



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN INGENIERÍA

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES
MUNICIPALES UTILIZANDO TRES DIFERENTES
MEDIOS DE SOPORTE EN LECHOS EMPACADOS

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN INGENIERÍA

(Ambiental)

P R E S E N T A

M. en I. CRUZ ALBERTO VALDIVIA SOTO

DIRECTOR: DR. SIMÓN GONZÁLEZ MARTÍNEZ

JURADO

Presidente:	Dra. Petia Mijaylova Nacheva
Vocal:	Dr. Simón González Martínez
Vocal:	Dr. Oscar Monroy Hermosillo
Vocal:	Dra. Carmen Durán Domínguez
Secretario:	Dr. Germán Buitrón Méndez
Suplente:	Dr. Adalberto Noyola Robles
Suplente:	Dra. Gabriela Moeller Chávez

Lugar de realización:	Instituto de Ingeniería . Universidad Nacional Autónoma de México
-----------------------	--

Lugar de experimentación:	Instituto de Control y Calidad del Agua y Manejo de Residuos Sólidos. Universidad Técnica de Munich. República Federal Alemana.
---------------------------	---

Director de tesis

Dr. Simón González Martínez

**A mi esposa Isabel, mi gran compañera de aventuras,
penas y alegrías; por su gran apoyo incondicional por
alcanzar esta meta; por tu mirada, por tu sonrisa,
por tu cariño; esta tesis te pertenece.**

**A mi hijo Alberto Emanuel, razón extra para disfrutar de
esta vida, por sus travesuras y sus alegrías,
con todo mi cariño**

DEDICATORIA

A mi mamá, por su gran amor, paciencia y sacrificio. Por los lindos paseos que dimos juntos, momentos divinos para estrechar nuestra amistad.

A la memoria de mi padre y hermano: Don Andrés y Andrés hijo.

A mis hermanos: Pilar Valdivia, Héctor Rodolfo, Luis Enrique y Lina Concepción, compañeros de toda la vida.

A mis cuñados y sobrinos por parte de la Familia Valdivia Soto.

A la memoria de mi suegro, Don Angel.

A mi suegra, cuñados y sobrinos por parte de la familia Comett Ambriz.

A Yolanda Rivera, amiga y consejera, mil gracias por tu invaluable y desinteresada ayuda.

A mi querida familia alemana, Walther y Monika Posmik, con sus tres latosos hijos Walter, Maxi y Francisca. A los queridos abuelitos y tíos, a nuestros amigos Uli y Claudia Altmann y el Pfarrer Bodo Windolf. Gracias por su cariño y ayudarnos a superar los primeros seis difíciles meses de acoplamiento a la cultura alemana.

A mis compañeros y amigos en México, por los recuerdos, Adrian y Esperanza, Ignacio y Violeta, Claudia Gutting, Germán y Arodi, Jorge López Payán.

A mis compañeros y amigos en Alemania, por los recuerdos: Sonya Graja, Eva Arnold, Patrik Arnz, Sean Barnes, Chistina Falkentoft, Thomas Etterer, Tilo Közler; Fall, Norbert Schwarzenbeck, Pierre, Estefania Paris. Fuera del Instituto, Johann Schmal.

AGRADECIMIENTOS

A la Dirección General de Estudios de Posgrado (DGEP) por su apoyo durante mis estudios en México.

Al Departamento de Intercambio Académico Alemán (DAAD, Deutscher Akademischer Austausch Dienst) por su apoyo durante mis estudios en Alemania.

Al Instituto de Ingeniería de la UNAM por su alojamiento.

Al Instituto de Control y Calidad del Agua y Manejo de Residuos Sólidos de la Universidad Técnica de Munich por su alojamiento.

Al Dr. Simón González Martínez por dirigir esta tesis.

A cada uno de los miembros del jurado por sus valiosas aportaciones.

A la Dra. Rebeca Aguirre Hernández del Instituto de Investigaciones en Matemáticas Aplicadas y en Sistemas (IIMAS) por su colaboración en el método estadístico.

Al Professor Peter A. Wilderer por sus enseñanzas indirectas y por su gran apoyo al final de mi ciclo en Alemania. Por los buenos momentos de la Oktober Fest y el seminario de "Salvemos al Danubio" en Budapest, Hungría.

Al personal del Instituto de Control y Calidad el Agua por su apoyo y amable colaboración: Verónica Niestroj, Dieter Brockelt, Susanne Wießler, Dra. Brigitte Helmreich, Dr. Marc Wichern, Dra. Martina Hausner, Hubert Mossreiner por su amistad y ayuda en el taller, Ursula Wallentits y Peter Gewinner amigos y valiosa ayuda en el laboratorio, a Claus Lindenblatt por su tiempo y por invitarme a participar con él en proyectos del Instituto. Al Dr. Fall por su ayuda con el Microscopio Confocal Láser de Barrido y la técnica FISH.

ÍNDICE

Resumen

Abstract

1. INTRODUCCIÓN

2. ANTECEDENTES 1

2.1. Biopelículas 2

2.1.1. *Influencia de las condiciones hidrodinámicas* 4

2.1.2. *Espesor* 4

2.1.3. *Densidad* 5

2.1.4. *Geometría* 5

2.1.5. *Porosidad* 6

2.1.6. *Crecimiento de las biopelículas en sistemas de aguas residuales* 6

2.2. Eliminación biológica de nitrógeno 9

2.2.1. *Nitrificación* 9

2.2.2. *Desnitrificación* 11

2.3. Microscopio confocal láser de barrido 13

2.4. Hibridación fluorescente *in situ* 14

2.5. Modelo unidimensional de transporte de masa en la biopelícula 15

2.6. Reactores secuenciados con biopelícula 18

2.6.1. *Soporte de la biopelícula* 20

2.6.2. *Porosidad del lecho empacado* 20

2.6.3. *Área superficial específica* 21

2.7. Medios de soporte 21

2.7.1. Anillos de polietileno (<i>Kaldnes</i>)	21
2.7.2. Cubos de hule-espuma (<i>Linpor</i>)	22
2.7.3. Esferas de cerámica (<i>Liapor</i>)	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS	25
3.1. Unidades experimentales	25
3.2. Planteamiento experimental	27
3.3. Caracterización de los medios de soporte	28
3.3.1. Área superficial específica	28
3.3.2. Densidad del material	28
3.3.3. Tamaño	29
3.3.4. Porosidad del lecho	29
3.4. Operación de los reactores	29
3.5. Programa experimental	32
3.5.1. Programa de muestreo	32
3.5.2. Determinaciones analíticas	33
3.5.3. Balance de nitrógeno total (NT)	33
3.5.4. Análisis de las biopelículas	34
3.5.4.1. Determinación de biomasa	34
3.5.4.2. Tiempo de retención celular promedio (τ_c)	36
3.5.4.3. Hibridación fluorescente <i>in situ</i>	36
3.5.4.4. Observaciones al microscopio	38
3.6. Modelo unidimensional de transporte de masa en la biopelícula	38
3.7. Análisis estadístico	41
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42
4.1. Estudios preliminares. Operación en continuo	44

4.2. Experimentos finales. Operación en discontinuo	47
4.2.1. <i>Remoción de materia orgánica (DQO)</i>	47
4.2.1.1. Anillos Kaldnes	47
4.2.1.2. Esferas Liapor	48
4.2.1.3. Cubos Linpor	49
4.2.2. <i>Compuestos nitrogenados</i>	50
4.2.2.1. Anillos Kaldnes	50
4.2.2.2. Esferas Liapor	52
4.2.2.3. Cubos Linpor	53
4.2.3. <i>Orto-fosfatos</i>	54
4.2.3.1. Anillos Kaldnes	55
4.2.3.2. Esferas Liapor	56
4.2.3.3. Cubos Linpor	56
4.2.4. <i>Sólidos suspendidos, retrolavado y biomasa adherida</i>	56
4.2.4.1. Anillos Kaldnes	56
4.2.4.2. Esferas Liapor	58
4.2.4.3. Cubos Linpor	59
4.2.5. <i>Observaciones al microscopio</i>	62
4.2.5.1. Anillos Kaldnes	62
4.2.5.2. Esferas Liapor	65
4.2.5.3. Cubos Linpor	69
4.2.6. <i>Análisis de dos ciclos representativos de operación</i>	73
4.2.6.1. Anillos Kaldnes	73
4.2.6.2. Esferas Liapor	79
4.2.6.3. Cubos Linpor	85

4.2.7. <i>Análisis comparativo</i>	91
4.2.7.1. Remoción específica de materia orgánica (DQO total)	91
4.2.7.2. Remoción específica de materia orgánica soluble (DQO soluble)	93
4.2.7.3. Compuestos nitrogenados	95
4.2.7.4. Orto-fosfatos	100
4.2.7.5. Modelo unidimensional de transporte de masa en la biopelícula	101
4.2.7.6. Método estadístico	105
5. CONCLUSIONES	109
6. BIBLIOGRAFÍA	112
7. APÉNDICES	120
8. GLOSARIO	162

RESUMEN

Para estudiar la influencia de la formación de una biopelícula delgada en comparación de una biopelícula gruesa durante la transformación simultánea de materia orgánica y compuestos nitrogenados en aguas residuales de origen doméstico se operaron tres reactores, con biopelícula, de flujo discontinuo a escala de laboratorio. Como el objetivo de este trabajo es determinar las respuestas de las biopelículas creciendo sobre diferentes medios de soporte durante el tratamiento de aguas residuales municipales, se seleccionaron tres diferentes medios de soporte comerciales. Estos medios han sido utilizados para diversos tratamientos de aguas residuales y se ha podido comprobar su funcionalidad para desarrollar biopelículas con resultados positivos en la eliminación de materia orgánica y de compuestos nitrogenados. Un reactor utilizó esferas de cerámica, como medio de soporte, de la marca comercial Liapor; un segundo reactor utilizó partículas de polietileno de alta densidad con una configuración especial, a manera de anillos, de la marca Kaldnes; un tercer reactor fue empacado con cubos de poliuretano expandido (hule espuma) de la marca Linpor. Durante dos años y cuatro meses de procedimientos experimentales la carga orgánica se varió en un intervalo de 0.5 a 8.0 gDQO/m²·d y se analizó su respuesta a través de parámetros como la DQO, sólidos suspendidos totales y volátiles, compuestos nitrogenados inorgánicos y nitrógeno Kjeldahl. Los resultados indican que la carga orgánica tuvo influencia sobre la calidad de los efluentes tratados en los tres reactores. Con cargas orgánicas inferiores a 2.5 gDQO/m²·d los tres reactores mostraron una operación estable con remociones de materia orgánica superiores al 70 por ciento y de nitrógeno amoniacal por arriba del 95 por ciento. Con cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d las remociones disminuyeron hasta llegar a valores inferiores al 70 por ciento de remoción de DQO e inferiores al 50 por ciento para nitrógeno amoniacal. El reactor con lecho de Linpor respondió mejor a los cambios de carga orgánica. Tomando en cuenta los balances de materia para el nitrógeno, las diferencias entre la remoción de nitrógeno amoniacal y la generación de nitritos y nitratos se debe a una desnitrificación simultánea llevada a cabo en las zonas profundas de las biopelículas. Relacionando los resultados de calidad del agua con el análisis de la estructura de las biopelículas desarrolladas sobre los medios de soporte se concluye que la formación de biopelículas delgadas (anillos Kaldnes y esferas Liapor) es favorable para eliminar materia orgánica y nitrógeno amoniacal (nitrificación) en aguas residuales de origen municipal cuando las cargas orgánicas son inferiores a 2.5 gDQO/m²·d. Para cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d el reactor empacado con cubos Linpor presentó mejores resultados, incluyendo la remoción de nitratos, debido a que este medio permite alojar una mayor cantidad y variedad de especies microbianas debido a su porosidad.

ABSTRACT

In order to study the influence of thin biofilms growth in comparison with thickness one, during the simultaneous transformation of organic matter and nitrogen wastewater compounds of domestic origin, the performance of three laboratory sequencing batch biofilm reactors (SBBR) was analysed. As the objective of this work is to determine the answers of biofilms growing on different support media during the municipal wastewater treatment, three different commercial support media were selected. These carrier media have been used for diverse residual water treatments and it has been possible to verify its functionality to develop biofilms with positive results in the elimination of organic matter and nitrogen compounds. A reactor used ceramics spheres of the Liapor mark; a second reactor used high density polyethylene particles with a special configuration, to ring way, of the Kaldnes mark; a third reactor was packed with expanded polyurethane cubes (rubber foams) of the Linpor mark. During the 452 days of the experimental procedures the organic load was varied between 0.5 and 8.0 gCOD/m²·d. Periodical sampling of influent and effluent was made for COD, suspended and volatile solids, inorganic nitrogen compounds and Kjeldahl nitrogen. The results indicate that the organic load had influence on the quality of the effluents treated in the three reactors. All three reactors showed a more stable operation at organic loading rates under 2.5 gCOD/m²·d with removals of organic matter (COD) over 70 percent and near 95 percent of ammonia nitrogen. With organic loads over 3.0 gDQO/m²·d the removal rates decreased under 70 percent for COD and under 50 percent for ammonia nitrogen. The reactor packed with Linpor cubes responded better to the changes of organic load. The explanation given to the differences between ammonia nitrogen removal and NO_x-N generation is a simultaneous denitrification inside the deep biofilms. Relating the results of quality of the water to the analysis of the structure of biofilms developed on carrier media is possible to conclude that, the formation of thin biofilms (Kaldnes rings and Liapor spheres) is favourable to eliminate organic matter and ammonia nitrogen (nitrification) in municipal wastewaters to organic loading rates under 2.5 gDQO/m²·d. For organic loading rates over 3.0 gDQO/m²·d the reactor packed with Linpor cubes displayed better results, including the nitrate removal, because this media allow to lodge a greater amount and variety of microbial species due to its porosity.

