo. La suma de PT y CB representan la cantidad total de las SPE (Sombatsompop *et al.*, 2006, Yang *et al.*, 2009b).

Tabla 6.10 Concentraciones de SPE solubles y enlazadas en los sistemas MBMBR y MBR

Componentes	SPE solubles (mg/L)		SPE enlazadas (mg/L)	
	MBMBR	MBR	MBMBR	MBR
Proteínas	140 ± 17	91 ± 6	269 ± 8	225 ± 6
Carbohidratos	25 ± 3	17 ± 3	113 ± 2	92 ± 3
SPE Total	166 ± 4	102 ± 6	382 ± 4	318 ± 5

Se observó que la concentración de PT y CB no cambia con respecto al TRH, indicando que la concentración de dichos parámetros se mantuvo prácticamente constante a lo largo de este estudio (Anexo 4). Sombatsompop (2007) encontró que la cantidad de SPE es independiente del TRH en sistemas con crecimiento suspendido y adherido.

Las proteínas representaron más del 70 % de la composición de las SPE, lo que significa que el contenido de proteínas es mayor a la de los carbohidratos y predominan en ambos sistemas. Estos resultados coinciden con los reportados por Yang *et al.* (2009b) y Sun *et al.* (2010). Las proteínas tienen un papel importante a la hora de estabilizar la estructura del agregado microbiano además de que actúan como enzimas durante la digestión de macromoléculas y material particulado embebido o adsorbido en la matriz (Collado *et al.*, 2011).

Muchos estudios han investigado el rol de las SPE en el ensuciamiento de las membranas, sin embargo su influencia aún es debatida (Drews *et al.*, 2008). Algunos autores han comparado el funcionamiento de los MBMBR vs. MBR y han demostrado que el comportamiento de las SPE es muy variable. Lee *et al.* (2001) y Sombatsompop *et al.* (2006) encontraron que la composición y cantidad de las SPE tanto solubles como enlazadas en los sistemas MBMBR son similares a las producidas por los MBR, sugiriendo que las SPE no son el principal factor para causar el ensuciamiento de la membrana. Otros estudios, han reportado una reducción de las SPE en los MBMBR en comparación con los MBR debido a la habilidad de la biopelícula para absorber y enlazar los productos microbianos solubles (Wang *et al.*, 2010; Liu *et al.*, 2010). Contrario a estas investigaciones, Yang *et al.* (2009) obtuvieron concentraciones altas de proteínas y polisacáridos en los MBMBR atribuido al sobrecrecimiento de bacterias filamentosas.

Las figuras 6.22 y 6.23 comparan las concentraciones de SPE solubles y enlazadas a los flóculos obtenidas en este estudio con los datos reportados en otros trabajos para reactores MBMBR operados paralelamente con MBR (Lee *et al.*, 2001; Sombatsompop *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2009b; Ng *et al.*, 2010). Se observa que las concentraciones de proteínas y carbohidratos son mayores en esta investigación y esto se debe a que el agua residual empleada fue agua real mientras que en los estudios mencionados fue agua sintética. Este hecho es importante mencionarlo debido a que se ha demostrado que las diferencias en el comportamiento del ensuciamiento de la membrana se debe al tipo de agua residual, diseño del reactor y condiciones de operación de los reactores (Ahl *et al.*, 2006). Además, cuando hay presencia de compuestos tóxicos como el fenol, los microorganismos producen una mayor cantidad de SPE que cuando es glucosa (Huang *et al.*, 2008).

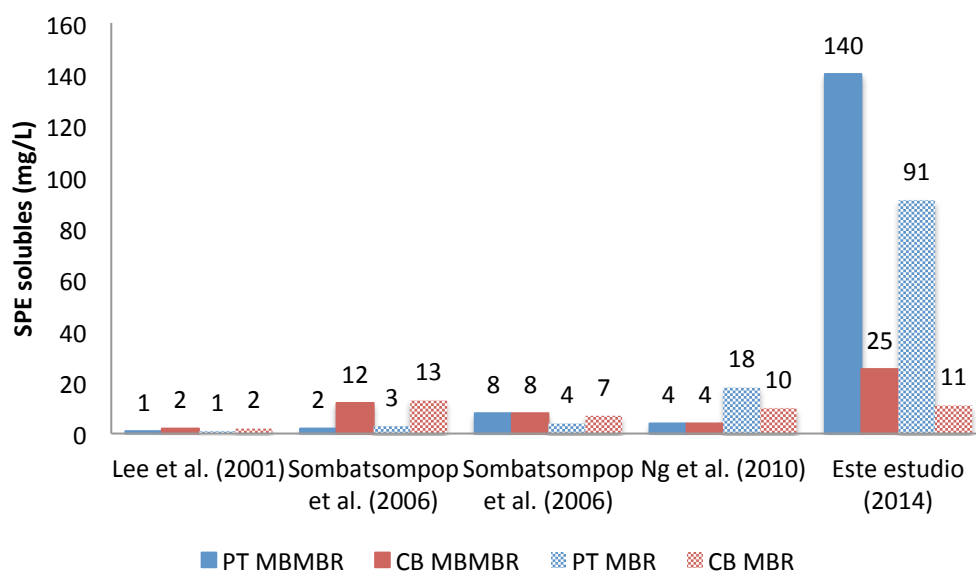


Figura 6.22 Comparación de las concentraciones de SPE solubles en MBMBR y MBR

En general, en este estudio se observa que el contenido de las SPE en el reactor MBMBR es mayor que el contenido registrado en el MBR. Las SPE son de gran importancia en los sistemas de crecimiento adherido debido a que son necesarias para la formación de la biopelícula y por tal motivo su concentración puede ser mayor en comparación con los sistemas de crecimiento suspendido (Sombatsompop, 2007). Aunque no existieron cambios significativos en la PTM ni se sobrepasó el flux crítico, el reactor MBMBR podría presentar una mayor tasa de ensuciamiento de la membrana que el reactor MBR causado por la gran cantidad de SPE presentes en el medio principalmente a las enlazadas a los flóculos (Cho *et al.*, 2005; Le-Clech *et al.*, 2006). Estos resultados concuerdan con los reportados por Yang *et al.* (2009b), Lee *et al.* (2001) y Sombatsompop *et al.* (2006), aunque estos dos últimos estudios indican que el ensuciamiento de la membrana en el sistema híbrido es causado por la distribución del tamaño de partícula y no por las SPE.

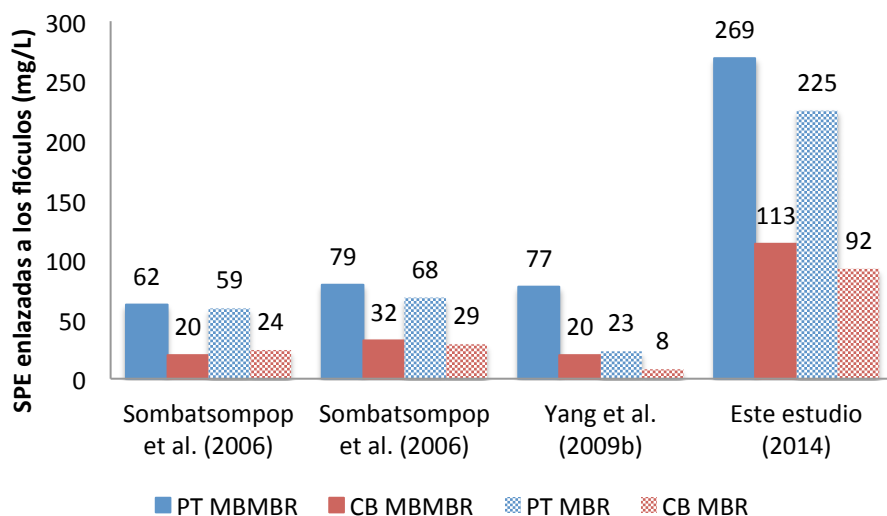


Figura 6.23 Comparación de las concentraciones de SPE enlazadas a los floculos en MBMBR y MBR

El MBMBR fue diseñado para contrarrestar el ensuciamiento de la membrana por medio del uso de soportes (Leiknes y Ødegaard, 2007; Phattaranawik y Leiknes, 2010), a pesar de que la cantidad de SSLM que se obtuvo en este estudio fue menor a 300 mg/L se observa que el MBMBR es propenso a presentar una mayor formación de la capa taponante sobre la superficie de la membrana ó un bioensuciamiento por la adsorción de componentes orgánicos (SPE) dentro de los poros. Según Ivanovic y Leiknes (2012) la fuente principal que forma la capa taponante en la membrana es el material suspendido, sin embargo, se ha demostrado que la reducción de los SSLM no garantiza un mejor rendimiento de la membrana en estos sistemas híbridos. Yang *et al.* (2009b) y Lee *et al.* (2001) encontraron tasas elevadas de ensuciamiento a bajas concentraciones de SSLM en los MBMBR, observándose la formación de una capa densa y menos porosa que llevó a una mayor resistencia y por lo tanto mayores tasas de incrustaciones. Hoy en día, aún no está claro bajo que circunstancias se presenta el ensuciamiento de la membrana debido a que son muchos factores los que afectan este fenómeno sin seguir un patrón definido. En los MBMBR el rendimiento de la membrana ha variado y parece depender de la calidad de las aguas residuales y de los SSLM (Leiknes y Ødegaard, 2007).

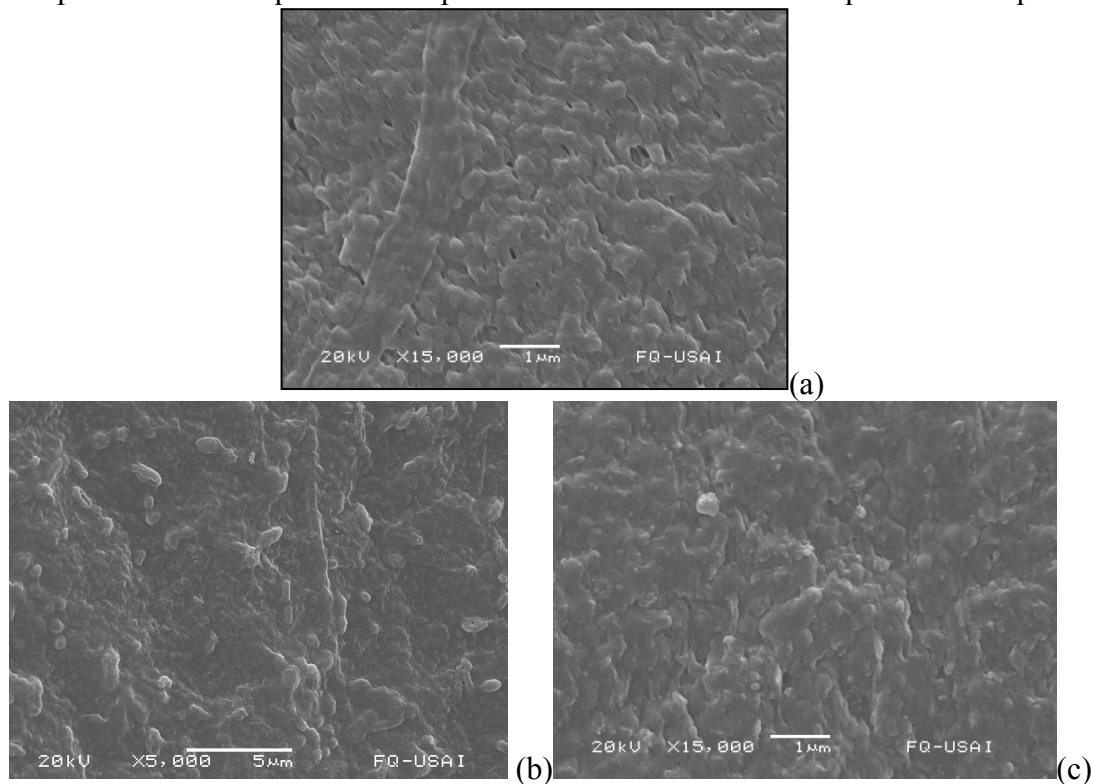
Por otro lado, en la segunda etapa de operación se calculó el índice volumétrico de lodos (IVL) para ambos sistemas. Para el MBR se obtuvo un IVL promedio de 112 mL/g y una mientras que el MBMBR presentó un IVL de 142 mL/g. Un IVL bajo indica buena sedimentabilidad de lodos; un IVL por debajo de 120 mL/g es considerado satisfactorio mientras que por encima de 150 mL/g indican presencia de bacterias filamentosas (Sombatsompop, 2006). Ambos reactores presentan buena sedimentabilidad, aunque el MBMBR presenta un IVL mayor que el MBR, este hecho se atribuye a que la mayor parte de la biomasa esta adherida a los soportes, la concentración de sólidos suspendidos es baja y son más susceptibles a la presencia de bacterias filamentosas por el desprendimiento de la

biopelícula. Ng y Hermanowicz (2005) relacionan el IVL con la cantidad de EPS totales (proteínas y polisacáridos) y verifican que la sedimentación es mejor cuando hay cantidades más altas de EPS en la biomasa.

6.5.9.3 Visualización de las membranas

En la figura 6.24 se muestran las fotografías de la membrana antes y después de la operación del MBMBR y del MBR, las cuales fueron tomadas con el microscopio electrónico de barrido (MEB).

En la figura 6.24a se muestra una micrografía de la superficie externa de la membrana sin usar donde se puede observar su superficie porosa. Las fotos 6.24 b y c corresponden a la membrana del MBR y se observa el crecimiento de algunos microorganismos sobre la superficie de la membrana. Las fotos de la membrana del reactor MBMBR (Figura 6.24 c y d) muestran la formación de la capa taponante formada sobre la superficie de la membrana y la presencia de microorganismos. Sin embargo, no se observa la formación de una capa de ensuciamiento como se reporta en la mayoría de los trabajos que estudian este tema, lo cual se puede atribuir a que el área superficial de la membrana fue superior a la requerida.