1. INTRODUCCIÓN

Los reactores con biopelícula cada vez se vuelven más importantes en el campo del tratamiento de aguas residuales. Las ventajas que ofrecen este tipo de sistemas en comparación con los sistemas de lodos activados incluyen: mejor respuesta ante altas cargas orgánicas, mejor estabilidad ante condiciones extremas de pH, temperatura y sustancias tóxicas, y la capacidad de disminuir volúmenes de construcción (Ouyang *et al.*, 2000; Wilderer *et al.*, 2001). Estas ventajas son propiciadas por una gran concentración de biomasa en el reactor y por altas tasas de eliminación de contaminantes. Principalmente estos sistemas son apropiados o convenientes cuando se requieren organismos de lento crecimiento o cuando se tiene un pobre rendimiento de la biomasa (Wilderer *et al.*, 2001).

El espesor de las biopelículas es uno de los principales parámetros de control en los procesos con películas biológicas. El crecimiento, el grosor y el desprendimiento de la biopelícula dependen de diferentes parámetros como la velocidad de flujo, mezclado, el tipo de material utilizado como medio de soporte (superficie, forma, etc.), la carga orgánica y la frecuencia e intensidad del retrolavado.

En la literatura se ha destacado la importancia de favorecer una biopelícula en la cual puedan difundirse con facilidad el oxígeno disuelto y los nutrientes contenidos en el seno líquido. Bajo estas condiciones se tiene una película delgada, activa y estable que ofrece más ventajas para el tratamiento de agua residual ya que permite un mejor intercambio de nutrientes (Larsen y Harremöes, 1994; Lazarova y Manem, 1994). No obstante, el desarrollo de biopelículas con una difusión limitada de oxígeno puede permitir la combinación de metabolismos de tipo aerobio y anaerobio que pueden darle una mayor eficiencia al sistema logrando simultáneamente una remoción de material carbonoso y una remoción total de compuestos nitrogenados (Figura 1.1).

En recientes trabajos se han reportado resultados en donde se han obtenido en forma paralela procesos de nitrificación y desnitrificación operando reactores bajo condiciones aerobias (Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996; Arnz *et al.*, 2001). Ellos atribuyen este fenómeno a que en algunas de las capas profundas de la biopelícula se tienen condiciones anaerobias en donde las bacterias capaces de desnitrificar emplean los nitratos liberados en las capas superficiales para su metabolismo. Sin embargo, pocos son los trabajos que se han enfocado, o al menos no lo mencionan, a dilucidar si efectivamente se mejora la eficiencia de remoción de compuestos carbonosos y nitrógeno amoniacal con el desarrollo de biopelículas parcialmente penetradas por oxígeno y nutrientes.

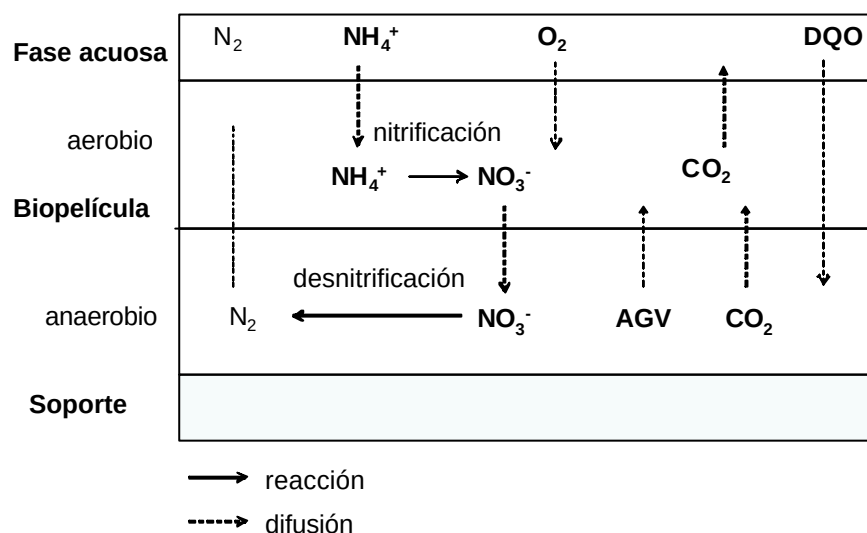


Figura 1.1. Esquema de una biopelícula con el flujo de nutrientes y productos

1.1 Justificación

El presente estudio parte de la propuesta de que al garantizar una biopelícula profunda, esto es una biopelícula con un espesor mayor de 200 μm , se tiene una difusión limitada de oxígeno y nutrientes lo cual favorece el desarrollo de bacterias aerobias, anaerobias y facultativas de manera simultánea. Se espera que los productos de la reacción del metabolismo de las bacterias de la capa aerobia externa sean utilizados como sustrato por las bacterias presentes en la capa anaerobia, con lo cual se logrará una remoción simultánea de material carbonoso (DQO) y de compuestos nitrogenados (nitrificación-desnitrificación), obteniendo una mayor eficiencia en el tratamiento de aguas residuales con biopelículas profundas (parcialmente penetradas) que con películas delgadas (totalmente penetradas).

En este trabajo se utilizan tres diferentes medios de soporte para lograr el desarrollo de biopelículas con características diferentes, entre las que destacan el área superficial específica que ofrece cada medio para el desarrollo de la biopelícula y la densidad del material. El proceso basado en el medio de soporte Liapor®, posee esferas de cerámica con una superficie rugosa y diámetros que van desde 4 y hasta 8 mm sobre las cuales se

espera obtener el crecimiento de una película delgada. Este material es más denso que el agua y ofrece un área superficial específica entre 500 y 550 m^2/m^3 . En estudios previos con este medio de soporte operando reactores de flujo discontinuo se encontró que el espesor de la biopelícula desarrollada sobre este soporte varió de 50 μm a 220 μm (Arnz, 2001). La literatura reporta un espesor entre 50 y 200 μm para biopelículas totalmente penetradas (Tyagi y Vembu, 1990).

Linpor®, también una marca comercial, es un empaque en forma de cubos de hule espuma (poliuretano) de 15 mm por lado. Los cubos Linpor ofrecen un área superficial específica de alrededor de 270 m^2/m^3 y tienen una densidad menor a la del agua. Debido a su estructura con poros no confinados es de esperarse que la biomasa se reproduzca en el interior de los poros al resguardo de las fuerzas cortantes durante la operación del reactor y del retrolavado. Considerando que la biomasa ocupe por completo los poros internos y externos de Linpor se está hablando del desarrollo de una biopelícula de alrededor de 7 mm de espesor (si se mide a partir de la superficie y en dirección hacia la parte media del cubo), con la consiguiente suposición de que al tener un espesor tan grande la difusión de nutrientes y oxígeno estará limitada sin lograr penetrar hasta la parte media del cubo.

Kaldnes, el tercer empaque en estudio, está hecho de polietileno con una configuración especial (anillos perforados) a manera de microcilindros en forma de engranes con un tamaño de 10 x 7 mm. Los anillos Kaldnes presentan un área superficial específica cercana a 480 m^2/m^3 y una densidad menor a la del agua. Este material presenta cuatro compartimentos en su diámetro interno, denominado “espacio axial” y una serie de aletas longitudinales en su diámetro externo (Figura 1.2). Se espera que el espacio axial sea ocupado en su totalidad por biomasa quedando al resguardo de las fuerzas cortantes durante la operación y el retrolavado. Tomando en cuenta que el cilindro tiene 7 mm de profundidad en el “espacio axial” y que, tanto el área de la base inferior como el de la base superior está expuesta al crecimiento bacteriano, se espera el desarrollo de una película parcialmente penetrada de aproximadamente 3 mm de espesor.

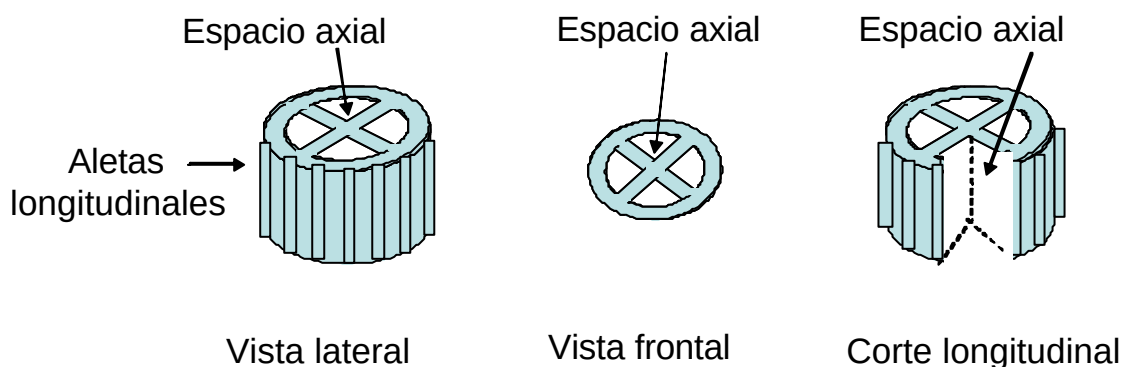


Figura 1.2. Figura esquemática del material de soporte Kaldnes. La estructura en forma de cruz divide el espacio interno de este material en cuatro compartimentos, lo que se denomina “espacio axial”

1.2 Hipótesis

Al utilizar medios de soporte que permitan el desarrollo de biopelículas profundas se mejora la capacidad de remover, de manera simultánea, compuestos carbonosos y nitrogenados (nitrificación-desnitrificación) con respecto a la remoción que se pueda obtener con una biopelícula totalmente penetrada.

1.3 Objetivos

Comprobar que la capacidad de las biopelículas para remoción simultánea de compuestos carbonosos y nitrogenados se incrementa mediante el desarrollo de biopelículas parcialmente penetradas.

Objetivos específicos

- Evaluar la respuesta de reacción de tres reactores de biopelícula de flujo discontinuo (SBBR, por sus siglas en inglés sequential batch biofilm reactor) a escala de laboratorio a través de los porcentajes de remoción de DQO y N-NH_4 variando la carga orgánica en un intervalo de 0.5-8 gDQO/m²·d.
- Comparar tres diferentes medios de soporte para el desarrollo de biopelículas.
- Determinar, por medio de la constante adimensional de penetración (β), si las biopelículas se encuentran total o parcialmente penetradas por compuestos carbonosos (DQO), nitrógeno amoniacal (N-NH_4) y oxígeno disuelto.
- Calcular los espesores promedio de las biopelículas con ayuda del microscopio estereoscópico y del microscopio confocal láser de barrido relacionando estos resultados con la remoción simultánea de materia orgánica (DQO) y compuestos nitrogenados.
- Determinar las características de las biopelículas desarrolladas sobre los tres medios de soporte considerando su morfología, dimensión y consistencia aparente.

2. ANTECEDENTES

Los reactores con biopelícula son usados para el tratamiento de aguas y aguas residuales, y en la biorremediación de aguas subterráneas. Las ventajas que ofrece el uso de biopelículas desarrolladas sobre medios de soporte formando lechos empacados en reactores biológicos para el tratamiento de aguas residuales son bien conocidas: sistemas de tratamiento compactos que permiten el ahorro de espacio en su construcción y que permiten mantener altas concentraciones de biomasa independiente a la sedimentación secundaria, que es necesaria en los sistemas de biomasa suspendida para retención de biomasa y su recirculación. Además, la comunidad bacteriana que crece adherida a los medios de soporte puede sobrevivir en un medio con baja cantidad de nutrientes o, por el contrario, puede ser lavada del sistema en caso de tener un crecimiento excesivo. La matriz gelatinosa en la que se encuentra embebida la biopelícula le provee protección contra varias toxinas y pueden vivir dentro de ella diferentes tipos de bacterias en microambientes distintos.

La identificación de los microorganismos responsables de ciertas actividades específicas, así como las interacciones que se dan entre células de una misma o diferente población y el análisis de la influencia de cambios en las condiciones ambientales es una herramienta útil de la ingeniería ambiental para ajustar los parámetros del proceso para optimizar una planta de tratamiento de aguas residuales.

Los resultados de múltiples investigaciones sobre reactores y/o sistemas con biopelículas realizadas en la década de 1990 mostraron que:

- La estructura de las biopelículas no es físicamente ni biológicamente homogénea (Bishop y Rittman, 1995).
- Las características hidrodinámicas como la velocidad de flujo, régimen de flujo (laminar/turbulento) y fuerzas cortantes son factores importantes que influyen sobre

la transferencia de masa, la tasa de desprendimiento y, definitivamente, sobre la estructura de la biopelícula (Wilderer *et al.*, 1995; Gjaltema y Griebel, 1998).

- La adsorción, transporte, hidrólisis y depredación son algunos ejemplos de los sólidos orgánicos e inorgánicos que, junto con la dinámica de poblaciones y la hidrodinámica, tienen efectos importantes sobre el comportamiento de los sistemas de biopelícula (Nielsen y Harremoes, 1995).

2.1 Biopelículas

Las biopelículas son conglomerados de microorganismos donde predominan las bacterias heterótrofas impartiendo al conjunto adhesión gracias a la producción de polímeros extracelulares llamados, de una forma genérica, poli- β -hidroxibutiratos (PHB). Las bacterias se agrupan en “colonias” con el objeto de buscar protección ante posibles condiciones adversas del medio. Gracias al desarrollo compacto de las bacterias, otros organismos oportunistas utilizan la estructura gelatinosa de la biopelícula para vivir y encontrar alimento dentro de ella y para protegerse del medio o, en caso de los protozoarios ciliados y otros metazoarios, para depredar sobre ella (González- Martínez, 1998). Los polímeros extracelulares, conocidos en inglés como “extracellular polymeric substances” (EPS), están compuestas de polisacáridos (40-95%), proteínas (1-60%), en algunos casos lípidos (1-40%), con menor contenido de ácidos nucleicos (1-10%) y otros biopolímeros (Flemming y Wingender, 2001).

Recientes aplicaciones con el microscopio confocal láser de barrido (CLSM, por sus siglas en inglés, confocal laser scanning microscope) en el estudio de la estructura en biopelículas muestran claramente que las biopelículas consisten de microcolonias separadas por canales de agua altamente permeables (Costerton *et al.* 1994; de Beer *et al.*, 1994) (Figura 2.1).

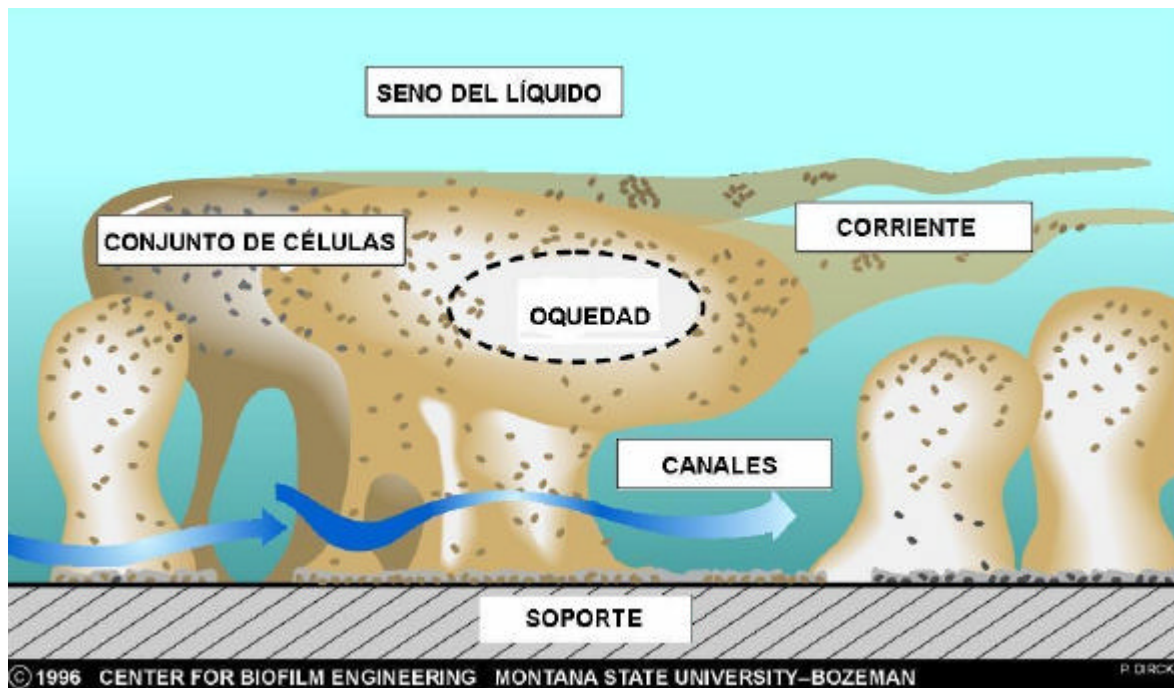


Figura 2.1. Modelo de la estructura de una biopelícula con canales de agua

La presencia de estos canales facilita significativamente el transporte de nutrientes dando soporte al desarrollo celular en la superficie de la biopelícula que está en contacto con los canales de agua o a la biopelícula que crece en la capa profunda (Okabe *et al.*, 1998).

Characklis y Marshall (1990) proponen dos posibles estados de adhesión que dependerán de la afinidad de los microorganismos por la superficie del material: adhesión reversible o irreversible. La adhesión reversible se refiere a la interacción débil que se da entre la célula y el medio de soporte. Este fenómeno involucra fuerzas de interacción existentes entre la célula y el material de soporte como son las cargas electrostáticas y posibles puentes de polímeros. La adhesión irreversible involucra un contacto permanente de los microorganismos con la superficie del medio de soporte. Entre los factores que afectan este tipo de adhesión se encuentran las relaciones de hidrofobicidad o hidrofiliidad, puentes de hidrógeno, puentes de polímeros y el desarrollo confinado en poros. La presencia de polímeros extracelulares se considera como el principal mecanismo químico de adhesión irreversible.

La estructura de las biopelículas está influenciada por la carga orgánica sobre la superficie de la biopelícula, las condiciones hidrodinámicas incluyendo las fuerzas cortantes sobre la biopelícula (lo cual depende del tipo de reactor) y el tipo de organismos o grupo fisiológico (Figura 2.2). La fuerte influencia y, por tanto, la importancia de las variaciones en las cargas hidrodinámicas y orgánicas sobre la estructura de la biopelícula es ampliamente reconocida. Estas variaciones pueden ocurrir incluso en un mismo reactor. Como estos aspectos comúnmente no son claramente descritos, es difícil comparar resultados de diferentes estudios, considerando a las biopelículas como estructuras altamente complejas, muy heterogéneas e incontrolables.

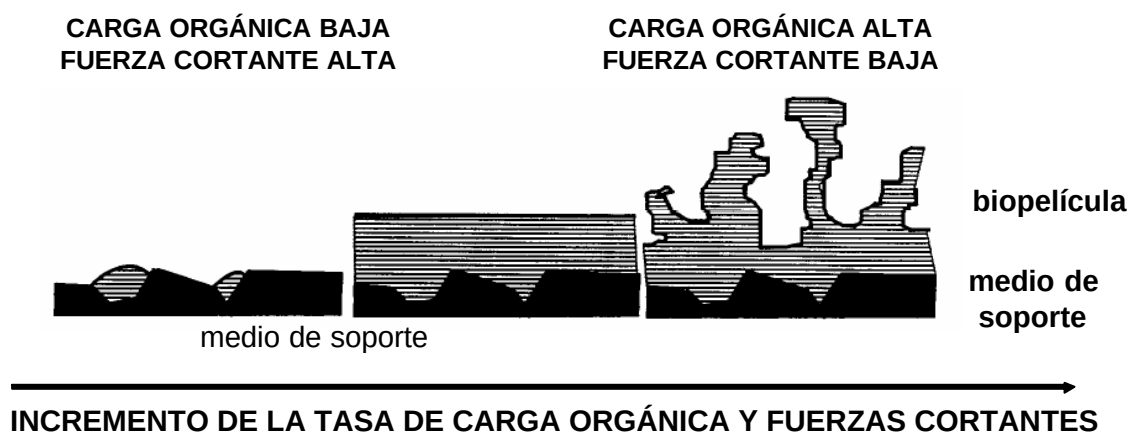


Figura 2.2. Representación esquemática de la influencia de la carga orgánica y las fuerzas cortantes sobre la estructura de las biopelículas (van Loosdrecht *et al.*, 1995)

Las propiedades físicas de una biopelícula se definen por su forma y estabilidad mecánica. Una característica de los reactores de lecho fijo es que la biopelícula presenta una tendencia a cambiar de densidad, espesor y forma de acuerdo con las condiciones de operación (Nicolella *et al.*, 2000). Esto afecta la transferencia de masa, el proceso de desprendimiento y las características hidrodinámicas del reactor (Stoodley *et al.*, 1999). Además, la estructura de la biopelícula puede ser alterada por la incorporación de nuevas

especies a la población de la biopelícula o viceversa; esto, a su vez, afecta la rapidez y el transporte de masa dentro de ella puesto que ambas son altamente dependientes de la morfología de la superficie y de la estructura interna de la biopelícula (Okabe *et al.*, 1998). Las propiedades físicas que más influyen en la cinética de degradación son el espesor, la densidad, la geometría y la porosidad.

2.1.1 Influencia de las condiciones hidrodinámicas

Las condiciones de flujo en el reactor modifican las propiedades físicas de la biopelícula, por consiguiente afectan su estabilidad y el transporte de masa. Si se tienen altas velocidades de flujo (con una misma concentración de sustrato), se tienen biopelículas delgadas y compactas (Piciooreanu *et al.*, 2000; Vieira *et al.*, 1993). Conforme se obtiene un incremento en la turbulencia, aumentan la densidad de la biopelícula (Rasmussen y Lewandowski, 1998; Wäsche *et al.*, 1999), su rigidez y su estabilidad mecánica, dando como resultado mayor resistencia al desprendimiento (Rasmussen y Lewandowski, 1998). Esto se puede interpretar como una respuesta biológica en la que las bacterias refuerzan la matriz extracelular para protegerse de las agresivas condiciones hidrodinámicas (Wijeyekoon *et al.*, 1999). Como consecuencia, se tiene un incremento en la resistencia a la difusión (Vieira *et al.*, 1993; Cassey *et al.*, 2000) y disminuciones en la transferencia de masa y en la tasa de reacción (Cassey *et al.*, 2000).

Por otro lado, las velocidades bajas favorecen la formación de biopelículas gruesas con una mayor cantidad de biomasa activa, concentrada en las capas exteriores, que consumen grandes cantidades de sustrato (Melo y Vieira, 1999). Sin embargo, son menos resistentes a los esfuerzos mecánicos, por lo que sus capas superficiales pueden ser afectadas fácilmente por las fuerzas cortantes del agua. Esto significa que la mayor parte de la biomasa activa (la de las zonas exteriores) puede ser eliminada durante el proceso de desprendimiento. A pesar de esto, las biopelículas parecen ser menos susceptibles a la carencia de sustrato en ciertos periodos que otras formas de crecimiento microbiano (Melo y Vieira, 1999). Entonces, se recomienda buscar un balance entre la estabilidad física y la actividad biológica (Melo y Vieira, 1999).

2.1.2 Espesor

En los reactores de biopelícula, el control del espesor es reconocido como uno de los parámetros de control más importantes en el desempeño y de la eficiencia del proceso ya que puede ser un factor limitante en la capacidad de operación (Lazarova y Manem, 1994; Nikov *et al.*, 1999). Sin embargo, el control del espesor de la biopelícula es difícil y resulta un factor crítico en la optimización de este tipo de sistemas (Cassey *et al.*, 2000; Nicolella *et al.*, 2000).

Las condiciones de flujo constituyen un parámetro que influye en el espesor. Para una misma carga orgánica, al incrementar el número de Reynolds disminuye el espesor de la biopelícula debido al incremento de las fuerzas cortantes (Stoodley *et al.*, 1999; Wäsche *et al.*, 1999). También se ha visto que, en biopelículas que “crecieron” en flujo laminar, el espesor será significativamente mayor cuando se tienen cargas orgánicas altas mientras que en flujo turbulento el espesor de la biopelícula no se modifica significativamente al variar la carga orgánica (Wäsche *et al.*, 1999). Esto significa que en flujo laminar la carga

orgánica va a influir más en el espesor de la biopelícula mientras que en flujo turbulento influirá más el número de Reynolds (condiciones de flujo).

Una película delgada, activa y estable, ofrece más ventajas para el tratamiento del agua residual ya que permite un mejor intercambio de nutrientes (Lazarova y Manem, 1994; Larsen y Harremoës, 1994). Sin embargo, las biopelículas profundas permitirían llevar a cabo una combinación de metabolismos aerobios y anaerobios que puede darle una mayor eficiencia al sistema. El espesor de la biopelícula es uno de los parámetros que controla la forma y los perfiles de difusión (Beyenal y Lewandowsky, 2000). Generalmente, el espesor de las biopelículas puede variar de algunos micrones a más de 1 mm (Tyagi y Vembu, 1990).

Así, se pueden distinguir dos tipos de bacterias a distintas profundidades en una biopelícula: las activas y las inactivas para los fines del proceso. Las primeras son aquellas que se encuentran en la parte superior y pueden obtener los nutrientes que requieren por difusión (Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996). Según Tyagi y Vembu (1990) la capa metabólicamente activa tiene un espesor entre 50 y 200 micrómetros. Las bacterias menos activas se encuentran en la capa más profunda de la biopelícula y son las responsables del grosor (Moreau *et al.*, 1994). A pesar de ser definidos como microorganismos inactivos, se considera que en las capas profundas también hay actividad metabólica, ya que se presentan procesos de biodegradación ácida, oxidación de la materia orgánica y reducción de los iones nitrito y nitrato formados en la capa aerobia (Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996).

2.1.3 Densidad

La densidad de la biopelícula estará en función de la densidad de las células, los exopolímeros, el sustrato, la cantidad de agua y los productos residuales del metabolismo celular (Wood y Whitaker, 1999).

Las biopelículas no tienen características físicas uniformes. Al analizar su estructura en secciones horizontales, Okabe *et al.* (1998) observaron que la biopelícula es más densa en la parte profunda. La densidad es mayor cuando se aplican cargas orgánicas bajas (Wäsche *et al.*, 1999). La densidad también aumenta con la turbulencia (Wäsche *et al.*, 1999). La densidad de la biopelícula puede variar de 30 a 100 mg/cm³ (Tyagi y Vembu, 1990).