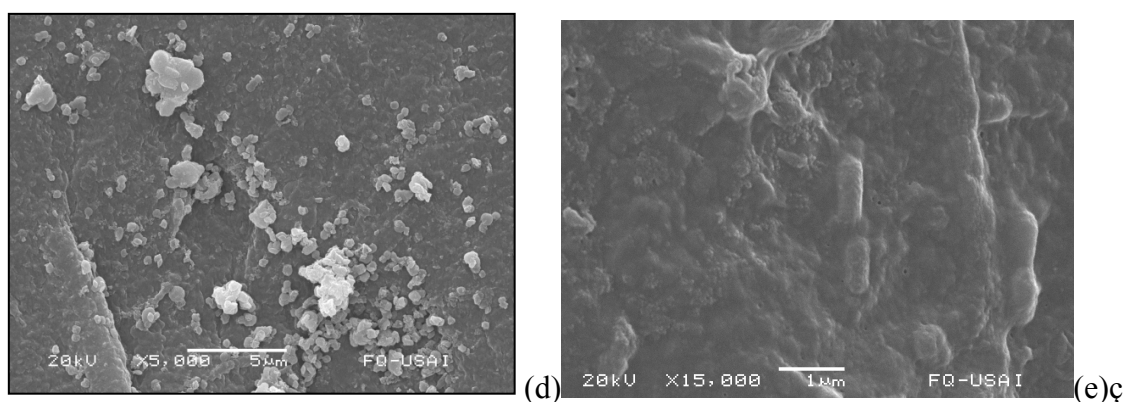


Figura 6.24 Micrografías electrónicas de la membrana limpia (a) y de la membrana usada en el MBR (b y c). Membrana usada en el MBMBR (MBMBR) (d y e)

6.6 Dinámica de la comunidad microbiana presente en los sistemas MBMBR y MBR

La figura 6.25 presenta los fragmentos enviados a secuenciar de las muestras provenientes del inóculo y de la operación en discontinuo y continuo cada reactor. Se observa que los amplicones son de aproximadamente 800 pb, demostrando que contienen los fragmentos de 600 pb insertados (primer Tx9:1392) más los 200 pb del vector (primer M13F y M13R).

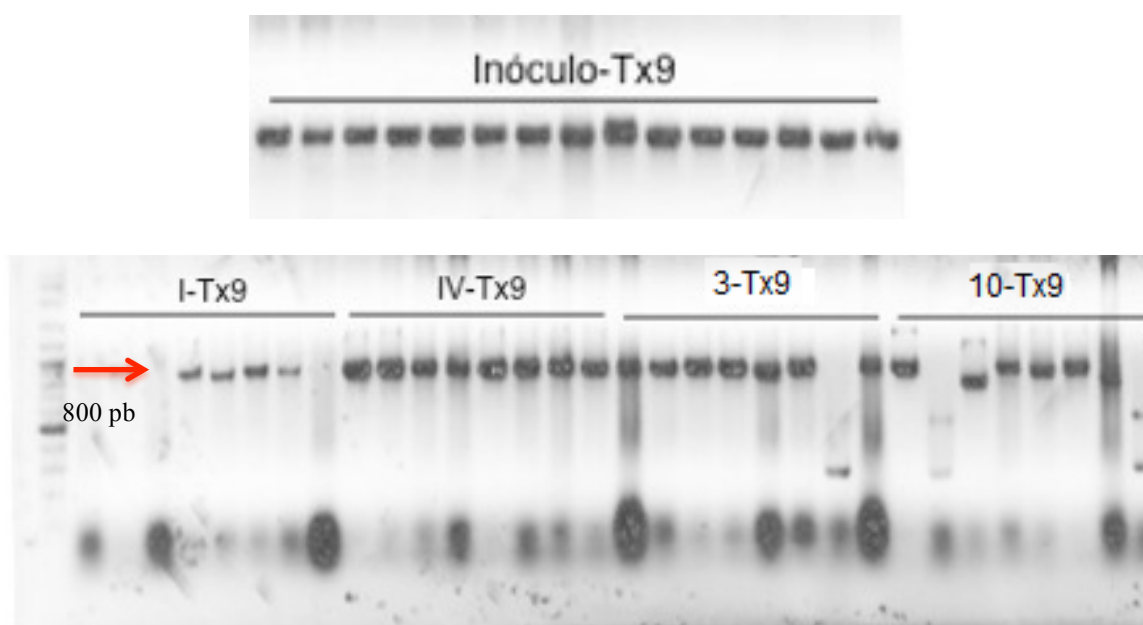


Figura 6.25 Amplificaciones de la secuencia del gen 16S rRNA
(Muestras I: MSBR, IV: MBMBR, 3: SBR, 10: MBR)

El número de secuencias analizadas y obtenidas para cada muestra se reporta en la tabla 6.11. El número de secuencias obtenidas representa el número de especies detectadas.

Tabla 6.11 Distribución de las secuencias analizadas

Muestra	Secuencias Analizadas	Secuencias Obtenidas	Especies detectadas*
Inóculo	96	88	45
SBR	48	39	5
MSBR	48	45	2
MBR	48	41	16
MBMBR	48	44	17

*Definidas como secuencias con $\leq 3\%$ de similitud (Roselló-Mora y Amann 2001)

Considerando el número de secuencias obtenidas, se observa que existe una mayor diversidad en el inóculo (45 especies detectadas), pero dicha diversidad disminuye considerablemente cuando se da inicio a la operación en discontinuo, registrándose 5 especies detectadas para el SBR y 2 para el MSBR. Luego al cambiar las condiciones de operación a régimen en continuo, algunos microorganismos presentes en el inóculo se activaron nuevamente contribuyendo a un aumento en las secuencias obtenidas en cada sistema, detectando así 17 especies para el MBMBR y 16 para el MBR.

En la figura 6.26 se muestra la distribución general de las bacterias encontradas en las diferentes etapas de operación. Se observa que en el inóculo predominan diferentes filos, destacándose las Proteobacteria (α , β y γ) y Bacteroidetes. Por el contrario, en la operación en discontinuo de los reactores, la diversidad bacteriana fue muy limitada en comparación con el inóculo debido a que sólo se registraron dos grupos de bacterias que corresponden a Betaproteobacteria y Gammaproteobacteria. En la operación en continuo, Betaproteobacteria siguen siendo el grupo de bacterias predominantes en los sistemas pero en menor proporción que en la etapa en discontinuo, además se observa la presencia de algunas bacterias que estaban presentes en el inóculo como aquellas pertenecientes a los grupos Alphaproteobacteria, Bacteroidetes, Planctomycetes, Actinobacteria, la división candidata TM7, y así como algunas bacterias no clasificadas, las cuales al momento de cambiar las condiciones de operación se activaron, aumentaron en la población y fueron detectadas en la librería de clonas.

Este primer análisis estuvo basado en la asignación que otorga el Ribosomal Database Project (<http://rdp.cme.msu.edu/classifier/classifier.jsp>) por lo que algunas secuencias no pudieron ser clasificadas correctamente. Por tal motivo, se realizó una construcción filogenética o árbol filogenético que permite asignar correctamente las secuencias obtenidas.

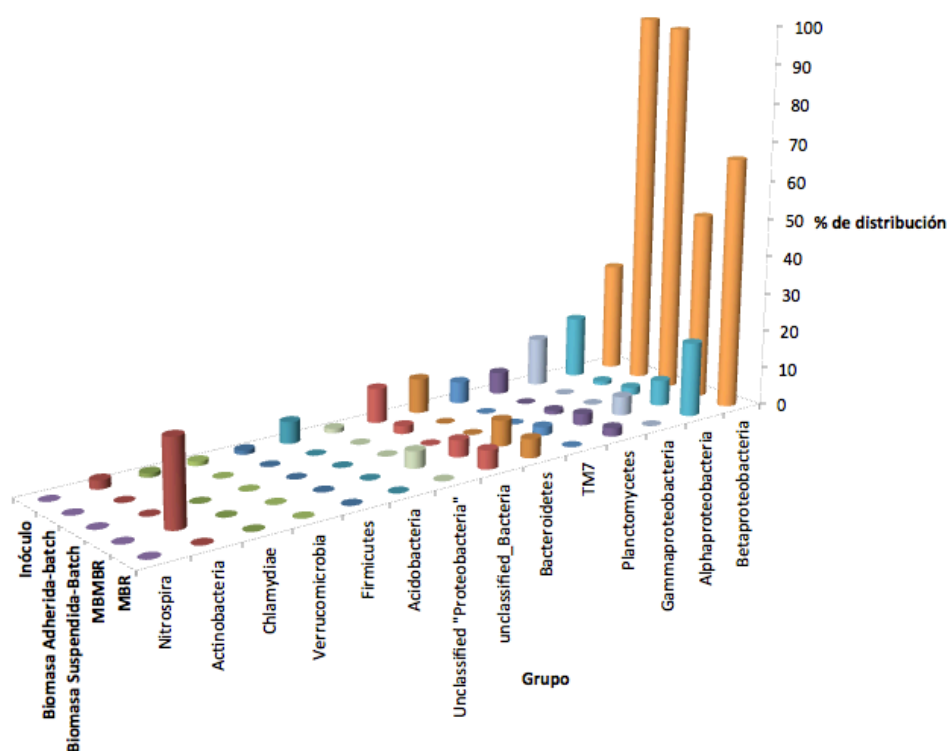


Figura 6.26 Distribución de los grupos encontrados en las diferentes etapas de operación

La figura 6.27 muestra el árbol filogenético construido a partir de las secuencias obtenidas en el inóculo y en los reactores. Con las secuencias de referencia reportadas en las bases de datos se pudieron identificar siete diferentes fila destacándose Betaproteobacteria (47%), seguido por Alfaproteobacteria (22%), Bacteroidetes (11%), Planctomycetes (11%) y en menor proporción las Gammaproteobacteria (3%), Actinobacteria (3%) y TM7 (3%). Estos resultados concuerdan con los reportados en la literatura para la diversidad microbiana presente en el tratamiento de aguas residuales urbanas y de refinерías de petróleo (Calderón *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2010; Ishak *et al.*, 2012). Las secuencias únicas y en baja proporción tanto del inóculo como de cada sistema se muestran en el anexo 5.

En general, se puede indicar que la composición de la comunidad bacteriana presente en este estudio mostró una dominancia del filo Proteobacteria, agrupadas mayormente en Betaproteobacteria y Alfaproteobacteria. En el grupo de Betaproteobacteria se destacaron aquellas de la familia Comamonadaceae y los órdenes Burkholderiales y Rhodocyclales. Mientras que en Alfaproteobacteria se encontraron Rhizobiales, Rhodobacterales y Caulobacterales. La dominancia de este filo concuerda con lo reportado por la literatura para MBR y biopelículas (Wiszniewski *et al.*, 2011; Biswas y Turner, 2012).

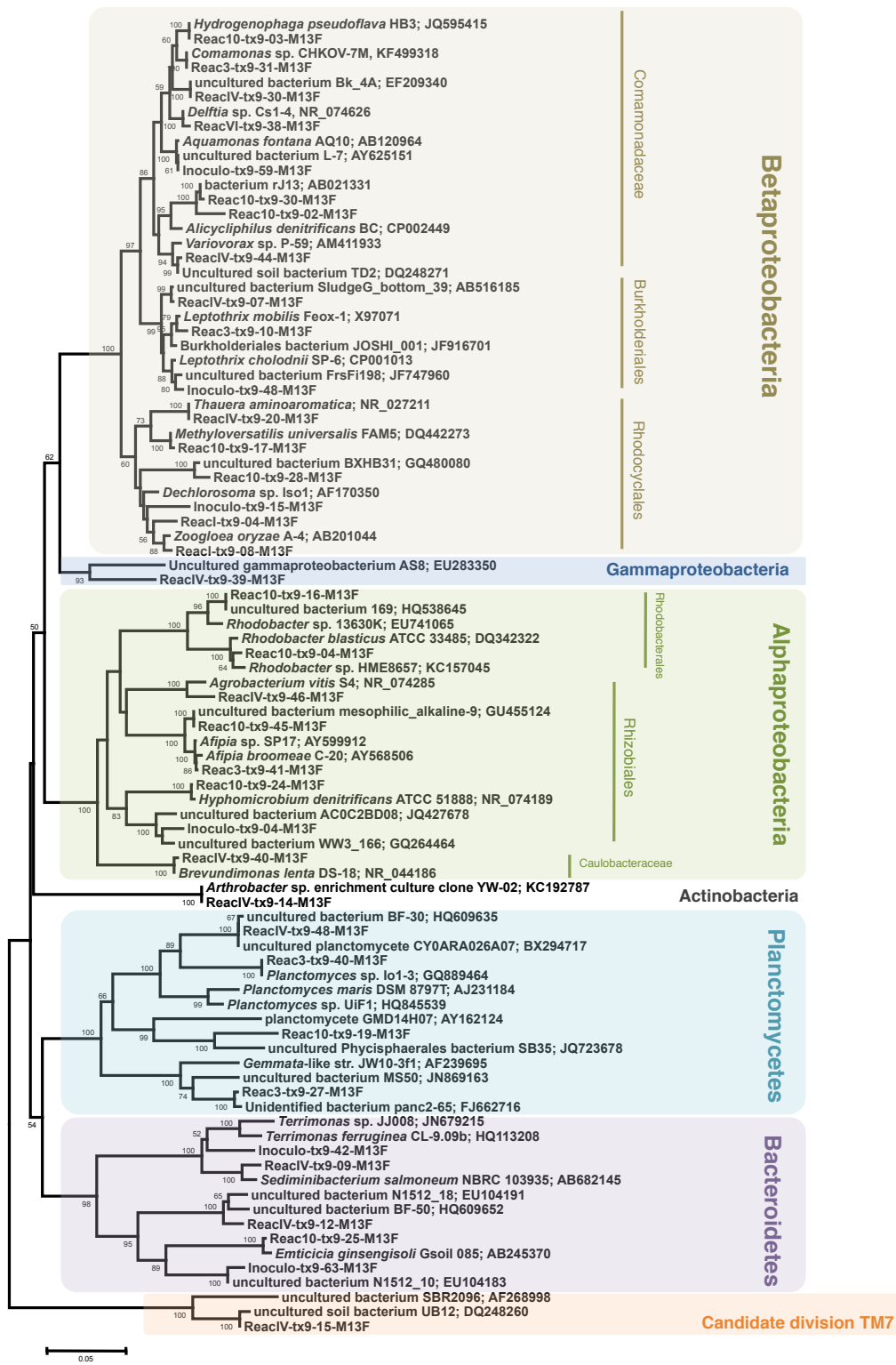


Figura 6.27 Árbol filogenético obtenido de las secuencias compartidas entre el inóculo y los reactores

Las Betaproteobacteria permanecieron constantes durante todas las etapas de operación de los reactores, contribuyendo a la estabilidad de los sistemas y sugiriendo probablemente que estas especies son los principales microorganismos responsables de la degradación eficiente de los compuestos tóxicos del agua desfleada de refinerías (Silva *et al.*, 2010). Por otro lado, las bacterias de la familia Rhodobacteraceae han demostrado estar involucradas en la degradación del fenol, debido a que tienen la capacidad de producir una escisión del anillo en compuestos aromáticos (Moreno-Andrade y Buitrón, 2012). Sin embargo, estas afirmaciones sólo podrán comprobarse realizando pruebas de RNA debido a que esta técnica permitirá identificar que bacterias trabajan exactamente en los sistemas.

Las especies del género *Zoogloea* encontradas en los sistemas MSBR y MBMBR producen un polisacárido extracelular que ayuda a formar y estabilizar la estructura de la biopelícula (Duncan y Nigel, 2003), este fenómeno podría explicar la alta concentración de SPE en el reactor MBMBR que se traduce a un mayor ensuciamiento de la membrana en comparación con el reactor MBR.