2.1.4 Geometría

Tradicionalmente se pensaba que las biopelículas eran estructuras planas, homogéneas e independientes del ambiente complejo y dinámico en el cual crecen. También se pensaba que la difusión era el mecanismo predominante en el transporte de masa y que los perfiles de sustrato y la profundidad de penetración estaban basados únicamente en el espesor de la biopelícula sin importar la microestructura interna. Recientemente se ha visto que existe una considerable heterogeneidad estructural relacionada con la profundidad y las condiciones ambientales a las que están sujetas las biopelículas (Wijeyekoon *et al.*, 1999).

De acuerdo con lo que se ha encontrado con el microscopio confocal laser de barrido, el concepto moderno de biopelícula es el de "columnas empacadas", formadas por mezclas

de especies de bacterias embebidas en una matriz de polímeros y rodeadas de canales altamente permeables (Lawrence *et al.*, 1991; de Beer *et al.*, 1994). Las biopelículas están formadas por una red de biomasa filamentosa que a menudo presenta forma de panal, misma que ayuda al transporte de masa hacia las células de las capas inferiores y que, además, la vuelve más resistente a las fuerzas cortantes ocasionadas por el flujo del agua (Okabe *et al.*, 1998). Sin embargo, actualmente sigue causando controversia si todas las biopelículas, incluso las más compactas formadas bajo condiciones turbulentas, presentan esa estructura con muchos canales, especialmente en los casos de las biopelículas “viejas” (Melo y Vieira, 1999).

La estructura de la biopelícula, a su vez, influye en los mecanismos y velocidad de transporte en el interior de la biopelícula (Beyenal y Lewandowski, 2000; Stoodley *et al.*, 1999). En cinéticas limitadas por la concentración de sustrato se forman biopelículas lisas en las que decrece la rugosidad después de cubrirse la superficie del medio de soporte (Picioreanu *et al.*, 2000).

Cuando hay suficiente sustrato, las bacterias proliferan en colonias circulares y la biomasa se desarrolla de manera radial; este régimen se puede llamar de expansión isotrópica de la biopelícula (Picioreanu *et al.*, 2000). Conforme crece la biopelícula pueden ocurrir dos cosas: si el sustrato no está limitado, las colonias se desarrollarán hasta formar una biopelícula continua, pero si hay carencia de sustrato, el crecimiento de la biopelícula será preferentemente perpendicular a la superficie del medio de soporte y las colonias proliferarán con forma filamentosa (Picioreanu *et al.*, 2000).

2.1.5 Porosidad

La porosidad indica la irregularidad volumétrica de la estructura de la biopelícula (Picioreanu *et al.*, 2000). Al analizar la estructura de la biopelícula en cortes verticales, se ha observado claramente que existen canales de agua que conectan la parte profunda con la fase líquida. Por otro lado, se ha visto que una misma biopelícula, después de tres semanas de crecimiento, se vuelve más densa y algunos espacios intersticiales se van llenando; sin embargo, siguen existiendo aberturas hasta el fondo de la biopelícula (Okabe *et al.*, 1998). Su porosidad decrece durante el periodo de expansión isotrópica (Picioreanu *et al.*, 2000). La porosidad varía entre el 84 y 93% en las capas superficiales y de 67 a 68% en las capas más profundas de la biopelícula (Bishop, 1997).

2.1.6 Crecimiento de las biopelículas en sistemas de tratamiento de aguas residuales

El crecimiento de la biopelícula es el resultado de la transferencia de masa del sustrato del agua a las células y su subsiguiente conversión a nuevas células por actividad de la biopelícula. Uno de los factores más importantes que se relaciona con las biopelículas utilizadas en el tratamiento de aguas residuales es su tiempo de regeneración. Todas las biopelículas se regeneran con ciclos establecidos por las características de los microorganismos y la rapidez de suministro de alimento. En el caso de los filtros combinados esta regla tiene su excepción ya que la regeneración de la biopelícula se provoca con el retrolavado al generar el choque entre las partículas, obligando a su desprendimiento controlado. Entonces, el tiempo de regeneración afecta de forma importante la presencia o ausencia de algunas especies deseadas o no deseadas.

El espesor de la biopelícula depende en gran parte de la disponibilidad de alimento. Este factor se conoce como “carga orgánica” y representa la cantidad de alimento, expresada en gramos de material biodegradable, medido como *demanda bioquímica de oxígeno* (DBO) o como *demanda química de oxígeno* (DQO), que se pone a disposición de los microorganismos que se desarrollan en un metro cuadrado de biopelícula por día. Se calcula por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{Carga orgánica} = \frac{Q \cdot S_0}{A_B} \quad (2-1)$$

donde

Q Caudal de agua residual, en m³/d;

S₀ DBO o DQO en la entrada al reactor, en g/m³;

A_B Área superficial de la biopelícula expuesta al crecimiento, en m².

Es importante hacer notar que la inmensa mayoría de las bacterias presentes en las biopelículas son heterótrofas y que las bacterias nitrificantes, al ser incapaces para formar biopelículas, se desarrollan y viven dentro de la matriz gelatinosa formada por las bacterias heterótrofas. Esto tiene ventajas para las nitrificantes ya que son protegidas y se encuentran dentro de la fuente productora de amonio. La carga orgánica no solamente determina el espesor sino también el tiempo de retención celular o tiempo de regeneración de la biopelícula. Al aumentar la carga orgánica, los microorganismos se reproducen con mayor rapidez, como lo describe la ecuación de Stover-Kincannon (Stover y Kincannon, 1982). Los nutrientes penetran la biopelícula por la parte externa y se difunden hacia el interior con una rapidez que dependerá de los gradientes de concentración entre el interior y el exterior y de la rapidez con la que son consumidos por las diferentes microcapas de bacterias.

Dependiendo de su grosor, la biopelícula puede estar total o parcialmente penetrada por nutrientes y oxígeno molecular. Se dice que una biopelícula está completamente penetrada cuando el oxígeno y los nutrientes se difunden hasta la capa más profunda y, parcialmente penetrada, cuando debido al consumo de oxígeno y nutrientes por los organismos de las capas superiores (alejadas de la superficie del soporte), estos no logran difundirse hasta el fondo.

Los organismos que se encuentran en las capas superiores de la biopelícula tienen el primer contacto con el material orgánico pudiendo así seleccionar las moléculas que más convengan a su metabolismo y permitiendo la difusión de las otras hacia el fondo de la biopelícula. Por tanto, las mayores concentraciones de nutrientes son las que se encuentran en la superficie de la biopelícula. Según la ecuación de Monod, la tasa de desarrollo de los microorganismos unicelulares está en función directa de la concentración de nutrientes disponibles, lo cual tiene como consecuencia que los organismos de las capas superiores se reproduzcan más rápidamente que los de las inferiores. El efecto es que la biopelícula tiene una capa superior muy activa cuyo metabolismo consume

nutrientes y oxígeno con una rapidez muy por encima de la de las capas inferiores (González-Martínez, 1998).

Si una biopelícula delgada totalmente penetrada se encuentra expuesta a nutrientes y oxígeno, engrosará continuamente como efecto de la reproducción celular hasta un punto en que, debido al consumo de los nutrientes en las capas superiores, éstos no lleguen a las capas inferiores. La biopelícula estará formada entonces por dos capas: la aerobia externa (capa penetrada) y la anaerobia en contacto con el material de soporte (Figura 2.3d). Conforme transcurre el tiempo, la capa penetrada continuará engrosando y, consecuentemente, también aumentará el espesor de la región anaerobia al incorporarse a ella un mayor número de células desplazadas de la capa penetrada.

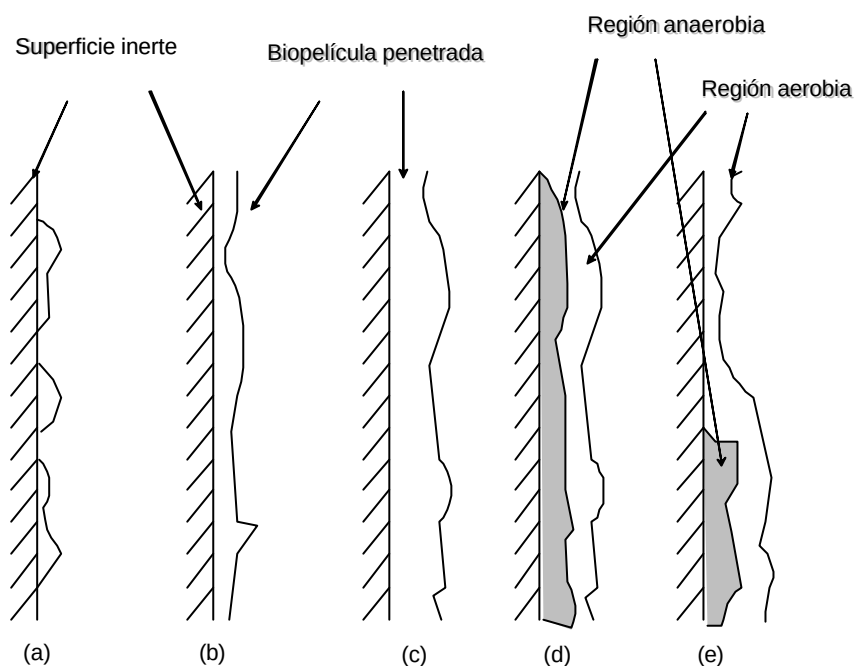


Figura 2.3 Desarrollo de la biopelícula (González-Martínez, 1998)

(a) Colonización de microorganismos sobre una superficie inerte; (b) desarrollo de la biopelícula; (c) biopelícula totalmente penetrada; (d) engrosamiento de la biopelícula formando una capa superficial aerobia y una capa basal anaerobia; (e) desprendimiento de una parte de la capa aerobia iniciando el proceso de crecimiento nuevamente

Si el espesor de la capa penetrada es constante y los organismos de ella están en continuo desarrollo, entonces el espesor de la capa anaerobia tenderá a aumentar proporcionalmente con el crecimiento de la capa penetrada. Conforme aumenta el espesor de la zona anaerobia, transcurre un tiempo en el que los microorganismos son privados de oxígeno molecular y de nutrientes exógenos. Como mecanismo de supervivencia buscarán una fuente de nutrientes y la activación de rutas metabólicas que permitan sustituir el oxígeno por otro receptor de protones.

Dentro de los procesos metabólicos que llevan a cabo en la zona anaerobia, el más importante para el tratamiento de aguas residuales es la degradación de los polímeros extracelulares, poli- β -hidroxibutiratos (PHB) que forman la matriz gelatinosa que mantiene unidas las células. Estos procesos hidrolíticos provocan el debilitamiento de las moléculas que le imparten coherencia a la biopelícula y su subsiguiente desintegración. Al encontrarse la capa anaerobia entre el medio de soporte y la capa penetrada, esta última pierde entonces la adhesión al medio de soporte, desprendiéndose y siendo arrastrada por el agua.

Al desprenderse una pequeña parte de la capa penetrada, la capa anaerobia queda descubierta y nuevamente en contacto con los nutrientes y el oxígeno proporcionados por el agua residual (Figura 2.3e), restableciendo los microorganismos el metabolismo aerobio para repetir el proceso de crecimiento hasta la formación de la zona anaerobia (Iwai y Kitao, 1994).

2.2 Eliminación biológica de nitrógeno

El nitrógeno es considerado como uno de los principales contaminantes en las aguas residuales porque favorece la eutrofización de los cuerpos receptores de agua. El nitrógeno se puede presentar típicamente en forma de amonio, compuestos orgánicos solubles, materia orgánica en suspensión o bien como nitritos y nitratos. Al descargar agua con amonio en un cuerpo receptor se propicia su oxidación a nitritos y nitratos, siendo este último compuesto predominante como producto de la oxidación de amonio. El proceso genera un consumo de oxígeno que puede reducir de forma importante la concentración de oxígeno disuelto en el agua causando la muerte de animales acuáticos. Por otro lado, los nitritos y nitratos son tóxicos para los animales acuáticos. Por esto actualmente se busca que los sistemas de tratamiento ayuden a eliminar este tipo de compuestos.

La experiencia a nivel internacional indica que la forma más económica y limpia de eliminar compuestos nitrogenados inorgánicos de aguas residuales es por medio de la manipulación de comunidades de bacterias para oxidar el amonio a nitratos (nitrificación) y, posteriormente, para reducir los nitratos a nitrógeno molecular (desnitrificación).

2.2.1 Nitrificación

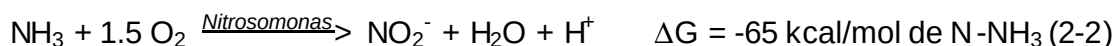
Se entiende por nitrificación el proceso biológico de la oxidación de amoníaco (amonio) a nitratos, pasando por nitritos como un producto intermediario. Los organismos responsables se encuentran bien distribuidos en la Naturaleza cuando se lleva a cabo la degradación aerobia de material orgánico. La nitrificación autótrofa (quimiolitótropa) es realizada por dos diferentes grupos de bacterias Gram-negativas que no tienen una relación filogenética entre ellas (Schlegel, 1997). En contraste, la nitrificación heterótrofa es realizada por un gran número de bacterias que no muestran la especialización metabólica de las autótrofas (Helmer y Kunst, 1997; Schlegel, 1997).

Desde el punto de vista biotecnológico, los grupos de bacterias nitrificantes quimiolitótropas son más importantes que las heterótrofas debido a que el número de ellas presentes en el suelo y en el agua sobrepasan por mucho las cantidades de las heterótrofas y, como consecuencia, la intensidad de las transformaciones. Focht y Verstraete (1977) indican

que la tasa de nitrificación de las bacterias heterótrofas es aproximadamente 10^2 - 10^3 veces menor que la de las autótrofas.