A pesar de que ambos reactores fueron inoculados con el mismo lodo, es interesante notar que las comunidades bacterianas en cada reactor muestran algunas diferencias en la dinámica y composición de población. Este hecho indica que la dinámica de las comunidades microbianas presente en los reactores se ve fuertemente afectada por las condiciones de operación y el tipo de aglomeración empleados. Esto se asemeja con los resultados de diferentes estudios (Molina-Muñoz *et al.*, 2009; Moreno-Andrade y Buitrón 2012) que reportan una dinámica buena entre las poblaciones microbianas en reactores biológicos, a pesar de que no existen diferencias significativas entre las eficiencias de remoción y otros parámetros fisicoquímicos.

6.7 Bioensayos de toxicidad del agua tratada

Se realizaron bioensayos de toxicidad para el agua desfleada del lote 4, recolectado en la refinería Ing. Antonio M. Amor y para el lote 5 de la refinería Francisco I. Madero (agua desfleada decantada con una concentración de grasas y aceites de 150 mg/L). Además, se realizaron bioensayos de toxicidad al agua tratada obtenida a la salida de los sistemas MBMBR y MBR con la finalidad de observar si los contaminantes recalcitrantes presentes en el agua desfleada fueron removidos durante el tratamiento.

6.7.1 Agua desfleada

Los resultados de los bioensayos de toxicidad para el agua desfleada de la refinería Ing. Antonio M. Amor se muestra en la tabla 6.12 y la figura 6.28 y para el agua desfleada de la Refinería Francisco I. Madero en la tabla 6.13 y la figura 6.29. Se observa que el porcentaje del índice de germinación (IG), largo del hipocótilo y la radícula disminuye al aumentar la concentración de agua desfleada.

Tabla 6.12 Largo de hipocótilo y radícula de *Lycopersicum esculentum*
(Agua desflema de Refinería RIAMA)

Agua desflema (%)	Índice de germinación (%)	Largo de hipocótilo (cm)	Largo de radícula (cm)
25	67.1	4.75 ± 1.25	3.5 ± 1.5
50	51.6	3.35 ± 1.35	2.5 ± 1.5
75	37.0	2.6 ± 1.6	1.45 ± 0.95
100	23.9	2 ± 1.5	0.95 ± 0.65

Tabla 6.13 Largo de hipocótilo y radícula de *Lycopersicum esculentum*
(Agua desflema de Refinería Madero)

Agua desflema (%)	Índice de germinación (%)	Largo de hipocótilo (cm)	Largo de radícula (cm)
25	75.1	4.35 ± 1.65	4.25 ± 1.75
50	58.5	3.85 ± 1.65	3.15 ± 1.85
75	50.4	3.5 ± 1.5	2.7 ± 1.8
100	40.2	3 ± 1.3	1.35 ± 1.35

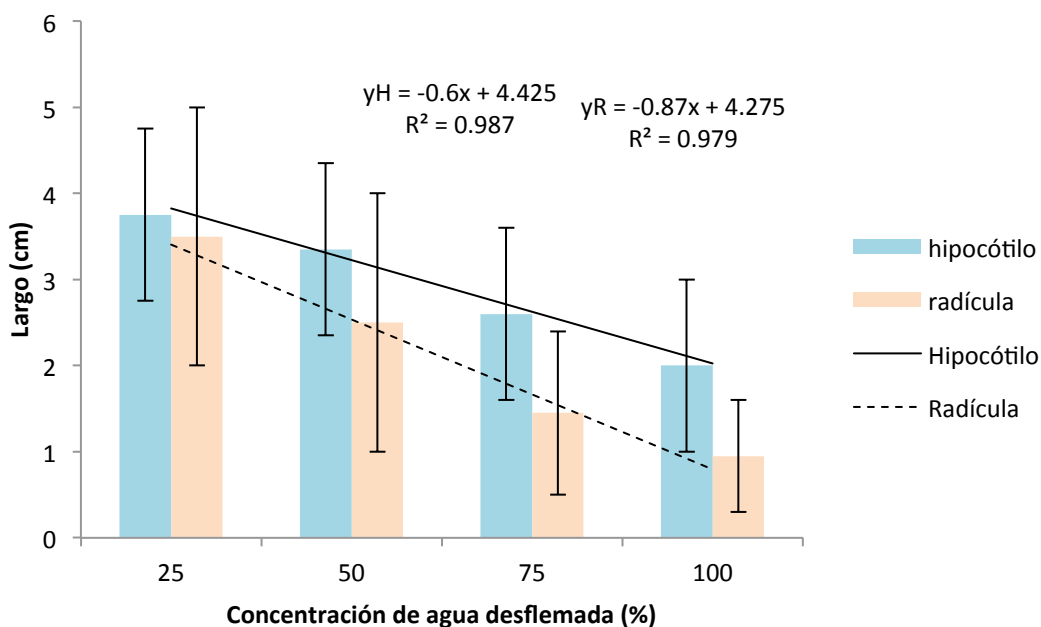


Figura 6.28 Largo de hipocótilo y radícula utilizando agua desflema de la refinería
Ing. Antonio M. Amor

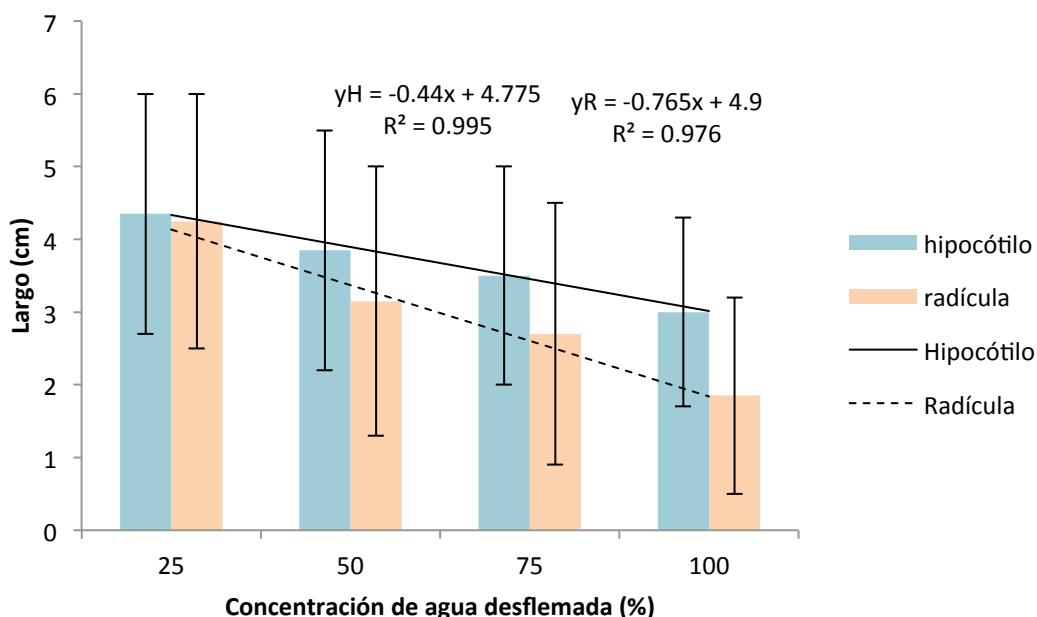


Figura 6.29 Largo de hipocótilo y radícula utilizando agua desfleada de la refinería Francisco I. Madero

Para ambos casos, los resultados del porcentaje de germinación (% IG) indican bajas tasas de germinación de las semillas, debido a que como valor patrón la tasa de germinación debe estar por arriba del 55% (ASTM, 2003). El índice de germinación (% IG) también muestra que el agua desfleada recolectada en la refinería Ing. Antonio M. Amor contiene compuestos más tóxicos que el agua desfleada de la refinería Francisco I. Madero debido a que sus % IG son mucho más bajos.

El análisis de varianza para ambos experimentos muestra que la concentración de contaminantes utilizadas presentan un efecto significativo ($\alpha = 0.01$) sobre el largo del hipocótilo y de la radícula de las plántulas de *Lycopersicum esculentum*. Por lo tanto, a medida que va aumentando la concentración de agua desfleada el desarrollo tanto de la radícula como del hipocótilo fue afectado negativamente por la presencia de los compuestos tóxicos presentes en el agua. Un estudio realizado para examinar los efectos subletales de efluentes provenientes de dos refinerías en Ontario (Canadá) sobre bacterias, algas, plantas y peces, mostraron que los efluentes inhibieron el crecimiento de *Selanastrum capricorntum* y *Lemna gibba*, y redujeron en un 15% la germinación de la *Lactuca sativa* (Sherry *et al.*, 1994 *apud* Wake 2005)

Se calculó la concentración efectiva (CE_{50}) por interpolación lineal en ambos bioensayos y se obtuvo un valor de 48.16 para el agua desfleada de la refinería Ing. Antonio M. Amor y de 55.8 para el agua de la refinería Francisco I. Madero. Aplicando la relación $UT = 100/CL_{50}$ ó CE_{50} , se obtiene:

$$UT_a = 100/48.16 = 2.07 UT_{\text{Salamanca}}$$

$$UT_a = 100/55.8 = 1.79 UT_{\text{Madero}}$$

Según la clasificación del nivel de toxicidad de un vertimiento o cuerpo de agua en unidades de toxicidad (UT) que se mostró en la metodología (Tabla 5.6), las dos muestras de agua desflema se consideran moderadamente tóxicas. Existe una relación inversa entre la toxicidad y la concentración del bioensayo, esto es, cuanto más baja sea la concentración letal para el 50% de los organismos más alta será la toxicidad del efluente, los datos obtenidos en este trabajo confirman este hecho ya que el agua de la Refinería Ing. Antonio M. Amor presentó una concentración de efectividad menor y unidades de toxicidad más altas ($CE_{50}=48.16$; $UT=2.07$) que el agua desflema de la Refinería Francisco I. Madero ($CE_{50}=55.8$; $UT=1.79$), por lo tanto fue más tóxica. Este resultado puede ser influenciado por la remoción de GyA a la que sometió el agua residual de la Refinería de Madero.

6.7.2 Agua tratada

Los resultados del largo de hipocótilo y radícula de *Lycopersicum esculentum* para el agua tratada se muestran en la tabla 6.14. Los índices de germinación obtenidos muestran que parte de los compuestos tóxicos fueron removidos y los mejores resultados se obtuvieron en la segunda etapa debido a que el agua no contenía una alta concentración de grasas y aceites (Tabla 6.15).

Tabla 6.14 Largo de hipocótilo y radícula de *Lycopersicum esculentum* en el agua tratada

Tipo de agua tratada	Reactor	Largo de hipocótilo (cm)	Largo de radícula (cm)
Etapa 1	MBR	2.5 ± 1.2	1.65 ± 0.65
	MBMBR	2.95 ± 1.85	1.75 ± 0.75
Etapa 2	MBR	4.2 ± 3.2	3.6 ± 3.3
	MBMBR	4.7 ± 4.1	3.4 ± 2.6

Tabla 6.15 Índice de germinación de *Lycopersicum esculentum* en el agua tratada

Reactor	% índice de Germinación	
	Etapa 1	Etapa 2
MBR	50	84
MBMBR	58	94

Se calculó la concentración efectiva (CE_{50}) para la segunda etapa, y se obtuvo un valor de 108 para el agua tratada del reactor MBMBR y 103 para el agua obtenida a la salida del MBR.

$$UT_{MBMBR} = 100/109 = 0.92 \text{ UT}$$

$$UT_{MBR} = 100/103 = 0.97 \text{ UT}$$

Según la clasificación del nivel de toxicidad de un vertimiento o cuerpo de agua en unidades de toxicidad (UT) las dos muestras de agua tratada se consideran no tóxicas por que los valores son menores a 1, lo que significa que se eliminaron los contaminantes tóxicos del agua desflema y los sistemas propuestos son efectivos debido a que se presentó una disminución en el nivel de toxicidad en comparación con el agua sin tratar.

6.8 Calidad del agua tratada

El objetivo principal de este trabajo de investigación fue evaluar el desempeño de un MBMBR y de un MBR en la remoción de los contaminantes presentes en el agua desflema para obtener un efluente con la calidad requerida para su reúso. En la tabla 6.16 se muestran las características promedio del efluente de la segunda etapa de operación en los dos sistemas.

Tabla 6.16 Características del agua tratada y del agua para reúso

Parámetro	Unidad	Límite Máximo Requerido**	MBMBR	MBR
pH		6-9	6.9	7.1
Turbidez	UNT	< 50	< 1	< 1
DQO	mg/L	< 100	< 50	< 62
N-NH ₃	mg/L	< 1.0	< 10	< 18
Fenoles	mg/L	< 0.1	< 0.2	< 0.3
GyA	mg/L	< 0.1	< 3.5	< 3.6
Sulfatos	mg/L	< 200	< 800	< 800
SST	mg/L	< 100	< 0.1	< 0.1
Dureza	mg CaCO ₃ /L	< 650	< 176	< 176

** Resumen Tabla 2.4

Las características del agua obtenida en la primera etapa se descartó debido a la alta concentración de GyA que continuaba en el efluente. Sin embargo, se observa que a pesar de obtener un agua tratada de mejor calidad en la segunda etapa en los dos reactores, ésta no cumple con las especificaciones requeridas para su reúso en las torres de enfriamiento, debido a que aún hay una presencia notable de nitrógeno amoniacal y sulfatos.

7. CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación se evaluó y comparó el desempeño de un reactor biológico híbrido (MBMBR) con el de un reactor biológico con membrana convencional (MBR), durante la remoción de los contaminantes presentes en aguas residuales reales de refinerías. Las conclusiones de este estudio son las siguientes:

- En el proceso de aclimatación de la biomasa, se obtuvieron remociones del 98% de fenoles y más del 69% de la materia orgánica, por lo cual se considera que los microorganismos se adaptaron adecuadamente a la degradación de los compuestos presentes en el agua desflemada.
- En la etapa experimental con los reactores funcionando en discontinuo, las eficiencias de remoción de DQO, COD y fenoles alcanzadas en el SBR fueron del 75, 83 y 99%, respectivamente y en el MSBR del 79, 88 y 99%. Estos resultados son buenos y congruentes con los datos reportados en otros estudios realizados con aguas residuales de refinería. Aunque las diferencias obtenidas en la remoción de materia orgánica son mínimas (<5%) entre ambos reactores, se observó que cuando hay variaciones de carga el MSBR presenta un mejor rendimiento y mayor estabilidad debido a la mayor área disponible para el crecimiento de la biomasa.
- En los experimentos de perfiles de degradación en discontinuo, se encontró que el fenol no causa un efecto inhibitorio sobre la actividad de los microorganismos y su remoción fue de prácticamente 100%. Sin embargo, con respecto a los parámetros globales de calidad del agua (DQO) al final de los perfiles 2, 3 y 4, los valores continuaron siendo altos (> 50 mg/L), esto se atribuye a la presencia de compuestos de difícil mineralización como grasas y aceites. Se observó una inhibición mixta en

los sistemas SBR y MSBR debido a las variaciones de K_s y μ_{max} . Los valores de K_s son superiores a la concentración de sustrato inicial, lo que indica que a pesar de que los fenoles se remueven satisfactoriamente, hay compuestos presentes en el agua desflemada que los microorganismos no son capaces de degradar.

- En este estudio, se demostró que para un tratamiento biológico efectivo, las aguas residuales provenientes de refinerías deben ser sometidas a un pretratamiento para la reducción o eliminación total de las grasas y aceites debido a que afectan considerablemente la actividad de los microorganismos. Se propuso un proceso de coagulación-flotación antes de iniciar la segunda etapa de operación en continuo y se lograron las mayores eficiencias de remoción de DQO que corresponden al 88 % para ambos reactores.
- Durante la operación en continuo de los reactores MBR y MBMBR, se encontró que a cargas orgánicas bajas (<1 kg DQO/ m^3d) los dos reactores registran una remoción superior al 80% de DQO y presentan una operación estable. Al aumentar la carga orgánica se presenta una mayor dispersión y se registran variaciones en la remoción de dicho parámetro, sin embargo, el reactor MBMBR presentó un mejor rendimiento cuando se trabaja a cargas orgánicas mayores (2 kg DQO/ m^3d), alcanzando una remoción del 63% mientras que en el MBR se logró una remoción del 49%.
- La remoción de fenoles fue mayor al 99% en los sistemas MBMBR y MBR. Se observó la presencia de ácidos carboxílicos en el agua tratada, los cuales se generan durante la degradación del fenol. En general, no hay diferencias en el grado de remoción de materia orgánica y compuestos fenólicos entre el MBMBR y el MBR. Ambos sistemas logran eficiencias similares cuando se trabajan a los mismos TRH y TRC.
- La remoción de nitrógeno amoniacal fue mayor en el reactor MBMBR comparado con el MBR, 47% y 5 %, respectivamente. Este hecho se atribuye a la introducción de los soportes que proporciona un entorno adecuado para la existencia de zonas anóxicas en el interior del reactor, permitiendo llevar a cabo el fenómeno de nitrificación.
- Se presentaron remociones del 50% de sulfuros, lo cual se atribuye a la desorción de estos compuestos por la aireación del sistema, considerando que la concentración de sulfatos durante la operación permaneció constante en el influente y efluente del MBMBR y MBR.
- La concentración de sólidos suspendidos totales en el MBR se registró entre 4.8 y 6 g SSLM/L mientras que en el MBMBR fue de aproximadamente 0.3 g SSLM/L. La relación SSV/SST se mantuvo siempre arriba de 0.8 en ambos reactores. La

concentración de biomasa adherida a los soportes Kaldnes K1 osciló entre 5.1 y 8.5 g ST/m².

- El reactor MBMBR registró una PTM más alta (3.5 y 6.1 kPa) que el MBR (2.5 y 5.2 kPa), este hecho se atribuye a la alta cantidad de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) que ocasionaron una tasa más alta de ensuciamiento de la membrana en el reactor MBMBR, a pesar que la concentración de sólidos suspendidos en el MBMBR fue más baja.
- En forma general, se observa que los sistemas propuestos en este estudio presentan ventajas y desventajas que influyen en su funcionamiento y desempeño y por tal motivo la selección de la mejor tecnología para el tratamiento de aguas residuales dentro de una refinería de petróleo, depende principalmente del espacio requerido, costos de operación y del cumplimiento de las normas ambientales. En esta investigación se observó que tanto el MBMBR como el MBR permitieron alcanzar altas remociones de materia orgánica y fenoles en un menor tiempo sin afectar su estabilidad en comparación con los sistemas biológicos convencionales, sin embargo, la remoción de compuestos nitrogenados en el MBMBR fue mejor que en el MBR, lo que su aplicación puede llegar a ser más atractiva en este tipo de industrias.
- Con respecto a la comunidad microbiana, se identificaron siete diferentes fila destacándose Betaproteobacteria (47%), seguido por Alfaproteobacteria (22%), Bacteroidetes (11%), Plantomycetes (11%) y en menor proporción las Gammaproteobacteria (3%), Actinobacteria (3%) y TM7 (3%). Las Betaproteobacteria fueron las bacterias más asociadas a la degradación de los compuestos tóxicos presentes en el agua desflemada en los reactores MBMBR y MBR, debido a que fueron los microorganismos capaces de resistir las condiciones de choque a las que fueron sometidas. Sin embargo, estas afirmaciones sólo podrán comprobarse realizando pruebas de RNA.
- El agua tratada de la segunda etapa fue de mejor calidad que la obtenida en la primera etapa, sin embargo, no se puede considerar un efluente adecuado para reúso en torres de enfriamiento debido a que no cumple con los requerimientos de calidad recomendados y/o establecidos.

8. REFERENCIAS

- Aghapour A.A., Moussavi G., Yaghmaeian K. (2013). Biological degradation of catechol in wastewater using the sequencing continuous-inflow reactor (SCR). *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 11:3.
- Ahl R.M., Leiknes T., Ødegaard H. (2006). Tracking particle size distributions in a moving bed biofilm membrane reactor for treatment of municipal wastewater. *Water Science and Technology*, 53(7): 33-42.
- Al-Khalid T., El-Naas M. (2012). Aerobic biodegradation of phenols: A comprehensive review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 42: 1631-1690.
- Al-Malack M.H. (2007). Performance of an immersed membrane bioreactor (IMBR). *Desalination*, 214: 112-127.
- Al Zarooni M., Elshorbagy W. (2006). Characterization and assessment of Al Ruwais refinery wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, A136: 398-405.
- Alva-Argáez A., Kokossis A.C., Smith R. (2007). The design of water-using water-pinch decomposition. *Chemical Engineering Journal*, 128: 33-46.
- Amor L., Eiroa M., Kennes C., Veiga M.C. (2005). Phenol biodegradation and its effect on the nitrification process. *Water Research* 39: 2915-2920
- Amstrong T, Scott B., Taylor K., Gardner A. (1996). Refining details, notebook: Sour water stripping. Today's Refinery, June.
- Andreottola G., Foladori P., Ragazzi M., Villa R. (2002). Dairy wastewater treatment in a moving bed biofilm reactor. *Water Science and Technology*, 45 (12): 321-328.
- APHA, AWWA and WEF (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21st Edition, USA, ISBN: 0875530478.
- ASTM E 1963-02. (2003). Standard Guide for Conducting Terrestrial Plant Toxicity Tests. *American Society for Testing and Materials*. USA.
- Ayati B., Ganjidoust H., Mir Fattah M. (2007). Degradation of aromatic compound using moving bed biofilm reactors. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 4 (2):107-112.
- Aygun A., Nas B., Berktaş A. (2008). Influence of high organic loading rates on COD removal and sludge production in moving bed biofilm reactor. *Environmental Engineering Science*, 25: 1311-1316.
- Bajaj M., Gallert C., Winter J. (2008). Biodegradation of high phenol containing synthetic wastewater by an aerobic fixed bed reactor. *Bioresource Technology*, 99: 8376-8381

- Barrios-Martinez A, Barbot E., Marrot B., Moulin P., Roche N. (2006). Degradation of synthetic phenol-containing wastewaters by MBR. *Journal of Membrane Science*, 281: 288–296
- Berné F., Cordonnier J. (1995). Industrial Water Treatment. Institut Français du Pétrole Publications. Editions Technip. Paris. 248 pp.
- Bernet N., Dangcong P., Delgenes J.P., Moletta R. (2001). Nitrification at low oxygen concentration in biofilm reactor. *Journal of Environmental Engineering-Asce*, 127(3): 266-271.
- Biswas K., Turner S.J. (2012). Microbial Community Composition and Dynamics of Moving Bed Biofilm Reactor Systems Treating Municipal Sewage. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(3): 855-864.
- Botrous A.E.F., Dahab M.F., Miháltz P. (2004). Nitrification of high strength ammonium wastewater by a fluidized-bed reactor. *Water Science and Technology*, 49 (5-6): 65-71.
- Bouhabila E., Ben Aim R., Buisson H. (2001). Fouling characterization in membrane bioreactors. *Separation and Purification Technology*, 22–23: 123–132.
- Bourgeois K.N., Darby J.L., Tchobanoglous G. (2001). Ultrafiltration of wastewater: effects of particles, mode of operation, and backwash effectiveness. *Water Research*, 35 (1): 77-90.
- Broch-Due A., Anderson R., Kristoffersen O. (1994). Pilot plant experiences with an aerobic moving biofilm reactor for the treatment of NSSC wastewater. *Water Science and Technology*, 29 (5-6): 283-294.
- Buitrón G., Gonzalez A., Lopez-Marin L.M. (1998). Biodegradation of phenolic compounds by an acclimated activated sludge and isolated bacteria, *Water Science and Technology*, 37 (4–5): 371–378
- Calderón K., Martín-Pascual J., Poyatos J.M., Rodelas B., González-Martínez A., González-López J. (2012). Comparative analysis of the bacterial diversity in a lab-scale moving bed biofilm reactor (MBBR) applied to treat urban wastewater under different operational conditions. *Bioresource Technology*, 121: 119-26
- Centeno C.M., Legendre P., Beltrán Y., Alcántara-Hernández R.J., Lidström U.E., Ashby M.N., Falcón L.I. (2012). Microbialite genetic diversity and composition relate to environmental variables. *FEMS Microbiology Ecology*, 82: 724-735.
- Cicek N., Franco J.P., Suidan M.T., Urbain V., Manem J. (1999). Characterization and Comparison of a Membrane Bioreactor and a Conventional Activated Sludge System in the Treatment of Wastewater Containing High-Molecular-Weight Compounds. *Water Environmental Research*, 71: 64-70.
- Cicek N., Macomber J., Davel J., Suidan M.T., Audic J., Genestet P. (2001). Effect of solids retention time on the performance and biological characteristics of a membrane bioreactor. *Water Science and Technology*, 43 (11): 43-50.

- Cohen Y. (2001). Biofiltration – the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review. *Bioresource Technology*, 77: 257-274.
- Coelho A., Castro V.A., Dezzoti M., Sant' Anna Jr.G.L. (2006). Treatment of petroleum refinery wastewater by advanced oxidation processes. *Journal of Hazardous Materials*, 137:178-185.
- Collado S., Laca A., Díaz M., Simon P., Abellan M., Polo M., Rancaño A. (2011) Sustancias Poliméricas Extracelulares (SPE) en Sistemas de Tratamiento de Aguas. I Tipos y Formación. *Tecnología del Agua*, 333: 40-48
- Costerton J.W. (1999). Introduction to biofilm–Discussion. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 11: 217-221.
- Côté P., Buisson H., Pound C., Arakaki G. (1997). Immersed membrane activated sludge for the reuse of municipal wastewater. *Desalination*, 113 (2-3): 189-196.
- Côté P., Belli L., Rondi S., Meraviglia I. (2004) Brescia large-scale membrane bioreactor: case study. *Paper Presented at UK MAIN*, May, Cranfield University, UK.
- Chan C.H., Lim P.E. (2007). Evaluation of sequencing batch reactor performance with aerated and unaerated FILL periods in treating phenol-containing wastewater. *Bioresource Technology*, 98: 1333–1338.
- Chan Y.J., Chong M.F., Law C.L., Hassell D.G. (2009). A review on anaerobic aerobic treatment of industrial and municipal wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 155: 1-18.
- Chang I.S., Lee C.H. (1998). Membrane filtration characteristic in membrane – coupled activated sludge system-the effect of physiological states of activated sludge on membrane fouling. *Desalination*, 120 (3): 221-233.
- Chang I. S, Clech P.C., Jefferson B., Judd S. (2002). Membrane fouling in membrane bioreactors for wastewater. *Journal of Environmental Engineering*, 128 (11): 1018-1029.
- Cho J., Song K.G., Yun H., Ahn K.H. Kim J.Y., Chung T.H. (2005). Quantitative analysis of biological effect on membrane fouling in submerged membrane bioreactor. *Water Science and Technology*, 51: 9-18.
- Churchill P., Elmer D. (1999). Hydrogen sulfide odor control in wastewater collection systems. Newea Annual Conference. *Newea Journal*, 33 (1): 57-63.
- Defrance L., Jaffrin M.Y. (1999). Reversibility of fouling formed in activated sludge filtration. *Journal Membrane Science* 157: 73–84.
- Dignac M.F., Urban V., Rybacki D., Bruchet A., Snidara D. and Scribe P. (1998). Chemical description of extracellular polymers implication on activated sludge floc structure. *Water Science and Technology*, 38 (8-9), 45-53.

- Diya'uddeen B.H., Wan Daud W.M.A., Abdul Aziz A.R. (2011). Treatment technologies for petroleum refineries effluents: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 89: 95-105.
- Dold P.L. (1989). Current practice for treatment of petroleum refinery wastewater and toxics removal. *Water Quality Research Journal of Canada*, 24 (3): 363– 390.
- Dorris T.C., Burks S.L., Curd M.R., Waller G.R., Broemeling L.D. (1972). Identification of toxic components in oil refinery effluents and determination of their effects upon the aquatic biota. *Stillwater: National Technical Information Service PB*, 213. 50 pp.
- Drews A., Lee C.H., Kraume M. (2006). Membrane fouling – a review on the role of EPS. *Desalination*, 200:186-188.
- Drews A., Vock M., Bracklow U., Iversen V., Kraume M. (2008). Does fouling in MBRs depend on SMP?. *Desalination*, 231(1–3): 141–149.
- Drews A. (2010). Membrane fouling in membrane bioreactors-Characterization, contradictions, cause and cures. *Journal of Membrane Science*, 363: 1–28.
- Duan Z. (2011). Microbial degradation of phenol by activated sludge in a batch reactor. *Environmental Protection Engineering*, 37: 53-63.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28 (3): 350-356.
- Falletti L., Conte L. (2007). Upgrading of Activated Sludge Wastewater Treatment Plants with Hybrid Moving-Bed Biofilm Reactors. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46: 6656-6660.
- Fan B., Huang X. (2002). Characteristics of a Self Forming Dynamic Membrane Coupled with a Bioreactor for Municipal Wastewater Treatment. *Environment Science & Technology*, 3: 5245-5251.
- Farhadian M., Duchez D., Vachelard C., Larroche C. (2008). Monoaromatics removal from polluted water through bioreactors—A review. *Water Research*, 42: 1325-1341.
- Flemming H.C., Wingender J. (2001). Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)-part I: structural and ecological aspects. *Water Science and Technology*, 43 (6): 1-8.
- Galil N.I., Levinsky Y. (2005). Sustainable reclamation and reuse of industrial wastewater including membrane bioreactor technologies: case studies. *Desalination*, 202: 411-417.
- Gander M., Jefferson B., Judd S. (2000). Aerobic MBRs for domestic wastewater treatment: a review with cost considerations. *Separation and Purification Technology*, 18: 119-130.
- Gao M., Yang M., Li H., Wang Y., Pan F. (2004): Nitrification and sludge characteristics in a submerged membrane bioreactor on synthetic inorganic wastewater. *Desalination*, 170: 177-185.