La oxidación de amonio a nitrito por *Nitrosomonas* involucra la presencia de oxígeno molecular, el cual actúa de dos formas: por incorporación directa en el sustrato y como receptor de electrones. Rees y Nason (1965) comprobaron que uno de los átomos de la molécula de nitrito proviene del oxígeno molecular y el otro del agua. Debido a que algunas reacciones de formación de hidroxilamina son endotérmicas, se considera que el amonio y el agua sirven como donadores de protones, mientras que uno de los átomos de oxígeno actúa como receptor de protones y el otro es utilizado para oxidar (incorporación al sustrato) el amonio y, de esta forma, compensar la energía requerida por las reacciones endotérmicas. *Nitrobacter* oxida nitritos para formar nitratos. Aleem *et al.* (1965) demostraron, con oxígeno marcado, que el oxígeno utilizado para oxidar el nitrito proviene del agua, por lo que el oxígeno molecular es utilizado como receptor de electrones de los procesos metabólicos de *Nitrobacter*.

Las reacciones generales son:



Por cada miligramo de amonio oxidado se producen 0.15 mg de células de *Nitrosomonas*, mientras que por cada mg de nitrito oxidado se producen 0.02 mg de células de *Nitrobacter*. En resumen, por cada 20 mg de amonio oxidado se producen 1.8 mg de células de bacterias nitrificantes.

La nitrificación puede ser afectada por la temperatura, el pH, la penetración de oxígeno en las biopelículas, la relación C/N y el tiempo de retención celular (Rusten y Eliassen, 1993).

Algunos factores que afectan la nitrificación son:

1. Oxígeno disuelto. Randall *et al.* (1992) informa que cuando la concentración de oxígeno disuelto es inferior de 0.3 mg/L, la nitrificación no se lleva a cabo y que la rapidez de nitrificación se hace independiente cuando la concentración de oxígeno disuelto es superior a 1.0 mg/L. Para garantizar que la nitrificación se lleve a cabo sin restricciones se recomienda que la concentración de oxígeno disuelto sea superior a 3.0 mg/L.

2. Valor de pH. *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* prefieren condiciones ligeramente alcalinas y se inhiben en valores inferiores a 6 y superiores a 9.5 en presencia de amonio. Esto se explica ya que valores de pH ligeramente alcalinos desplazan el equilibrio de amoniaco a amonio, la cual es la molécula que oxida *Nitrosomonas*. En el tratamiento biológico de aguas residuales, el valor de pH óptimo es de 7.5 a 9; a valores inferiores de 7 y superiores de 9.8, la nitrificación disminuye en un 50% (Surampalli *et al.*, 1997).

3. Temperatura. Mitchel (1974) informa que la temperatura óptima para los organismos nitrificantes es de 30°C y que su actividad disminuye conforme se aleja de este valor hasta

quedar desactivadas cuando es menor de 7°C o superior a los 40°C. La temperatura de nitrificación usualmente se reporta en un intervalo de 4 a 50°C con un óptimo de 30 a 36°C (Barnes y Bliss, 1983).

4. Tiempo de retención celular. En general, el tiempo de retención celular en sistemas de biopelícula se considera infinito porque el exceso de lodo no se extrae del sistema sistemáticamente (Wilderer *et al.*, 2001). El tiempo de retención celular aparente refleja solamente el tiempo de retención de las células que proliferan sobre la capa superficial de la biopelícula. Las células bacterianas que crecen en la parte basal de la biopelícula pueden permanecer por un tiempo mucho más largo. Esto beneficia a los microorganismos con tasa de crecimiento más bajos como es el caso de las bacterias nitrificantes. En los reactores con biopelícula el retrolavado frecuente provoca que el tiempo de retención celular disminuya.

5. Tóxicos. Como a cualquier otro organismo, los metales pesados y otras sustancias consideradas tóxicas los afectan de forma negativa. La actividad de las bacterias nitrificantes puede ser inhibida por sustancias tóxicas, dependiendo de la concentración de la sustancia y del tiempo de exposición.

Nitrosomonas y *Nitrobacter* son bacterias aerobias estrictas, sin embargo pueden resistir periodos relativamente largos en ausencia de oxígeno. Las bacterias nitrificantes son microorganismos quimioautótrofos con velocidades de reproducción inferiores a las de los organismos heterótrofos; por lo tanto, se debe asegurar un tiempo de retención celular suficientemente largo para permitir la permanencia de estos microorganismos en los sistemas para tratamiento de aguas residuales y evitar que se presente un proceso de “lavado” (Characklis y Marshall, 1990).

Dependiendo de las condiciones que se tengan, se considera que este tipo de microorganismos presentan tasas de reproducción entre 2 y 5 días (Rheinheimer *et al.*, 1988). Otros factores que puede afectar la nitrificación son la turbulencia y la facilidad de adherencia de las bacterias al medio de soporte. Rusten *et al.* (1995) encontraron que las tasas máximas de nitrificación se alcanzan en biopelículas maduras (después de 116 días de iniciada la nitrificación), las biopelículas jóvenes sólo llegan a un 50% de eliminación de amonio.

2.2.2 Desnitrificación

Los nitratos son seguramente la fuente de nitrógeno inorgánico más abundante en sistemas acuáticos. Por este motivo, los nitratos pueden ser utilizados por un gran número de microorganismos, ya sea como fuente de nitrógeno a través de las vías de la asimilación anabólica o como fuente de oxígeno en ausencia de oxígeno molecular. La reducción de nitrato por vía anabólica (*amonificación*) es un proceso común y conduce a la formación de amonio a escala intracelular. La reducción catabólica (*desnitrificación*) la realizan los microorganismos para obtener oxígeno en ausencia de oxígeno molecular y consiste en la reducción de óxidos de nitrógeno a nitrógeno molecular.

En un primer paso un grupo de bacterias reduce nitrato a nitrito a través de la vía de la reducción catabólica. La reducción de nitrato a otros subproductos la realiza otro grupo de microorganismos: los principales productos son N₂ y N₂O. En ocasiones se producen

también pequeñas cantidades de amonio por otras rutas metabólicas. Las bacterias que tienen la capacidad para desnitrificar son heterótrofas y utilizan el oxígeno de los nitratos como receptor de electrones como parte integral de la cadena respiratoria (Helmer y Kunst, 1997). Entre ellas están los géneros *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Achromobacter* y *Bacillus* (Surampalli *et al.*, 1997).

No todas las bacterias pueden producir las enzimas requeridas para realizar la desnitrificación desde nitrato hasta nitrógeno molecular y dióxido de nitrógeno. Esta capacidad varía con cada tipo de organismo. Algunas bacterias desnitrificantes carecen de una nitratorreductasa por lo que solamente pueden reducir nitrito; otras sólo generan N_2O como producto final; algunas pueden formar nitratorreductasa pero no pueden formar N_2O de NO_3 o de NO_2 (Rheinheimer *et al.*, 1988).

Es conocimiento general que la desnitrificación se realiza a través de las vías metabólicas de la cadena respiratoria y del transporte de electrones presentes en un gran número de bacterias aerobias. Sin embargo, gran parte de la literatura especializada atribuye erróneamente la desnitrificación a bacterias facultativas (González Martínez, 1998). Las bacterias facultativas llevan a cabo sus funciones metabólicas a través del transporte de electrones de la cadena respiratoria utilizando el sistema de citocromos en presencia de oxígeno molecular, el cual es utilizado como receptor de protones (Schlegel, 1997). En ausencia de oxígeno, las bacterias facultativas utilizan moléculas orgánicas como receptor de protones (biodegradación). Muchas bacterias facultativas tienen capacidad de utilizar nitratos como receptores de protones, pero no pueden hacer lo mismo con el nitrito (Randall *et al.*, 1992).

Aunque muchos autores coinciden en los mecanismos para reducir nitratos a nitritos, existe poca información sobre los mecanismos de reducción de nitritos (Focht y Verstraette, 1977). Rheinheimer *et al.* (1988) presentan los pasos comúnmente aceptados para la desnitrificación:



Debe tomarse en cuenta que la desnitrificación se lleva a cabo con objeto de aprovechar los nitratos y nitritos como fuente de oxígeno y que las bacterias puedan llevar a cabo los pasos de la fosforilación oxidativa (respiración) bajo condiciones de ausencia de oxígeno molecular para funciones catabólicas (Schlegel, 1997). Esto va asociado a la transformación de material orgánico como forma de alimento. Según los principios de la cinética enzimática y de la respiración, el consumo de oxígeno es directamente proporcional al consumo de sustratos orgánicos. Por esto, la rapidez de desnitrificación de una comunidad microbiana dependerá de la cantidad de material carbonoso que se haya puesto a su disposición (Barnes y Bliss, 1983).

La desnitrificación ocurre en un intervalo de temperatura de 10 a 30°C. El intervalo óptimo de pH es de 6.5 a 8 y la desnitrificación se reduce cuando se tienen valores menores que 6 y mayores que 9. Las concentraciones de oxígeno disuelto superiores de 1.0 mg/L también inhiben la desnitrificación (Surampalli *et al.*, 1997). Un parámetro clave en la desnitrificación es la relación C/N. Se deben tener relaciones con un valor mínimo de 3

gDQO/gN-NO₃ para garantizar una buena desnitrificación en reactores anóxicos (Rusten *et al.*, 1994).

Se ha encontrado evidencia de nitrificación y desnitrificación simultáneas en reactores de lecho móvil (Rusten y Eliassen, 1993; Helness y Ødegaard, 1999) y en reactores de lecho fijo (Arnz *et al.*, 2001; Gieseke *et al.*, 2002). La explicación de este fenómeno es que se forman microzonas anóxicas en la parte interna de la biopelícula, permitiendo que los heterótrofos desnitrifiquen (Helmer y Kunst, 1997). También Garzón-Zúñiga y González-Martínez (1996) reportan que observaron nitrificación y desnitrificación simultánea durante la fase aerobia de un reactor de biopelícula.

2.3 Microscopio confocal láser de barrido

Recientemente, el microscopio confocal láser de barrido (por sus siglas en inglés, CLSM, confocal laser scanning microscope) ha sido introducido como una herramienta poderosa para investigar la estructura de las biopelículas de manera tridimensional sin destruirlas y conservándolas vivas (Caldwell *et al.*, 1993; Wagner *et al.*, 1998; Xavier *et al.*, 2000). El reconocimiento de que las biopelículas no siempre representan estructuras homogéneas estuvo fuertemente solventado por el uso de la microscopía confocal láser de barrido en combinación con el uso de microelectrodos (Wilderer *et al.*, 2002).

En un análisis utilizando el microscopio confocal láser, Okabe *et al.* (1998) encontraron que las biopelículas bajo estudio presentaron poblaciones mixtas, muy porosas y con un desarrollo estructural en forma de vellosidades entretejidas (filamentosas), a la cual se sostenían varias microcolonias. Con ayuda de esta poderosa herramienta, ellos confirmaron la presencia de macroporos con diámetros promedio de 20-200 micrómetros y microporos o interespacios en agregados de microcolonias. Estos macro y microporos facilitaron significativamente el transporte de sustancias en la biopelícula. La estructura de la biopelícula (a manera de panal de abeja o de malla) resultó por sí misma diseñada para maximizar el transporte de sustratos y productos y la resistencia a fuerzas cortantes externas del flujo de agua (Okabe *et al.*, 1998).

Daims *et al.* (2001) trabajando con reactores discontinuos, y con ayuda de la microscopía confocal láser, encontraron que las bacterias oxidantes de amonio y nitrito proliferaban en microcolonias esféricas de diversos tamaños. Ocasionalmente, observaron células solitarias o pequeños agregados de menos de diez células. En las colonias de bacterias oxidantes de amonio, las células estaban empacadas apretadamente con espacios entre ellas o, incluso, sin espacios. En contraste, *Nitrospira* formaba grandes agregados entrelazados por varios canales estrechos y grandes cavidades libres de células (Daims *et al.*, 2001).

Además estos autores observaron que las bacterias amonio-oxidantes ocupan un porcentaje alto del total del área de las células bacterianas en las imágenes procesadas del microscopio confocal láser de barrido (ligeramente más del 55%), mientras que el área de las células bacterianas de la combinación de todas las nitrito-oxidantes (*Nitrospira* y *Nitrobacter*) fue mucho menor (cerca del 8%). Dentro del grupo de las bacterias oxidantes de nitritos, *Nitrospira* fue claramente la población dominante (Daims *et al.*, 2001). Okabe y Watanabe (2000) encontraron también que las bacterias amonio-oxidantes fueron la población dominante en la nitrificación autótrofa.

Con ayuda del microscopio confocal láser de barrido se determinó en biopelículas maduras desarrolladas en reactores de flujo discontinuo que el 58% de la biomasa se encuentra adherida al medio de empaque, el 15% se encuentra como flóculos en suspensión (biomasa que se ha desprendido) y el 10% es ingerido por los ciliados (Eisenmann *et al.*, 2001).

Una limitante en el uso del microscopio confocal láser de barrido es la profundidad de penetración de la luz usada en este tipo de microscopía, la cual está limitada a penetrar espesores cercanos a los 300 μm (Wilderer *et al.*, 2002).