- García N.J. (2008) Estudio cinético de ozonación de aguas residuales de una refinería: Aguas Desfleamadas. Tesis para obtener grado de Ingeniero Químico. Facultad de química. Universidad Nacional Autónoma de México. México, Distrito Federal. 103pp.
- Gasim H.A., Kutty S.R.M., Isa M.H., Isa M.P.M. (2012). Treatment of Petroleum Refinery Wastewater by using UASB Reactors. *International Journal of Chemical and Biological Engineering*, 6:174-177
- Golla P.S., Reddy M.P., Simms M.K., Laken T.J. (1994). Three years of full-scale captor process operation at Moundsville WWTP. *Water Science and Technology*, 29 (10-11): 175-181.
- González G., Herrera M.G., Garcia M.T., Pena M.M. (2001). Biodegradation of phenolic industrial wastewater in a fluidized bed bioreactor with immobilized cells of *Pseudomonas putida*. *Bioresource Technology*, 80: 137–142.
- González Martínez S., Maldonado L.E., Barceló O. (2002) Tratamiento de aguas residuales utilizando biopelículas sobre un material poroso. XXVII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental.
- Gouy M., Guindon Sp., Gascuel O. (2010). SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. *Molecular Biology and Evolution*, 27: 221-224
- Guo W., Ngo H.H., Dharmawan F., Palmer G. (2010). Roles of polyurethane foam in aerobic moving and fixed bed bioreactors. *Bioresource Technology* 101: 1435–1439.
- Hall-Stoodley L., Stoodley P. (2002). Developmental regulation of microbial biofilms. *Current Opinion in Biotechnology*, 13: 228-233.
- Handbook of Chemistry and Physics (CRC Handbook). (2009). Edited by David R. Lide. 90th Edition. CRC Press, Florida, USA.
- Harada H., Momonoi K., Yamazaki S., Takizawa S. (1994). Application of anaerobic –UF membrane reactor for treatment of a wastewater containing high strength particulate organics. *Water Science and Technology*, 30 (12): 307-319.
- Helmer-Madhok C., Schmid M., Filipov E., Gaul T., Hippen A., Rosenwinkel K.H., Seyfried C.F., Wagner M., Kunst S. (2002). Deammonification in biofilm systems: population structure and function. *Water Science and Technology*, 46: 223-231.
- Hernandez Ramirez G. (2010). Aplicación de un sistema de carbón activado asistido biológicamente para la depuración de aguas amargas pretratadas en un proceso de desorción. Tesis de Maestría. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. México, Distrito Federal. 145 pp.
- Hidalgo A., Jaureguibeitia A., Prieto M.B., Fernandez C.B. Serra J.L., Llama M.J. (2002). Biological treatment of phenolic industrial wastewaters by *Rhodococcus erythropolis* UPV-1. *Enzyme and Microbial Technology*, 31: 221-226.

- Hosseini Koupaie E., Alavi Moghaddam R., Hashemi H. (2011). Comparison of overall performance between moving-bed and conventional sequencing batch reactor. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 8(3): 235-244.
- Hosseini S.H., Borghei S.M. (2005). The treatment of phenolic wastewater using a moving bed bio-reactor. *Process Biochemistry*, 40: 1027-1031.
- Hsien T.Y., Lin Y.H. (2005). Biodegradation of phenolic wastewater in a fixed biofilm reactor. *Biochemical Engineering Journal*, 27: 95-103.
- Huang G. (2008). Effects of glucose and phenol on soluble microbial products (SMP) in sequencing batch reactor systems. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62(2): 104-108.
- Hudson N., Doyle J., Lant P., Roach N., de Bruyn B., Stai C. (2001). Sequencing batch reactor technology: the key to a BP refinery (Bulwer Island) upgraded environmental protection system – A low cost lagoon based retro-fit. *Water Science and Technology*, 43: 339–346.
- Indu Nair C., Jayachandran K., Shankar Shashidhar. (2008). Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology*, 7 (25): 4951-4958.
- Ishak S., Malakahmad A., Isa M H. (2012). Refinery wastewater biological treatment: A short review. *Journal of Scientific & Industrial Research*, 71: 251-256.
- Ivanovic I., Leiknes T., Ødegaard H. (2006). Influence of loading rates on production and characteristics of retentate from a biofilm membrane bioreactor (BF-MBR), *Desalination*, 199 (1–3): 490–492.
- Ivanovic I., Leiknes T. (2008). Impact of aeration rates on particle colloidal fraction in the biofilm membrane bioreactor (BF-MBR). *Desalination*, 231: 182-190.
- Ivanovic I., Leiknes T. (2012). The biofilm membrane bioreactor (BF-MBR)—a review. *Desalination and Water Treatment*. 37 (1-3): 288-295
- Izanloo H., Mesdaghinia A., Nabizadeh R., Nasserli S., Naddafi K., Mahvi A.H., Nazmara Sh., (2006). Effect of organic loading on the performance of aerated submerged fixed-film reactor (ASFFR) for crude oil-containing wastewater treatment. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*. 3: 85-90
- Kurian R., Acharya C., Nakhla G., Bassi A. (2005) Conventional and thermophilic aerobic treatability of high strength oily pet food wastewater using membrane-coupled bioreactors. *Water Research*, 39(18): 4299-4308.
- Jahren S.J., Rintala J.A., Ødegaard H. (2002). Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions. *Water Research*, 36: 1067-1075.
- Johnson C.H., Page M.W., Blaha L. (2000). Full scale moving bed biofilm reactor results from refinery and slaughter house treatment facilities. *Water Science and Technology*, 41 (4-5): 401-407.

- Jou C.G., Huang G. (2003). A pilot study for oil refinery wastewater treatment using a fixed-film bioreactor. *Advances in Environmental Research*, 7: 463-469.
- Judd S. (2006). *The MBR Book. Principles and Applications of Membrane Bioreactors in Water and Wastewater Treatment*. Elsevier, Oxford.
- Judd S., Jefferson B. (2003). *Membranes for industrial wastewater recovery and re-use*. Elsevier, Oxford.
- Juliastuti S.R., Baeyens J., Creemers C., Bixio B., Lodewyckx E. (2003). The inhibitory effects of heavy metals and organic compounds on the net maximum specific growth rate of the autotrophic biomass in activated sludge. *Journal of Hazardous Materials*, 100 (1): 271-283.
- Kishino H., Ishida H., Iwabu H., Nakano I. (1996). Domestic wastewater reuse using a submerged membrane bioreactor. *Desalination*, 106: 115-119.
- Lante A., Crapisi A., Krastanov A., Spettoli P. (2000). Biodegradation of phenols by laccase immobilised in a membrane reactor. *Process Biochemistry*, 36: 51-58.
- Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23: 2947-2948
- Lapidou C.S., Rittmann B.E. (2002). A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research*, 36: 2711-2720.
- Lazcano Arriola L.M. (2010). Estudio de la oxidación química y de la biodegradabilidad en la depuración del efluente acuoso final de una refinería: Eliminación de fenoles e hidrocarburos. Tesis de doctorado. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. México, Distrito Federal. 136 pp.
- Lazarova V., Manem, J., (1995). Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 29 (10): 2227-2245.
- Le-Clech P., Chen V., Fane A.G. (2006). Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*, 284: 17-53.
- Lee J., Ahn W. Y., Lee C.H. (2001). Comparison of the filtration characteristics between attached and suspended growth microorganism in submerged membrane bioreactor. *Water Research*, 35 (10): 2435-2445.
- Lee L.Y., Hu J.Y., Ong S.L., Ng W.J., Ren J.H., Wong S.H. (2004). Two-stage SBR for treatment of oil refinery wastewater. *Water Science and Technology*, 50: 243-249.
- Lee W.N., Kang I.J., Lee C.H. (2006). Factors affecting filtration characteristics in membrane-coupled moving bed biofilm reactor. *Water Research*, 40: 1827-1835.
- Leiknes T., Ødegaard H. (2001). Moving bed biofilm membrane reactor (MBB-MR): Characteristics and potentials of a hybrid process design for compact wastewater treatment plants. *Engineering with Membranes, Proceedings*, 3-6. Granada, Spain, June.

- Leiknes T., Ødegaard H. (2007). The development of a biofilm membrane bioreactor. *Desalination*, 202: 135–143.
- Leong M.L., Lee K.M., Lai S.O., Ooi S.O. (2011). Sludge characteristics and performances of the sequencing batch reactor at differences influent phenol concentrations. *Desalination*, 270: 181-187.
- Li C.W., Jian J.C., Liao J.C. (2004). Integrating membrane filtration and a fluidized-bed pellet reactor for hardness removal. *Journal American Water Works Association*, 96 (8): 151–158
- Liang S., Song L. (2007). Characteristics and fouling behaviors of dissolved organic matter in submerged membrane bioreactor systems. *Environmental Engineering Science*. 24 (5):652-662
- Liu Q., Wang C., Yuan H., Du Y. (2010). Performance of a hybrid membrane bioreactor in municipal wastewater treatment. *Desalination*, 258 (1-3): 143–147
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal Biological Chemistry*, 193(1): 265-275.
- Madigan T.M., Martinko J.M., Parker J. (1997). Brock biology of microorganisms. 8^a Edition, Prentice Hall, New York. 912 pp.
- Mahiudddin Md., Fakhruddin A.N.M., Abdullah-Al-M. (2012). Degradation of phenol via meta cleavage pathway by *Pseudomonas fluorescens* PU1. *ISRN Microbiology*, Article ID 741820: 6 pages.
- Mahvi A.H. (2008). Sequencing batch reactor: A promising technology in wastewater treatment. *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*. 5: 79-90.
- Mamma D., Kalogeris E., Papadopoulus N., Hatzinikolaou D., Christrakopoulos P., Kekos D. (2004). Biodegradation of phenol by acclimatized *Pseudomonas putida* cells using glucose as an added growth substrate. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 39: 2093–2104.
- Mancuso P.C.S., Santos H.F. (2003). Reúso de água para torres de resfriamento. 1^a Edição, Editora Manole, Barueri. 18 pp.
- Mannina, G., Viviani, G. (2009). Hybrid moving bed biofilm reactors: an effective solution for upgrading a large wastewater treatment plant. *Water Science and Technology*, 60 (5): 1103-1116.
- Mara D., Horan N. (2003). Handbook of Water and Wastewater Microbiology. Academic Press. Londres. 621pp.
- Marañón E., Vázquez I., Rodríguez J., Castrillón L. (2008). Treatment of coke wastewater in a sequential batch reactor (SBR) at pilot plant scale. *Bioresource Technology*, 99: 4192-4198.
- Marrot B., Barrios-Martinez A., Moulin P., Roche N. (2006). Biodegradation of high phenol concentration by activated sludge in an immersed bioreactor. *Biochemical Engineering Journal*, 30 (2): 174-183.

- Martins A. M. P., Pagillar K. R., Heijnen J. J., van Loosdrecht M. C. M. (2004). Bulking filamentous sludge – a critical review. *Water Research*, 38: 793–817.
- Melin T., Jefferson B., Bixio D., Thoeye C., De Wilde W., De Koning J., J. van der Graaf, Wintgens T. (2006). Membrane bioreactor technology for wastewater treatment and reuse, *Desalination*, 187: 271–282.
- Melin E., Leiknes T.O., Helness H., Rasmussen V., Ødegaard H. (2005). Effect of loading rate on a wastewater treatment process combining moving bed biofilm and membrane reactor. *Water Science and Technology*, 51(6–7): 421–430.
- Meng F., Chae S.-R., Drews A., Kraume M., Shin H.-S., Yang F. (2009). Recent advances in membrane bioreactors (MBRs): Membrane fouling and membrane material. *Water Research* 43:1489-1512
- Meng F., Liao B., Liang S., Yang F., Zhang H., Song L. (2010). Morphological visualization, componential characterization and microbiological identification of membrane fouling in membrane bioreactors (MBRs). *Journal of Membrane Science*, 361: 1–14
- Mijaylova P., Sandoval L., Villalobos M., Mantilla G., Garzón M., Domínguez V. (2002). Remoción de aceite emulsificado en efluentes de refinerías mediante desestabilización de la emulsión y flotación. *XXVIII Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental*, Cancún, México.
- Metcalf & Eddy, Inc. (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4^a Ed., McGraw-Hill, New York, 1848 pp.
- Molina-Muñoz M., Poyatos J.M., Sanchez-Pinedo M., Hontoria E., Gonzalez-Lopez J., Rodelas B. (2009). Microbial community structure and dynamics in a pilot scale submerged membrane bioreactor aerobically treating domestic wastewater under real operation conditions. *Science of the Total Environment*. 497: 3994-4003.
- Moreno Andrade I. (2006). Biodegradación óptima de compuestos fenólicos en un reactor discontinuo secuencial. Tesis doctoral. Instituto de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, Distrito Federal. 147 pp.
- Moreno Andrade I., Buitrón G. (2012). Comparison of the performance of membrane and conventional sequencing batch reactors degrading 4-Chlorophenol. *Water, Air & Soil Pollution*, 223: 2083-2091.
- Moreno G., Buitrón G. (2004). Influence of the origin of the inoculum and the acclimation strategy on the degradation of 4-chlorophenol. *Bioresource Technology*, 94: 215-218.
- Moussavi G., Mahmoudi M., Barikbin B. (2009). Biological removal of phenol from strong wastewaters using a novel MSBR. *Water Research*, 43: 1295–1302.
- Mutamim N.S.A., Noor Z. Z., Abu Hassan M.A., Olsson G. (2012). Application of membrane bioreactor technology in treating high strength industrial wastewater: a performance review. *Desalination*, 305: 1–11.