2.4 Hibridación fluorescente *in situ*

Los rápidos avances en biología molecular han resultado en el desarrollo de diversas técnicas de ensayos con genes lo cual permite el análisis detallado de las comunidades microbianas presentes en las biopelículas. Técnicas tales como la extracción de grupos específicos de ARN ribosomal (ARNr) han sido utilizadas para investigar la ecología de diversos tipos de biopelículas (Amman, 1995; Schramm, 1998). Similarmente el uso de la hibridación fluorescente *in situ* (por sus siglas en inglés FISH, fluorescent *in situ* hybridation), en combinación con el microscopio confocal láser de barrido, ha permitido examinar las comunidades microbianas naturales en ambientes complejos como son el suelo y aguas naturales (Amman *et al.*, 1995; Wagner *et al.*, 1998).

Dado que la mayoría de las células bacterianas no se pueden reproducir en laboratorio con estándares eficientes, una alternativa es extraer la información genética contenida en las cadenas de ácido desoxirribonucleico (ADN) de las diferentes especies bacterianas y construir un banco de datos con genes específicos. Dichas secuencias de genes pueden ser usadas para identificar células bacterianas sin necesidad de hacer cultivos selectivos de crecimiento en laboratorio.

Los fragmentos de ADN pueden ser secuenciados para revelar la identidad de la bacteria correspondiente por análisis comparativos con secuencias de ácido desoxirribonucleico ribosomal (ADNr) de otras bacterias. Las secuencias de 16S del ácido ribonucleico ribosomal (ARNr) han sido instrumento en la clasificación de bacterias y en la asignación de su lugar dentro de los árboles filogenéticos. Aunque lo segundo no siempre es relevante en la práctica de la ingeniería, existen diversas aplicaciones, las cuales se derivan del conocimiento de la filogenia. Sondas de genes (secuencias de cadenas simples de ADN generalmente alrededor de 17-21 bases en longitud) pueden ser marcadas con un material fluorescente para un área específica de ARNr de cierta bacteria y lograr un híbrido, esto es, formar estructuras de doble cadena (Wilderer *et al.*, 2002) (Figura 2.4).

La hibridación puede ocurrir *ex situ* al aislar los ácidos nucleicos, por ejemplo de una membrana, o *in situ* en la célula entera. Al adherirse un fluoróforo a la prueba de gen y su subsiguiente detección al microscopio, es posible cuantificar o verificar la presencia de células de particular interés y extraer conclusiones en caso de conocerse el papel fisiológico que juegan dichos organismos en el tratamiento de aguas residuales, como por ejemplo, el papel de las bacterias nitrificantes (Wilderer *et al.*, 2002). La Tabla 2.1 presenta ejemplos de secuencias de cadenas simples de ADN utilizadas en la determinación de bacterias nitrificantes.



- a) Secuencias de cadenas simples de ADN de una especie bacteriana en particular son marcadas con un material fluorescente.
- b) Se ponen en contacto con la muestra de agua a analizar que ha sido tratada para desdoblar la cadena de ADN de todos los microorganismos presentes en la muestra.
- c) La secuencia de ADN marcada reconoce su homólogo y se ensambla para formar nuevamente una doble cadena de ADN, identificándose al microscopio por el material fluorescente.

Figura 2.4. Representación esquemática de la hibridación fluorescente *in situ*

Tabla 2.1. Ejemplos de sondas de genes aplicadas en la técnica de hibridación fluorescente *in situ* (Schramm *et al.*, 1998)

Sonda	Especificidad	Secuencia (5'3') de la sonda	Sitio marcado ARNr
NSO1225	Amonio oxidantes <i>β-proteobacteria</i>	CGCCATTGTATTACGTGTGA	16S, 1225-1244
NSV443	<i>Nitrosospira spp.</i>	CCGTGACCGTTTCGTTCCG	16S, 444-462
NSR826	<i>Nitrospira spp.</i>	GTAACCCGCCGACACTTA	16S, 1156-1173
NSR1156	<i>Nitrospira spp.</i>	CCCGTTCTCCTGGGCAGT	16S, 1156-1173
NSR447	<i>Nitrospira spp.</i>	GGTTTCCCGTTCCATCTT	16S, 447-464

2.5 Modelo unidimensional de transporte de masa en una biopelícula

El desarrollo del modelo unidimensional de transporte de masa en una biopelícula se basa en cuatro suposiciones (Figura 2.5):

1. Una biopelícula homogénea se desarrolla sobre un medio de soporte sólido, inerte e impermeable, con un espesor L en un estado estable y una superficie plana paralela al medio de soporte: se considera entonces que las propiedades físicas y biológicas son homogéneas;
2. En la biopelícula se lleva a cabo una sola reacción bioquímica (redox): solamente un sustrato soluble como variable, con una concentración C en la dirección normal al medio de soporte (eje x con origen sobre la superficie de la biopelícula), es el sustrato limitante; la tasa de reacción (remoción) por la unidad de volumen de la biopelícula r_f puede ser expresada como una función del flujo de sustrato (N) dentro

de la biopelícula por medio de un balance de masa a través de una sección infinitesimal de la biopelícula;

3. El sustrato soluble es transportado a través de la biopelícula por difusión molecular: D es el coeficiente de difusión molecular del sustrato en la biopelícula;
4. El efecto de la difusión a través de la capa líquida puede ser despreciado; por lo tanto, la concentración de sustrato en la superficie de la biopelícula (d_x , biopelícula/interfase) es la misma que la del seno del líquido en el reactor

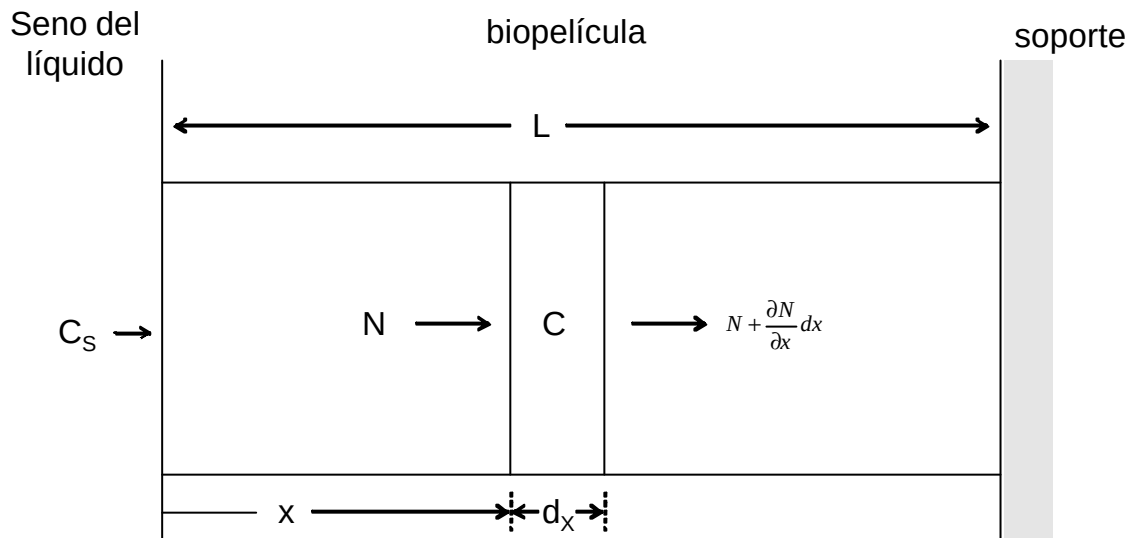


Figura 2.5 Geometría y definición de símbolos para una biopelícula ideal (Harremöes, 1978)

Tomando en cuenta la complejidad de la estructura de una biopelícula, se requeriría de un modelo tridimensional que permitiera describir los procesos que se realizan en ella y en el cual se debe conocer la estructura de la biopelícula (poros/canales), la forma en cómo se agrupan las células y los patrones de flujo. Para tal fin se requiere de ensayos particulares para obtener estos datos y parámetros, lo que no es fácil de conseguir en la práctica debido a fenómenos relacionados con los procesos del sistema como son las tasas de flujo y los de carga orgánica (Bonomo *et al.*, 2000).

A pesar de que estudios recientes demuestran que la estructura de una biopelícula es más complicada que la descrita en un modelo matemático unidimensional, se sigue utilizando este modelo como la forma más sencilla de describir el fenómeno de transporte de masa. Partiendo del esquema de la Figura 2.5 se tiene el medio de soporte sobre el cual se desarrolla la biopelícula con un espesor L . Se considera que la concentración de sustrato en el seno del líquido (C_s) es la misma que está en contacto con la superficie de la biopelícula. El flujo de sustrato N dentro de la biopelícula está en función del cambio parcial de N con respecto al cambio de la fracción del espesor de la biopelícula que es penetrada por el sustrato ($\partial N / \partial x$). El sustrato C dentro de la biopelícula es removido a

una tasa de reacción r_f . El sustrato es transportado por difusión (D). El balance de masa queda como sigue (Harremöes, 1978):

$$\frac{dN}{dx} = -r_f \quad (2-4)$$

$$N = -D \frac{dC}{dx} \quad (2-5)$$

donde,

r_f	=	Tasa de reacción por unidad de volumen en la biopelícula	$\text{g/cm}^3 \cdot \text{s}$
N	=	Flujo del sustrato	$\text{g/cm}^2 \cdot \text{s}$
D	=	Coeficiente de difusión del sustrato a través del agua	m^2/d
C_s	=	Concentración de sustrato en el seno del líquido	g/m^3
C	=	Concentración de sustrato en la biopelícula	g/m^3
x	=	Fracción penetrada del espesor L	m
L	=	Espesor de la biopelícula	m

En términos adimensionales, se tiene la ecuación diferencial:

$$\frac{d^2C}{dx^2} = \frac{r_f L^2}{DC_s} \quad (2-6)$$

donde,

$$c_f = \frac{C}{C_s}, \text{ tasa de concentración} \quad (2-7)$$

$$x = \frac{x}{L}, \text{ distancia que penetra el sustrato en la biopelícula (se considera a partir de la capa superficial)} \quad (2-8)$$

El balance de masa de la ecuación del modelo con una sola dimensión puede ser resuelta analítica o numéricamente. Las soluciones analíticas para condiciones en estado estable pueden encontrarse para tasas de reacción de primer orden y de orden cero en Henze *et al.* (1997) y para el uso de la cinética de Monod en Bonomo *et al.* (2001). Resolviendo el balance de masa para una biopelícula en un estado estable y considerando la difusión de un solo sustrato para una tasa de reacción de orden cero ($r_f = k_0$), se calcula el parámetro adimensional de penetración (β) (Harremöes, 1978):

$$\frac{d^2c_f}{dx^2} = \frac{k_0 L^2}{DC_s} = \frac{2}{b^2} \quad (2-9)$$

$$b = \sqrt{\frac{2 \cdot D \cdot C_s}{k_0 \cdot L^2}} \quad (2-10)$$

donde,

β	parámetro de penetración	adimensional
C_s	concentración de sustrato en el seno líquido	mg/L
D	coeficiente de difusión del sustrato	m^2/d
k_0	tasa de reacción de orden cero	$g/m^3 \cdot d$
L	espesor de la biopelícula	m

Si $\beta > 1$ la biopelícula está totalmente penetrada.

Si $\beta < 1$ la biopelícula está parcialmente penetrada.

2.6 Reactores secuenciados con biopelícula

Los sistemas secuenciados, conocidos por sus siglas en inglés como SBR (Sequencing Batch Reactors) se caracterizan por tener cambios periódicos controlados sobre las condiciones del proceso, tales como la disponibilidad de oxígeno, de sustrato y de nutrientes inorgánicos. Dichas condiciones ambientales son controladas por la operación de llenado y de vaciado de los reactores a distintos intervalos de tiempo. Estas condiciones permiten el desarrollo de consorcios deseados de microorganismos en un mismo reactor. El ciclo de los reactores secuenciados termina cuando se alcanzan los parámetros requeridos en el efluente. El ciclo consiste típicamente de tres fases: llenado, reacción y vaciado (Figura 2.6).

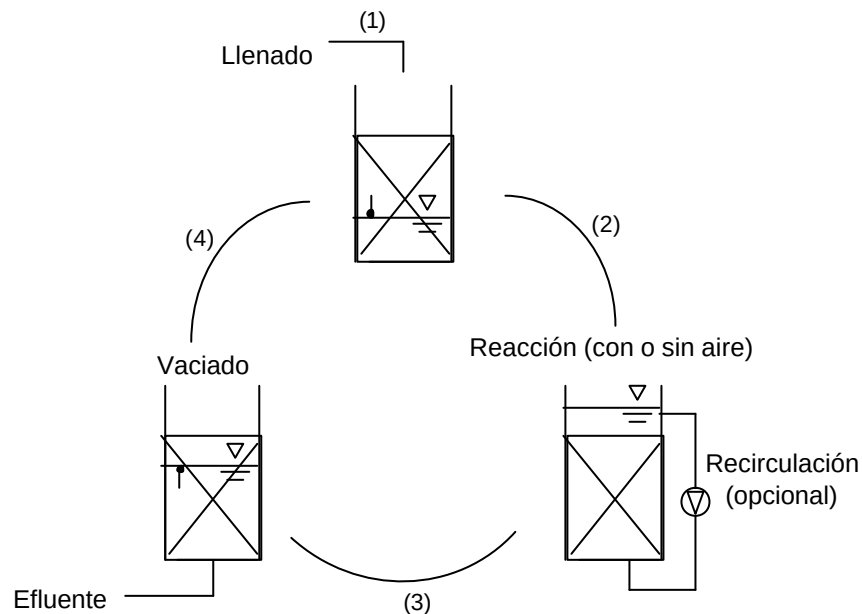


Figura 2.6. Representación esquemática de un reactor secuenciado de biopelícula

Los sistemas secuenciados pueden ser operados bajo la modalidad de reactores de lodos activados o bajo la modalidad de reactores con biopelícula, conocidos por sus siglas en inglés como SBBR (Sequencing Batch Biofilm Reactors), en donde se utiliza algún tipo de material que sirva como soporte para el desarrollo de los microorganismos. Los sistemas secuenciados de biopelícula pueden operar como reactores de lecho fijo (González-Martínez y Wilderer, 1991; Wilderer, 1992) o como reactores de lecho móvil (Helness y Ødegaard, 1999).

Las ventajas para los microorganismos que proliferan en una biopelícula incluyen protección contra sustancias tóxicas y valores extremos de pH y de temperaturas. Algún tipo de cambio en estos factores tiene mínimos efectos en la comunidad de microorganismos y la biopelícula le confiere estabilidad al proceso en este tipo de sistemas para el tratamiento de aguas (Wilderer *et al.*, 2001).

En los reactores de lecho fijo comúnmente prevalecen las condiciones de flujo tipo pistón con el subsiguiente desarrollo de una distribución no uniforme de la biomasa en el lecho. Esto propicia que las especies de microorganismos no estén igualmente representadas en la base inferior que en la base superior del lecho así como en las partículas del lecho que están en contacto con las paredes laterales del reactor y las que se encuentran hacia el centro del lecho. Los ciclos de operación en los reactores secuenciados de biopelícula permiten una mejor distribución de la biomasa a través del lecho si se logra una mezcla homogénea dentro del reactor. Esto puede ser favorecido si se recircula el agua a través del lecho durante los ciclos.

En contraste con los sistemas secuenciados de lodos activados, en los de biopelícula se puede prescindir de una sedimentación secundaria, además de que este último permite un recambio de agua del 100% mientras que el recambio en un sistema de lodos activados es a lo más del 70% (Wilderer *et al.*, 2001). Además, partículas no biodegradables o algún tipo de partículas coloidales presentes en el agua cruda pueden quedar atrapadas en la biopelícula por fenómenos de adsorción o capturadas por fenómenos de filtración física en el material de empaque y ser posteriormente removidas del reactor por medio del lavado del lecho.

Los reactores secuenciados de biopelícula se han aplicado en el tratamiento de aguas residuales para:

- Nitrificación, desnitrificación y eliminación biológica de fósforo en aguas residuales municipales e industriales (Morgenroth y Wilderer, 1998; Helness y Ødegaard, 1999; Arnz *et al.*, 2001).
- Tratamiento de lixiviados provenientes de rellenos sanitarios (Dollerer y Wilderer, 1996; Loukidou y Zouboulis, 2001).
- Tratamiento de aguas residuales con concentraciones relativamente bajas de contaminantes (Gieseke *et al.*, 1999).
- Tratamiento específico de aguas con cargas altas (Kaballo, 1997; Woolard, 1997; Arnold *et al.*, 2000).

2.6.1 Soporte de la biopelícula

Se han investigado varios tipos de materiales para conformar el lecho en los reactores con biopelícula, buscando principalmente que sea fácil de fluidificar y permita una rápida colonización por parte de las bacterias. Los diferentes tipos de medio de soporte se pueden clasificar como a continuación se presenta (Iwai y Kitao, 1994):

- 1) Medio granular irregular - arena, cuarzo, roca volcánica, coque, carbón, conchas de moluscos, piezas de plástico, piezas de corcho, piezas de madera, etc.
- 2) Medio granular uniforme - Anillos Raschig, tubos de plástico, anillos Pall, etc.
- 3) Medio con forma de postes o lazos - barras de madera, ramas de árbol, etc.
- 4) Medio con forma de discos o platos - discos de madera, discos de plástico, discos corrugados de plástico, etc.
- 5) Medio con forma de bloque poroso - tubos porosos de plástico, tubos de panal, etc.

Se pueden considerar las siguientes características requeridas para un medio de empaque:

- Apropiado grado de fijación de la película biológica (Iwai y Kitao, 1994)
- Alta área superficial específica (Iwai y Kitao, 1994)
- Alta porosidad ((Iwai y Kitao, 1994; Morper y Wildmoser, 1990)
- Estabilidad química y biológica ((Iwai y Kitao, 1994; Morper y Wildmoser, 1990)
- Resistencia mecánica (Morper y Wildmoser, 1990; Iwai y Kitao, 1994)
- Bajo precio (Iwai y Kitao, 1994)
- Facilidad de fabricación y transportación (Iwai y Kitao, 1994)
- Durabilidad (Iwai y Kitao, 1994)
- Homogeneidad (Morper y Wildmoser, 1990)

2.6.2 Porosidad del lecho empacado

También se tienen algunos factores asociados con características hidráulicas del medio como la porosidad, área superficial específica, forma y tamaño. La porosidad en porcentaje del medio se puede representar por la siguiente expresión (CEPIS, 1978; Weber, 1979):

$$\text{Porosidad} = V / V_T \quad (2-11)$$

donde,

$$\begin{aligned} V_T &= \text{Volumen que ocupa el material} \\ V &= \text{Volumen de vacíos} \end{aligned}$$

La porosidad afecta directamente el tiempo de retención actual y la cantidad de biomasa retenida en el reactor.

2.6.3 Área superficial específica

El área superficial específica determina la cantidad de película biológica y es una de las características directas y de las más importantes en el funcionamiento de los reactores con biopelícula. Si se tiene gran área superficial específica se tiene la ventaja de que las partículas en suspensión colisionen con mayor frecuencia con las partículas que conforman el lecho logrando una mayor eficiencia en la remoción de sólidos.

2.7 Medios de soporte comerciales

2.7.1 Anillos de poliuretano, conocidos con la marca *Kaldnes*

Los elementos de soporte Kaldnes están hechos de polietileno de alta densidad (0.96 g/cm^3) en forma de pequeños cilindros (10mm de diámetro x 7mm de altura) con un cruz interior del cilindro y aletas longitudinales en el exterior (Figura 2.7). La colonización de los elementos de soporte en el reactor dependerá en cada caso del grado de tratamiento deseado, cargas orgánica e hidráulica, temperatura y transferencia de oxígeno, proporcionando gran flexibilidad en el área específica de biopelícula adherida.

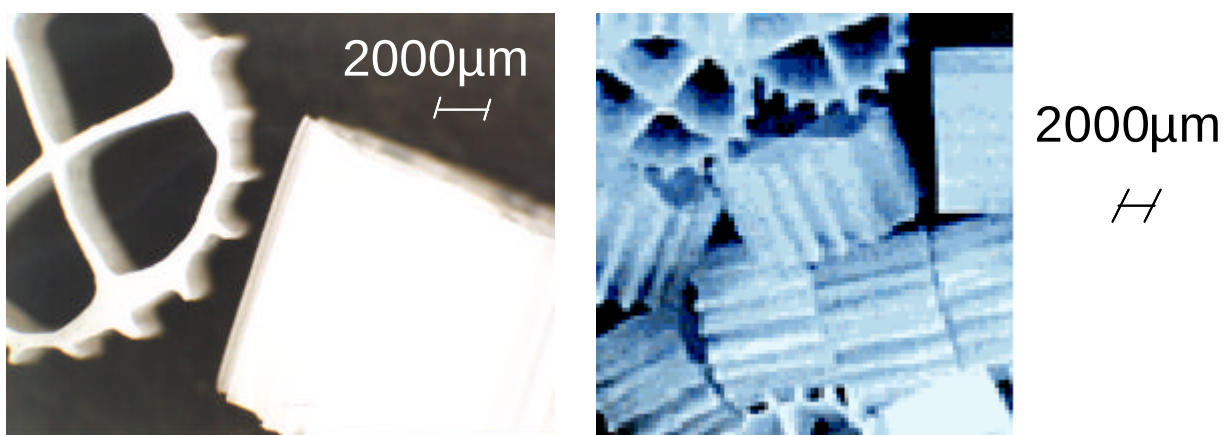


Figura 2.7 . Medio de soporte de la marca Kaldnes

Este medio de soporte se desarrolló en 1990 dentro de la patente de los reactores de biopelícula de lecho móvil (MBBR, Moving Bed Biofilm Reactors, por sus siglas en inglés) de la compañía noruega “Kaldnes Miljøteknologi” en cooperación con la Universidad Noruega para la Ciencia y la Tecnología (SINTEF, Trondheim, Noruega).

El principio de esta tecnología se basa en una operación bajo la modalidad de reactores de flujo continuo, con reactores que no necesitan retrolavado, sin necesidad de recircular lodos al sistema, evitando pérdidas de carga y un valor alto de área superficial total expuesta (Rusten et al., 1998). Para lograr estas condiciones se mantienen los medios de soporte que soportan la biopelícula en constante movimiento dentro del reactor, ya sea

con ayuda de aire cuando se trata de un reactor aerobio o de agitación mecánica cuando se trata de un reactor anaerobio (Ødegaard *et al.*, 1994).

Los reactores de lecho móvil han tenido gran éxito y se cuenta ya con más de cien plantas en todo el mundo que emplean esta tecnología en el tratamiento de aguas residuales de origen municipal e industrial para eliminar materia orgánica, nitrificar y desnitrificar (Ødegaard *et al.*, 1999).

La Tabla 2.2 presenta reportes de las características de operación con este tipo de sistema. Algunos autores han utilizado los anillos Kaldnes como lecho fijo en escala laboratorio en la eliminación de nitrógeno y fósforo de aguas sintéticas con remociones por arriba del 90 por ciento para materia orgánica y nitrógeno amoniacal con cargas orgánicas por debajo de 2 gDQO/m²·d (Gieseke *et al.*, 1999; 2002).

Tabla 2.2. Condiciones de trabajo en plantas con reactores de lecho móvil para diferentes tipos de agua residual y de proceso

Eliminación de materia orgánica	Carga orgánica (gDQO/m²·d)	Remoción (%)
Carga media alta ²	>12	40-50
Carga media ³	3-11	>90
Carga baja ³	<3	>90
Nitrificación		
Carga media alta ¹	>12	=70
Carga media ¹	3-11	70-85
Carga baja ¹	<3	>95

¹Rusten *et al.*, 1995 ²Rusten *et al.*, 1998 ³Pasinetti y Emondi, 2003

2.7.2 Cubos de hule-espuma de la marca LinporÒ

El proceso Linpor consiste en el uso de medios de soporte que consisten de cubos de hule espuma (poliuretano) con una gran porosidad y dimensiones de 15x15x15 cm por lado (Figura 2.8). Dichos cubos se adicionan a los típicos tanques de aireación de los sistemas de lodos activados implementando un sistema híbrido, es decir, la combinación de biomasa en suspensión y biomasa adherida a un medio de soporte en un mismo sistema para el tratamiento de aguas residuales. La adición de los cubos es del orden del 10 al 30 por ciento del volumen del tanque de aireación (Morper, 1994).

La finalidad de agregar los cubos de hule espuma a los tanques de aireación es incrementar la concentración de biomasa activa, pues siendo un material altamente poroso, se garantiza el crecimiento de microorganismos dentro del material en una gran concentración. La adición de los cubos a los tanques de aireación no requiere de modificación alguna en la configuración de los mismos por lo que este proceso es ideal ya sea para tanques en operación o en construcción sin la necesidad de construcciones adicionales. Se ha visto que los porcentajes de remoción de DQO mejoran desde un 5 y hasta un 10 por ciento con la adición de los cubos de hule espuma en sistemas de lodos activados convencionales (Renz, 1985).

Se han desarrollado diversos sistemas Linpor para el tratamiento de aguas residuales: a) Linpor®-C es un proceso que ha sido utilizado eficientemente para el tratamiento de aguas industriales en la degradación de contaminantes orgánicos, principalmente con aguas que tienden a formar lodos abultados como es el caso de la industria del papel (70-75 por ciento de remoción). b) Linpor®-CN ha sido desarrollado para el tratamiento de aguas residuales municipales para eliminar materia orgánica (75-87 por ciento de remoción) y compuestos nitrogenados por procesos de nitrificación y desnitrificación sin la necesidad de construcciones adicionales (90-96 por ciento de remoción de amonio). c) Linpor®-N es un proceso desarrollado particularmente para nitrificar aguas con bajas cargas orgánicas como es el caso de los efluentes provenientes de sistemas biológicos convencionales para el tratamiento de aguas residuales (90-95 por ciento de remoción de amonio) (Fuchs, 1987). Este sistema no requiere de sedimentación secundaria ni de la recirculación de lodos.