- Ng H.Y., Hermanowicz S.W. (2005). Membrane bioreactor operation at short solids retention times: performance and biomass characteristics. *Water Research*, 39: 981–992
- Ngo H.H., Guo W., Xing W. (2008). Evaluation of a novel sponge-submerged membrane bioreactor (SSMBR) for sustainable water reclamation. *Bioresource Technology*, 99: 2429-2435.
- Nielsen P.H., Jahn A., Palmgren R. (1997). Conceptual model for production and composition of exopolymers in biofilms. *Water Science and Technology*, 36(1): 11-19.
- Oenning Jr. A., Pawlowsky U. (2007). Evaluation of advanced technologies for water reuse in mechanical industry. *Revista Engenharia Sanitária*, 12(3): 305-316.
- Ognier S., Wisniewski C., Grasmick A., (2002). Characterization and modeling of fouling in membrane bioreactors. *Desalination*, 146: 141–147.
- Okpokwasili G.C., Nweke C.O. (2005). Microbial growth and substrate utilization kinetics. *African Journal of Biotechnology*, 5: 305-317.
- Ødegaard H., Rusten B., Westrum T. (1994). A new moving bed biofilm reactor applications and results. *Water Science and Technology*, 29 (10-11): 157-165.
- Ødegaard H. (2006). Innovations in wastewater treatment: the moving bed biofilms process. *Water Science and Technology*, 53: 17-33.
- Patnaik P.R. (2000). Are microbes intelligent beings? An assessment of cybernetic modeling. *Biotechnology Advances*, 18: 267-288.
- Peeters J.G., Theodoulou S.L. (2005). Membrane technology treating oily wastewater for reuse. In: Corrosion/2005. NACE International: Texas, USA.
- PEMEX. (2011). Informe de responsabilidad social. Petróleos Mexicanos. México. 102 pp.
- Perron N., Welander U. (2004). Degradation of phenol and cresols at low temperatures using a suspended-carrier biofilm process. *Chemosphere*, 55: 45-50.
- Phattaranawik J., Leiknes T. (2011). Extractive biofilm membrane bioreactor with energy recovery from excess aeration and new membrane fouling control. *Bioresource Technology*, 102: 2301-2307.
- Phattaranawik J., Leiknes T. (2011). Feasibility study of moving-fiber biofilm membrane bioreactor for wastewater treatment: Process control. *Water Research*, 45(6): 2227-2234.
- Pombo R.F., Magrini A., Szklo A. (2013). An analysis of water management in Brazilian petroleum refineries using rationalization techniques. *Resources, conservation and recycling*, 73: 172-179.
- Qin J.J., OO M.H., Tao G., Kekre K.A. (2007). Feasibility study on petrochemical wastewater treatment and reuse using submerged MBR. *Journal of Membrane Science*, 293: 161-166
- Qiqi Yang, Qiang He, Ibrahim Husham T. (2012). Review on Moving Bed Biofilm Processes.

Pakistan Journal of Nutrition, 11 (9): 706-713.

Rahman M. M. (2004). Treatment of refinery wastewater using crossflow membrane bioreactor (CF-MBR). Tesis de Maestría. King Fahd University of Petroleum & Minerals. Arabia Saudita. 204 pp.

Rahman M.M., Al-Malack M.H. (2006). Performance of a crossflow membrane bioreactor (CF-MBR) when treating refinery wastewater. *Desalination*, 191: 16–26

Rigo M., Alegre R.M. (2004). Isolation and selection of phenol-degrading microorganisms from industrial wastewaters and kinetics of the biodegradation. *Folia Microbiology*, 49: 41-45.

Rosenberger S., Kubin K., Kraume M. (2002). Rheology of Activated Sludge in Membrane Bioreactors. *Engineering in Life Sciences*, 2(9): 269-274.

Rosenberger S., Evenblij H., Poele S., Wintgens T., Laabs C. (2005). The importance of liquid phase analyses to understand fouling in membrane assisted activated sludge processes – six case studies of different European research groups. *Journal of Membrane Science*, 263: 113-126.

Rosselló-Mora R., Amann R. (2001). The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 25:39–67.

Rusten B., Siljudalen J.G., Nordeidet B. (1994). Upgrading to nitrogen removal with the KMT moving bed biofilm process; *Water Science and Technology*, 29: 185 –195.

Rusten B., Hem L.J., Ødegaard H. (1995). Nitrification of municipal wastewater in moving-bed biofilm reactors. *Water Environmental Research*, 67 (1): 75–86.

Rusten B., Eikebrokk B., Ulgenes Y., Lygren E. (2006). Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural Engineering*, 34: 322–331.

Saboury A.A. (2009). Enzyme inhibition and activation: A general theory. *Journal of the Iranian Chemical Society*. 6: 219-229.

Sakamoto I.K. (2001). Comparación de la estructura de comunidades microbianas complejas presentes en sistemas de lodos activados modificados para remoción biológica de fósforo en exceso utilizando la técnica de electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante (DGGE). Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. España. 159 pp.

Satyawali Y., Balakrishnan M. (2008). Wastewater treatment in molasses-based alcohol distilleries for COD and color removal: a review. *Journal of Environmental Management*, 86: 481–497.

Sawaittayothin V., Polprasert C. (2007). Nitrogen Mass Balance and Microbial Analysis of Constructed Wetlands Treating Municipal Landfill Leachate. *Bioresource Technology*, 98: 565 – 570.

Schneider E.E., Cerqueira A.C., Dezotti M. (2011). MBBR evaluation for oil refinery wastewater treatment, with post-ozonation and BAC, for wastewater reuse. *Water Science and Technology*, 63(1): 143-8

- Scholz W., Fuchs W. (2000) Treatment of oil contaminated wastewater in a membrane bioreactor. *Water Research* 34 (14): 3621-3629.
- Schwartz-Mittelmann A., Galil N.I. (2000). Biological mechanisms involved in bioflocculation disturbances caused by phenol. *Water Science and Technology*, 4: 105–110.
- SEMARNAT (2000). Norma NMX-AA-005-SCFI-2000. Determinación de grasas y aceites recuperables en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. México, D.F.
- SEMARNAT (2009). Compendio de Estadísticas Ambientales. Manejo de agua en los procesos de producción de hidrocarburos de Pemex. Secretaría de Economía. México.
- Seo G.T., Lee T.S., Moon B.H., Choi K.S., Lee, H.D. (1997). Membrane separation activated sludge for residual organic removal in oil wastewater. *Water Science and Technology*, 36 (12): 275-282.
- Sievers M., Vorlop K. D., Hahne J., Schlieker M., Schafer, S. (2003). Advanced nitrogen elimination by encapsulated nitrifiers. *Water Science and Technology*, 48(8): 19-26.
- Silva C.C., Jesus E.C., Torres A.P., Sousa M.P., Santiago V.M., Oliveira V.M. (2010). Investigation of bacterial diversity in membrane bioreactor and conventional activated sludge processes from petroleum refineries using phylogenetic and statistical approaches. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20: 447-459.
- Silva M.R., Coelho M.A.Z., Araújo O.Q.F. (2002). Minimization of phenol and ammoniacal nitrogen in refinery wastewater employing biological treatment. *Engenharia Termica, Edición Especial*, 2: 33-37.
- Shariati P.S.R., Bonakdarpour B., Zare N., Ashtiani F.Z. (2011). The effect of hydraulic retention time on the performance and fouling characteristics of membrane sequencing batch reactors used for the treatment of synthetic petroleum refinery wastewater. *Bioresource Technology*, 102: 7692-7699.
- Sobrero M.C., Ronco A. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con semillas de lechuga *Lactuca sativa* L. Ensayos toxicológicos para la evaluación de sustancias químicas en agua y suelo. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. 428 pp.
- Sokol W. (2003). Treatment of refinery wastewater in a three-phase fluidized bed bioreactor with a low density biomass support. *Biochemical Engineering Journal*, 15: 1-10.
- Sombatsompop K., Visvanathan C., Ben Aim R. (2006). Evaluation of biofouling phenomenon in suspended and attached growth membrane bioreactor systems. *Desalination*: 201, 138–149.
- Sombatsompop K. (2007). Membrane fouling studies in suspended and attached growth membrane bioreactor systems. Tesis Doctoral. Asian Institute of Technology School of Environment, Resources and Development. Tailandia. 156 pp.

- Spring A.J., Bagley D.M., Andrews R.C., Lemanik S., Yang P. (2007). Removal of endocrine disrupting compounds using a membrane bioreactor and disinfection. *Journal Environmental Engineer Science*, 6: 131–137.
- Stephenson T., Judd S., Jefferson B., Brindle K. (2000). *Membrane Bioreactors for Wastewater Treatment*, London, UK, IWA Publishing. 192 pp.
- Stewart P.S. (2003). Diffusion in biofilms. *Journal of Bacteriology*, 185 (5): 1485-1491.
- Suarez M.E. (2006). Catalytic wet air oxidation coupled with an aerobic biological treatment to deal with industrial wastewater. Tesis doctoral. Escuela de Ingeniería Química. Universitat Rovira i Virgili. España. 196 pp.
- Sun C., Leiknes T., Weitzenböck J., Thorstensen B. (2010). Development of an integrated shipboard wastewater treatment system using biofilm-MBR. *Separation and Purification Technology*, 75: 22–31.
- Tavares C.R.G., Russo C., Sant'Anna Jr. G. L. (1994). Aerobic treatment of wastewater in a three-phase fluidised-bed bioreactor: Comparison of two types polymeric supports. *Environment Technology*, 15: 687-693.
- Teodosiu C., Kennedy M., Van Straten H., Schippers J. (1999). Evaluation of secondary refinery effluent treatment using ultrafiltration membranes. *Water Research*, 33: 2172-2180.
- Tellez G.T., Nirmalakhandan N., Gardea-Torresdey J.L. (1995). Evaluation of biokinetic coefficients in degradation of oilfield produced water under varying salt concentrations. *Water Research*, 29 (7): 1711-1718.
- Thomas H., Judd S., Murrer J. (2000). Fouling characteristics of membrane filtration in membrane bioreactors. *Membrane Technology*, 2000 (122): 10–13.
- Torres A.P., Santiago V., Borges C. (2008). Performance Evaluation of Submerged Membrane Bioreactor Pilot Units for Refinery Wastewater Treatment. *Environmental Progress*, 2: 189-194.
- Trouve E., Urbain V., Manem J. (1994). Treatment of municipal wastewater by a membrane bioreactor: results of a semi-industrial pilot-scale study. *Water Science and Technology*, 30 (4): 151-157.
- Tyagi R.D., Tran F.G, Chowdhury A.K.M.M. (1993). A pilot study of biodegradation of petroleum refinery wastewater in polyurethane-attached RBC. *Process Biochemistry*, 28: 75-82.
- Ulson de Souza A.A., Forgiarini E., Brandao H.L., Xavier M.F., Pessoa F.L.P., Guelli U. Souza S.M.A. (2009). Application of water source diagram (WSD) method for the reduction of water consumption in petroleum refineries. *Resources, conservation and recycling*, 53: 149-154.
- USEPA (1995). Profile of the petroleum refining industry. EPA office of compliance sector notebook project. Washington D.C., USA. 146 pp.

- USEPA (2012). Guidelines for water reuse. United states environmental protection agency. Septiembre 2012. Washington D.C. USA. 643 pp.
- Uygur A., Kargi F. (2004). Phenol inhibition of biological nutrient removal in a four-step sequencing batch reactor. *Process Biochemistry*, 39: 2123–2128.
- Valdivia Soto C. (2005). Tratamiento de aguas residuales municipales utilizando tres diferentes medios de soporte en lechos empacados. Tesis doctoral. Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería. Universidad Nacional Autónoma de México. México, Distrito Federal. 178 pp.
- Viero A.F., Mazzarollo A.C.R., Wada K., Tessaro I.C. (2002). Removal of hardness and COD from retanning treated effluent by membrane process. *Desalination*, 149: 145–149
- Viero A.F., De Melo T.M., Torres A.P., Ferreira N.R., Sant'Anna G.L., Borges C.P., Santiago Vania M.J. (2008). The effects of long-term feeding of high organic loading in a submerged membrane bioreactor treating oil refinery wastewater. *Journal of Membrane Science*, 319: 223–230
- Visvanathan C., Aim R.B., Parameshwaran K. (2000). Membrane separation bioreactors for wastewater treatment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 30: 1-48.
- Von Sperling M. (2002) Principios do tratamento biológico de águas residuárias: lagoas de estabilização. 2 ed. Belo Horizonte: UFMG, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental. 196 pp.
- Wagner M., Amann R., Lemmer H., Schleifer K-H. (1993). Probing activated sludge with oligonucleotides specific for Proteobacteria: inadequacy of culture-dependent methods for describing microbial community structures. *Applied and Environmental Microbiology*, 59: 1520-1525.
- Wang Q., Garrity G.M., Tiedje J.M., Cole J.R. (2007). Naïve bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 73: 5261-5267.
- Wang X.C., Lui Q., Liu J. (2010). Membrane fouling control of hybrid membrane bioreactor: Effect of extracellular polymeric substances. *Separation science and technology*, 45: 928-934
- Watson J.S., Jones D.M., Swannell R.P.J., van Duin A.C.T. (2002). Formation of carboxylic acids during aerobic biodegradation of crude oil and evidence of microbial oxidation of hopanes. *Organic Geochemistry*, 33:1153-1169.
- Wake H. (2005). Oil refineries: a review of their ecological impacts on the aquatic environment. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 62: 131-140
- Wen X., Ding H., Huang X., Lui R. (2004). Treatment of hospital wastewater using a submerged membrane bioreactor. *Process Biochemistry*, 39 (11): 1427-1731.
- Whang L.M., Yang K.H., Yang Y.F., Han Y.L., Chen Y.J., Cheng S.S. (2009). Microbial ecology and performance of ammonia oxidizing bacteria (AOB) in biological processes treating petrochemical wastewater with high strength of ammonia: effect of Na₂CO₃ addition. *Water Science*

and Technology, 59 (2): 223-231.

Wiszniewski J., Ziembinska A., Ciesielski S. (2011). Removal of petroleum pollutants and monitoring of bacterial community structure in a membrane bioreactor. *Chemosphere*, 83: 49-56.

Woese C.R. (1987). Bacterial evolution. *Microbiological Reviews*, 5: 221-271.

Xing C.H., Tardieu E., Qian Y., Wen X.H. (2000). Ultrafiltration membrane bioreactor for urban wastewater reclamation. *Journal of membrane science*, 177: 73-82.

Yamamoto K., Hiasa M., Mahmood T., Matsuo T. (1989). Direct solid-liquid separation using hollow fiber membrane in an activated sludge aeration tank. *Water Science Technology*, 21(10): 43-54.

Yang W., Cicek N., Ilg J. (2006). State-of-the-art of membrane bioreactors: Worldwide research and commercial applications in North America, *Journal Membrane Science*, 270: 201-211.

Yang S., Yang F., Fu Z., Lei R. (2009). Comparison between a moving bed membrane bioreactor and a conventional membrane bioreactor on organic carbon and nitrogen removal. *Bioresource Technology*, 100: 2369-2374.

Yang S., Yang F., Fu Z., Lei R. (2009b). Comparison between a moving bed membrane reactor and conventional membrane reactor on membrane fouling. *Bioresource Technology*, 100: 6655-6657.

Yang S., Yang F., Fu Z., Wang T., Lei R. (2010). Simultaneous nitrogen and phosphorus removal by a novel sequencing batch moving bed membrane bioreactor for wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 175: 551-557.

Yoong E.T., Lant P.A. (2001). Biodegradation of High Strength Phenolic Wastewater Using SBR. *Water Science and Technology*, 43(3): 229-306.

Yun Z., Jung Y.H. Lim B.R. (2004). The stability of nitrite nitrification with strong nitrogenous wastewater: effects of organic concentration and microbial diversity. *Water Science and Technology*, 49 (5-6): 89-96.

Zhang S.Y., Houten R., Eikelboom D.H., Jiang Z.C., Fan Y., Wang J.S. (2002). Determination and discussion hydraulic retention time in membrane bioreactor system. *Journal of Environmental Sciences*, 14 (4): 501-507.

9. ANEXOS

ANEXO I. Características de la membrana

	Parámetro	Valor
Parámetros técnicos	Forma de la membrana	Fibra hueca
	Material de la membrana	PVDF
	Tamaño de poro	0.1 μm
	Diámetro de membrana (interno/externo)	0.7/1.3 mm
	Área de filtración	0.04 m ²
	Estructura del poro	Poros esponjosos
	Adhesivo	Epóxico
Efecto de filtración	Sólidos suspendidos > 2 μm	100 %
	Microorganismos	99.999 %
	U. nefelométricas de turbiedad en el permeado	≤ 1 UNT
	Índice de densidad de lodo	≤ 2.5
Condiciones de uso	Método de filtración	Interna/externa
	Presión	0.01-0.05 Mpa
	Temperatura de operación	5-45 °C
	Intervalo de pH	2 – 11
	Intervalo de Flux	10-20 L/m ² -h
	Relación aire/agua recomendado	20:1 – 30:1
	Requerimientos de aire	Aire comprimido libre de aceite
	Contenido de grasa	< 2 mg/L
Concentración máxima de cloro residual	200 mg/L	

Fuente: Adaptado de Jofur S.A.

ANEXO 2. Parámetros analíticos, métodos y/o equipo-referencia

<i>Parámetros</i>	<i>Método</i>	<i>Equipo</i>	<i>Referencia</i>
Temperatura	Directo	Termómetro de mercurio	NMX-AA-007-SCFI-2000
pH	Potenciométrico	Potenciómetro Corning	NMX-AA-008-SCFI-2000
Conductividad	Conductímetro	Conductímetro	NMX-AA-093-SCFI-2000
Turbiedad	Nefelométrico	Turbidímetro HANNA instruments	NMX-AA-038-SCFI-2001
Dureza	Colorimétrico	----	NMX-AA-072-2001
DQO	Oxidación ácido cromo-sulfúrico	Espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20	NMX-AA-30-SCFI-2001
DBO₅	Winkler, modificado por azida	Horno Felisa	NMX-AA-028-SCFI-2001
COD	Oxidación térmica	Analizador TOC-V CSN Shimadzu	Método US EPA 415.1
NKT	Titulométrico Kjeldahl	BÜCHI	NMX-AA-026-SCFI-2001
Nitratos (N-NO₃)	Espectrofotocolorimétrico	Espectrofotómetro Varian 50 Scan UV-Visible	NMX-AA-079-SCFI-2001
Fenoles totales	Espectrofotocolorimétrico	Espectrofotómetro Varian 50 Scan UV-Visible	NMX-AA-50-SCFI-2001
Sulfuros	Iodométrico	-----	NMX-AA-084-SCFI-1982
Sulfatos	Espectrofotocolorimétrico	Espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20	NMX-AA-075-SCFI-1981
Cloruros	Colorimétrico	-----	NMX-AA-073-2001
Grasas y Aceites	Extracción	Equipo de extracción Soxhlet	NMX-AA-073-2001
Alcalinidad	Colorimétrico	-----	NMX-AA-036-SCFI-2001
Sílice	Espectrofotocolorimétrico	Espectrofotómetro Varian 50 Scan UV-Visible	ASTM D859/88
SST	Diferencia de pesos, secado a 105°C	Balanza analítica OHAUS Horno Felisa	NMX-AA-034-SCFI-2001
SSV	Diferencia de pesos, calcinación a 550°C	Balanza analítica OHAUS Mufla Barnstead 48000	NMX-AA-034-SCFI-2001

ANEXO 3. Técnicas analíticas para la determinación de proteínas y polisacáridos

Método para determinar proteínas (Lowry *et al.*, 1951)

Reactivos:

- Solución prestock: Disolver 4 g de NaOH y 30 g de Na₂CO₃ en agua destilada y aforar a 1 L (almacenar a temperatura ambiente).
- Solución A (tartrato de sodio y potasio al 4%). Disolver 4 g de KNaC₄H₄O₆ 4H₂O en agua destilada y aforar a 100 mL (almacenar en refrigeración).
- Solución B (sulfato de cúprico al 2%). Disolver 2 g de sulfato cúprico en agua destilada y aforar a 100 mL (almacenar a temperatura ambiente).
- Solución C. Mezclar 1 mL de solución A y 1 mL de solución B, posteriormente aforar a 100 mL con solución prestock.
- Solución D. Diluir reactivo Folin 1:1 con agua destilada. Esta solución tiene una duración de un día.

Procedimiento:

Colocar 1 mL de la muestra diluida en un tubo de ensayo y adicionar 3 mL del reactivo C preparado recientemente. Después de 10 minutos adicionar 0.3 mL de reactivo D, agitando vigorosamente. Dejar en reposo a temperatura ambiente durante 30 minutos.

Posteriormente, determinar la absorbancia del color azul producido en un espectrofotómetro UV-VIS a 750 nm. La concentración de proteínas se calcula a partir de una curva de calibración preparada con albúmina bovina sérica en concentraciones de 0 a 10 mg/L y de 0 a 1,000 mg/L, dependiendo la concentración de proteínas en la muestra.

Método para determinar polisacáridos (Dubois *et al.*, 1956)

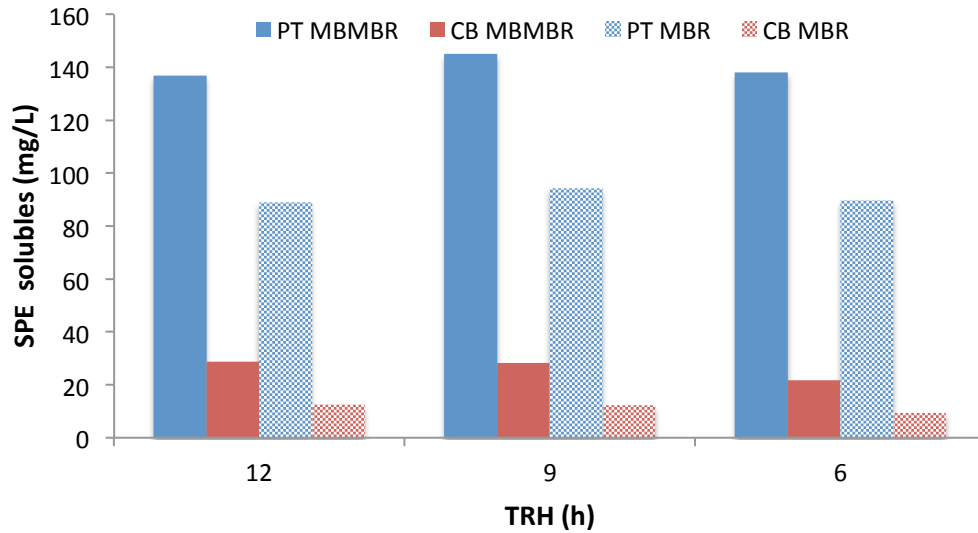
Reactivos:

- Solución de fenol al 5% p/v.
- Ácido sulfúrico concentrado.

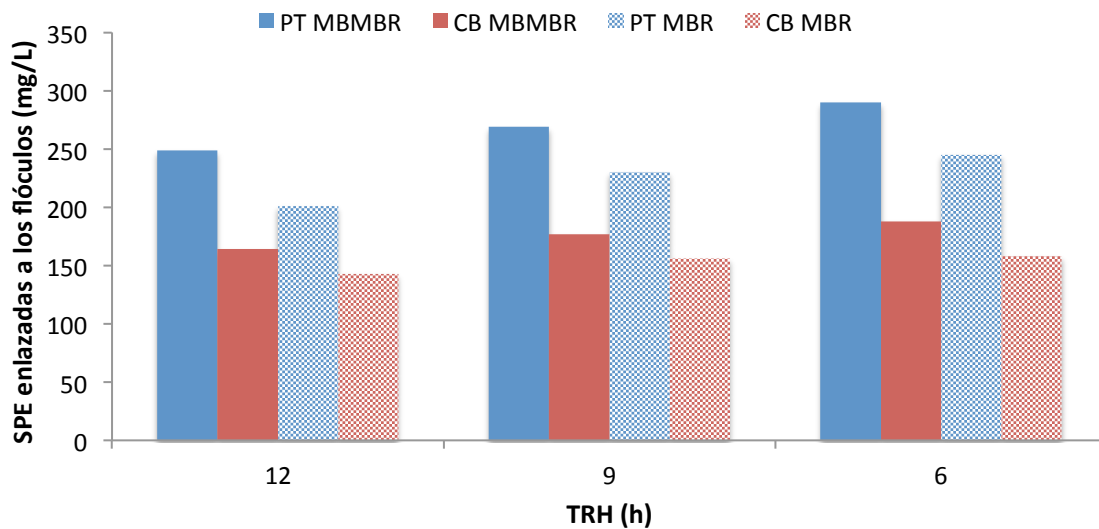
Procedimiento:

Colocar en un tubo de ensayo 1 mL de muestra y 1 mL de solución de fenol al 5% y proceder a su agitación en vórtex. Posteriormente adicionar 5 mL de ácido sulfúrico concentrado y dejar reposar por 10 minutos. Una vez transcurrido el tiempo, agitar nuevamente en vórtex y llevar los tubos a baño maría (25-30 °C) durante 15 minutos. Enfriar rápidamente en agua con hielo y leer la absorbancia a 490 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. La concentración de proteínas se calcula a partir de una curva de calibración preparada con dextrosa en concentraciones de 0 a 10 mg/L y de 0 a 100 mg/L.

ANEXO 4. Comportamiento de las SPE solubles y enlazadas respectivamente durante los diferentes tiempos de residencia hidráulica en cada reactor.



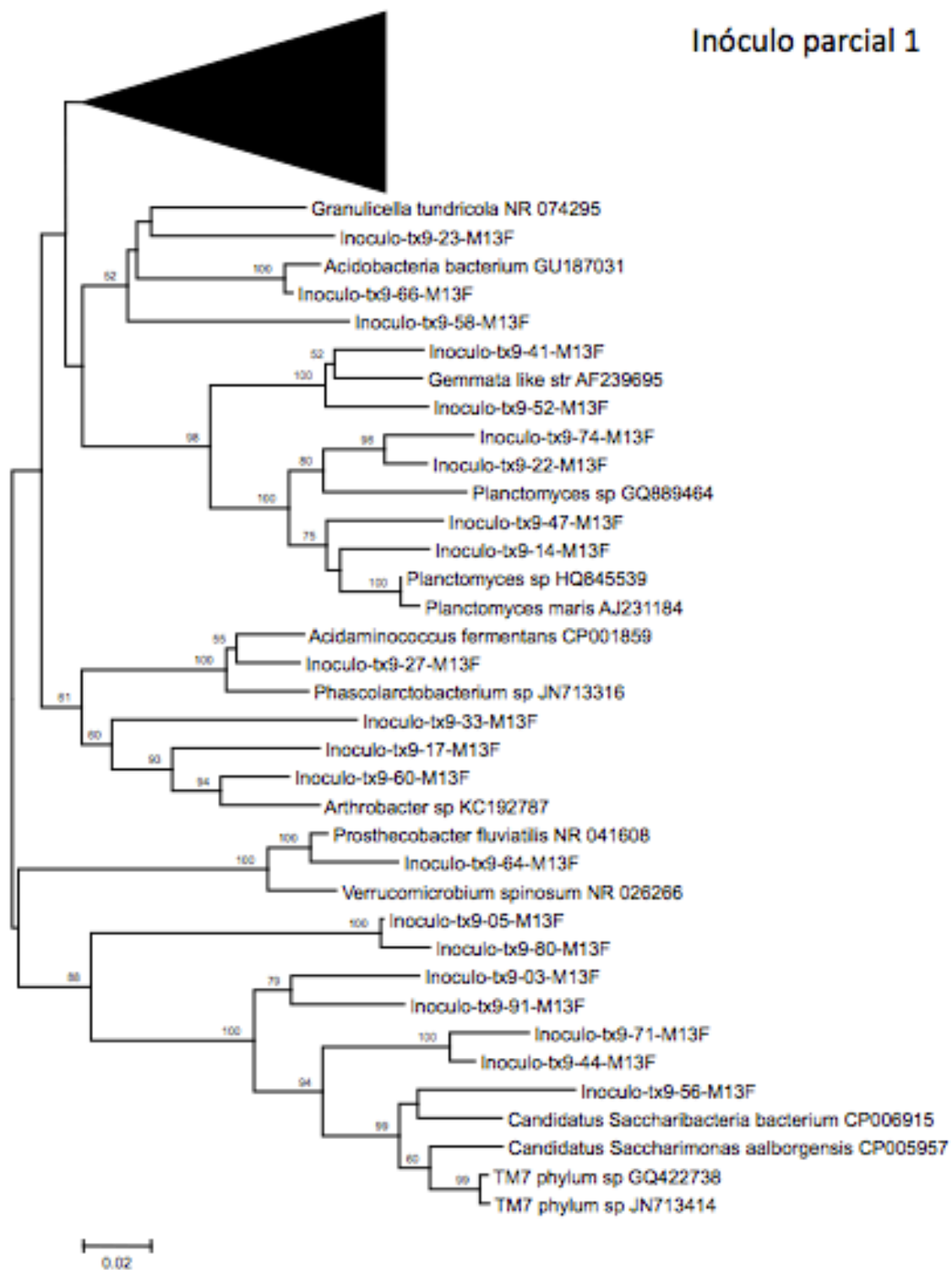
Concentración de SPE solubles en los dos reactores



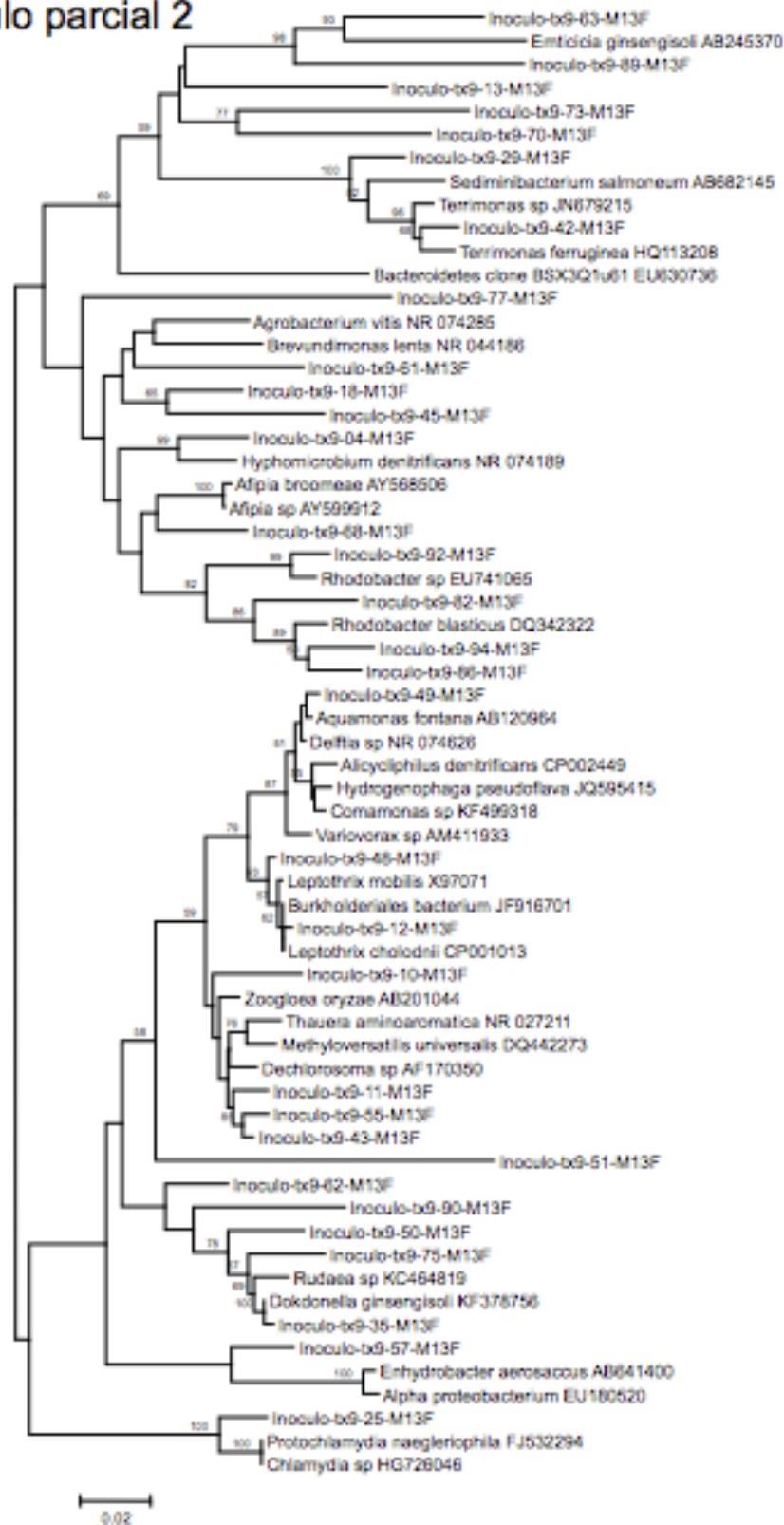
Concentración de SPE solubles en los dos reactores

Se observa que la concentración de PT y CB no cambia con respecto al TRH, indicando que la concentración de dichos parámetros se mantuvo prácticamente constante a lo largo de este estudio.

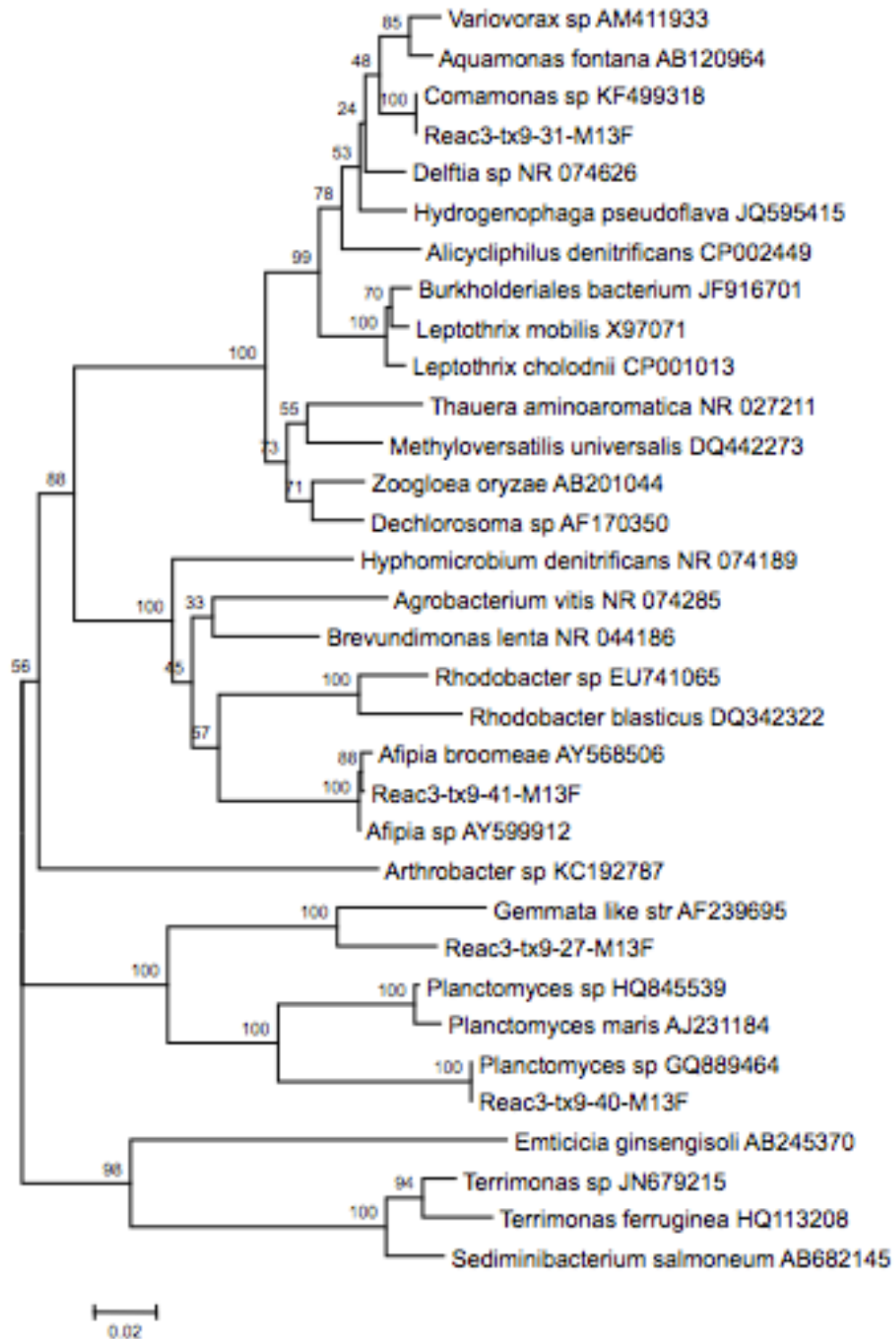
ANEXO 5. Secuencias para cada muestra (inóculo, SBR (3), MSBR(I), MBR(10); MBMBR(IV))



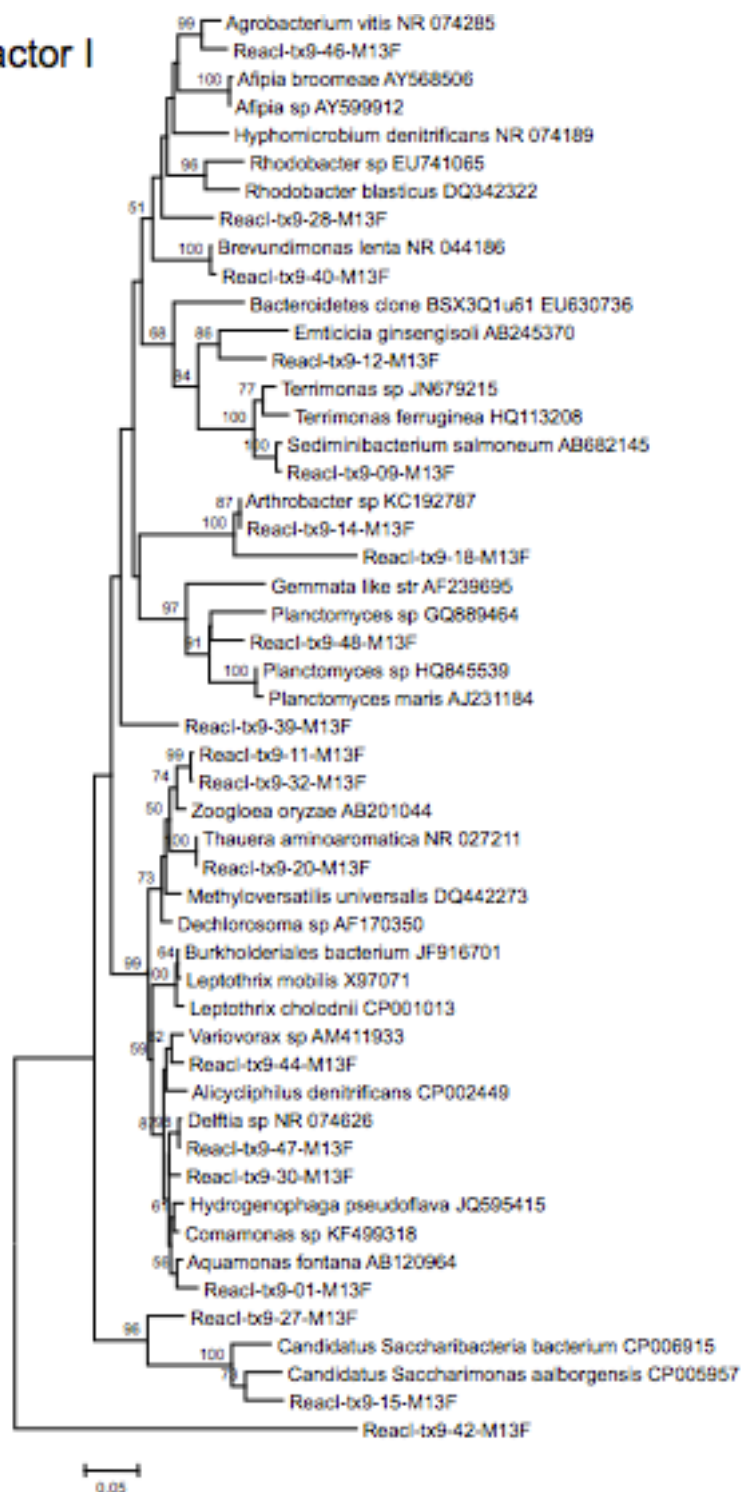
Inoculo parcial 2



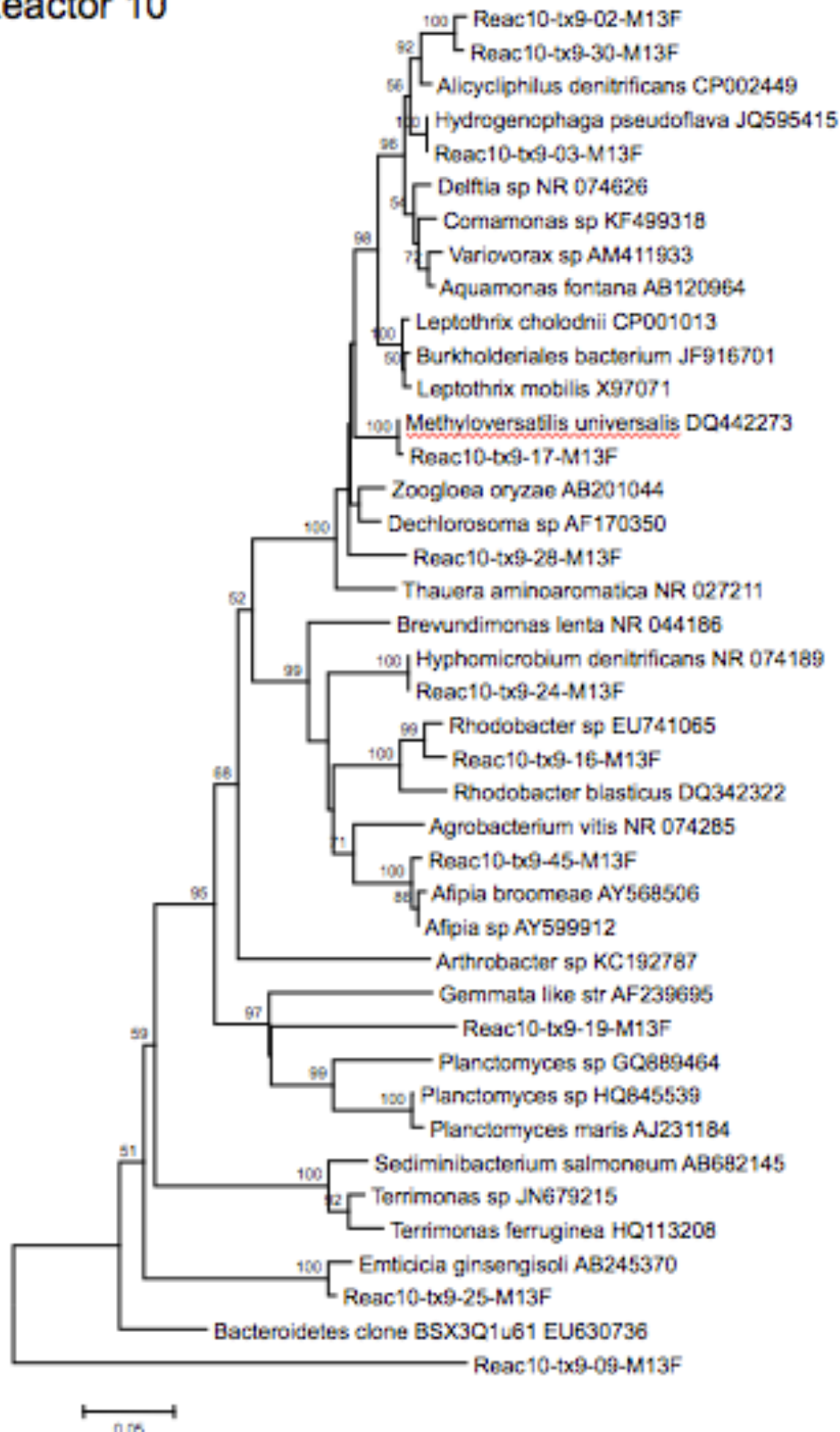
Reactor 3



Reactor I



Reactor 10



Reactor IV