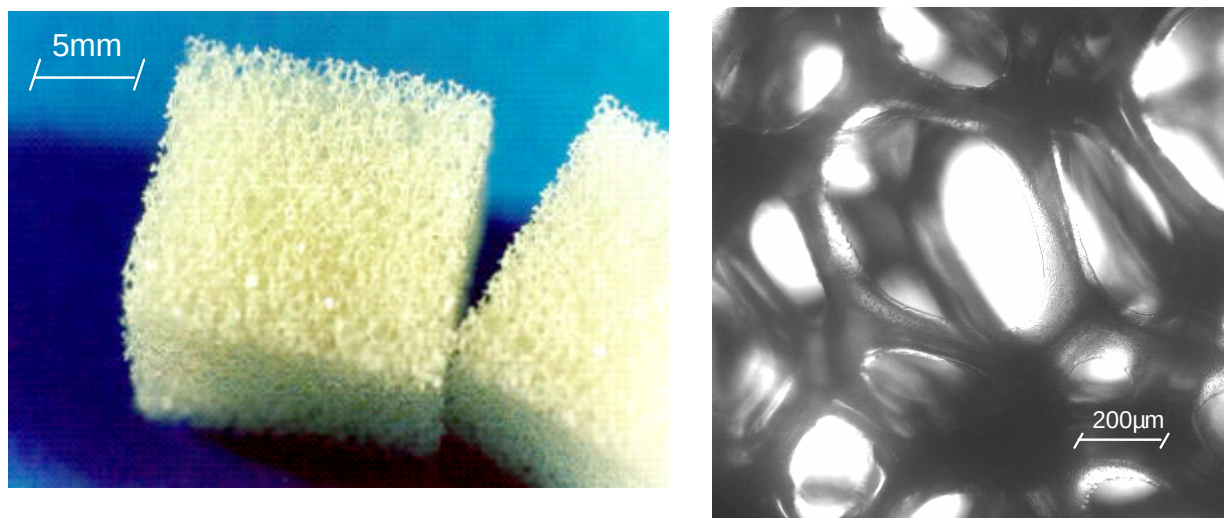


Figura 2.8. Cubos de hule-espuma de la marca Linpor

La primera planta que se construyó con Linpor fue en el año de 1984 en Freising, Alemania. Desde entonces a la fecha se cuenta con gran número de plantas construidas principalmente en Alemania, Austria, Australia y países asiáticos como lo son Japón, China, India y Corea. Se tienen pocos ensayos con este empaque de Linpor como lecho fijo en reactores secuenciados de biopelícula; de hecho, en la literatura solamente se encontraron dos trabajos encaminados a estudios cinéticos para ver cómo afecta la relación C/N en la cinética del sistema (Hoshi y Deguchi, 2001; Kawauchi y Deguchi, 2001).

2.7.3 Esferas de cerámica, conocidas con la marca *Liapor*

Los medios de soporte de la marca Liapor ofrece esferas de cerámica con tamaños que van de 4 a 8 mm de diámetro (Figura 2.9). Este material presenta una superficie rugosa que favorece la colonización por parte de bacterias. Las esferas Liapor ha sido utilizado en reactores secuenciados de biopelícula y en biofiltros para remover amonio y fósforo de

aguas residuales municipales, sintéticas e industriales. Con cargas orgánicas por debajo de $2\text{gDQO/m}^2\cdot\text{d}$ se han logrado porcentajes de remoción de amonio del 98-99 por ciento y de DQO alrededor del 90 por ciento con reactores a escala piloto y a escala de laboratorio en el tratamiento de aguas residuales de origen municipal (Morgenroth, 1998; Arnold *et al.*, 2000; Arnz *et al.*, 2001).

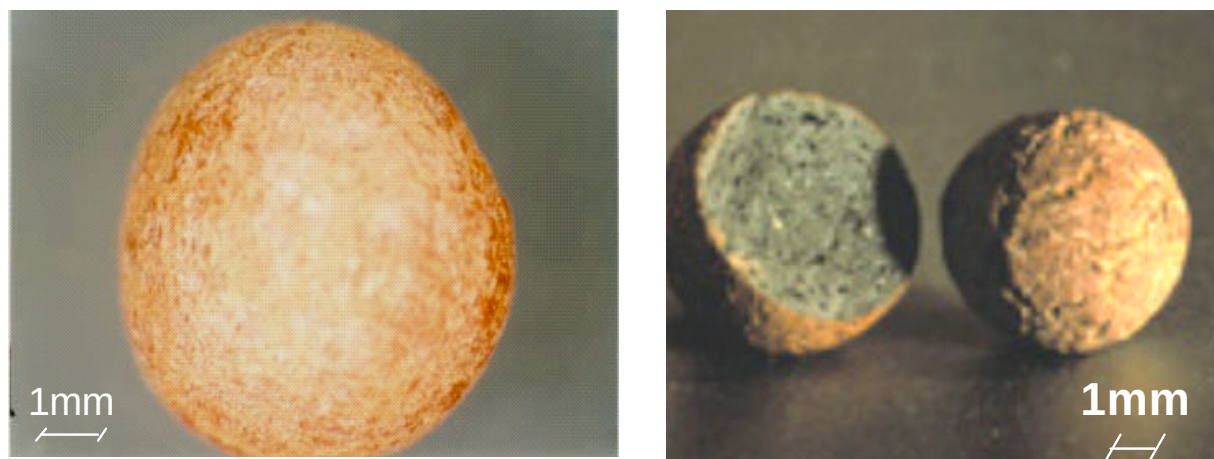


Figura 2.9. Esferas de la marca Liapor

La Tabla 2.3 presenta un resumen a manera de cuadro comparativo de las características dadas por los fabricantes de los tres medios de soporte. Para el caso del área superficial específica se optó por considerar los valores obtenidos en el laboratorio durante el presente trabajo de investigación.

Tabla 2.3. Medios de soporte utilizados en el presente estudio

Marca comercial	Compañía	Material	Forma	Tamaño (mm)	Densidad aparente (g/cm^3)	Densidad del material (g/cm^3)	Área superficial específica (m^2/m^3)
Kaldnes	Purac, Merseburg, Alemania	Polietileno	Especial	10x7	0.17	0.98	500 *544
Liapor	Leca-Liapor Baustoffe GMBH, Alemania	Cerámica	Esférica	4-8	0.8	1.40	480 *489
Linpor	Linde-KCA-Dresden GmbH, Alemania	Poliuretano	cúbica	15xlado	0.018	0.96	*270

*Valores obtenidos en el laboratorio durante el presente trabajo de investigación

3. MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo científico del presente trabajo se desarrolló en el Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México. El trabajo experimental se desarrolló en el Instituto de Control y Calidad del Agua de la Universidad Técnica de Munich (UTM). Para ello se acondicionaron tres reactores a escala de laboratorio que operaron bajo la modalidad de reactores de flujo discontinuo (Figura 3.1). Dichos reactores fueron alimentados con agua residual de origen municipal. Los laboratorios de dicho instituto cuentan con una línea de distribución de la Planta para el Tratamiento de Aguas Residuales de Garching, la ciudad donde está ubicado el Instituto. De igual manera, los laboratorios están equipados para determinaciones en vía húmeda y por instrumentos.

3.1 Unidades experimentales

Se utilizaron tres reactores de material polimérico acrílico, conocido como “Plexiglass”, con dimensiones de 110 cm de altura y un diámetro interno de 19 cm para un volumen total de 31 litros (Figura 3.2). La configuración de los reactores es la de un cilindro. Dos placas de acero inoxidable con perforaciones, una colocada en la parte inferior (fija) y otra en la parte superior (deslizable), retuvieron el lecho filtrante para mantenerlo fijo. Se utilizaron bombas peristálticas de velocidad variable conectadas a la línea de distribución del laboratorio para alimentar los reactores. Se instaló un sistema de dos difusores de cerámica colocados en el fondo del reactor y conectados al sistema de aireación de baja presión con el que cuenta el laboratorio.

Los reactores cuentan con una línea de recirculación de agua, la cual se lleva a cabo con una bomba radial de 0.6 hp (Alpha OR-A, Italia). El flujo de recirculación es de 200 L/hora y se realiza principalmente para mantener la temperatura del agua alrededor de 24 grados por medio de un termostato y para asegurar una mezcla homogénea de los contaminantes

dentro del sistema. El equipo se opera de manera semiautomática con relojes programables Müller de cuatro canales.



Figura 3.1 Reactores experimentales en el laboratorio del Instituto de Control y Calidad del Agua, Universidad Técnica de Munich, Alemania

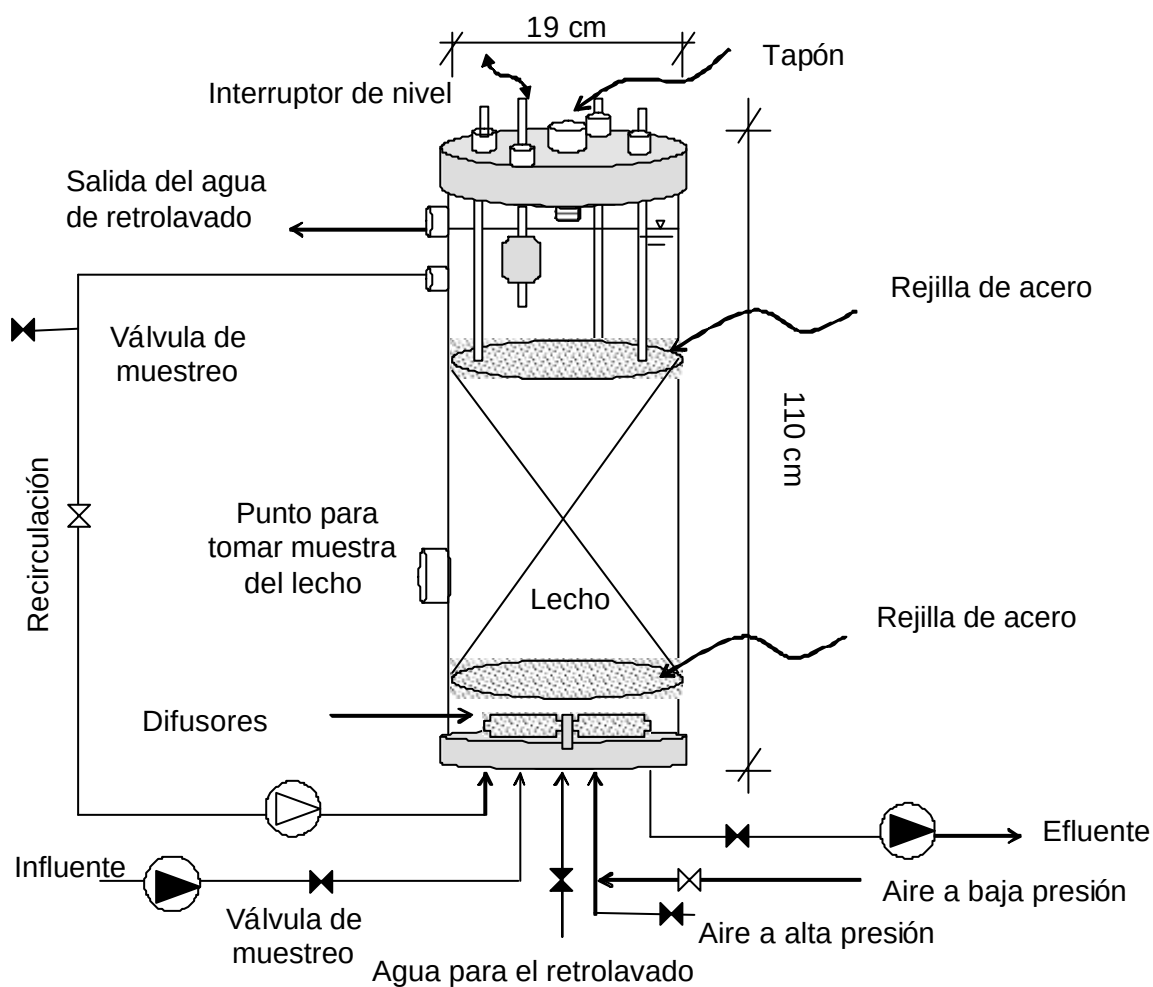


Figura 3.2. Diagrama esquemático de los reactores

El equipamiento de cada uno de los reactores es el siguiente:

1. Dos bombas peristálticas con ajuste de caudal. Una bomba es para alimentar y la otra para desaguar el reactor.
2. Una bomba radial de 0.6 hp para la recirculación del agua.
3. Un reloj programable Møller de 4 canales para programar la alimentación, desagüe y aireación del reactor.
4. Dos placas perforadas para contener el lecho fijo.
5. Dos difusores de cerámica de forma cilíndrica.
6. Alimentación de aire a baja presión para el proceso.
7. Alimentación de aire a alta presión para el retrolavado.
8. Alimentación de agua limpia para el retrolavado.
9. Un regulador de caudal de aire y un regulador de caudal de agua.
10. Un interruptor de nivel eléctrico.
11. Termostato para mantener la temperatura alrededor de 24°C. Se aprovecha la línea de recirculación con la que cuentan los reactores para conducir el agua residual a través de un mecanismo donde circula el agua proveniente del termostato. El termostato está programado para mantener su temperatura en 24°C. Por fenómenos de transferencia, la temperatura del agua de recirculación de los reactores iguala la temperatura del agua del termostato.
12. Materiales diversos como mangueras, accesorios, válvulas, tornillos, etc.

3.2 Planteamiento experimental

La estrategia experimental consistió en una fase de estudios preliminares y una segunda fase de experimentación final. Dentro de los estudios preliminares se llevó a cabo la selección de los materiales a usarse como medios de soporte y la caracterización de los mismos. Se operaron dos reactores bajo la modalidad de flujo continuo. Los ajustes en la operación de los reactores y de las técnicas analíticas se realizaron con base en las observaciones y análisis de los resultados parciales obtenidos de la fase preliminar. Durante los experimentos finales se operaron tres reactores bajo la modalidad de flujo discontinuo. Se varió la carga orgánica en un intervalo de 0.5 a 8.0 gDQO/m²·d para conocer la respuesta de los sistemas ante estas variaciones. Se analizaron las características de las biopelículas formadas sobre los medios de soporte para determinar sus espesores y condiciones de penetración de los substratos. Estos resultados se correlacionaron con la operación de los reactores para determinar si se cumplieron la hipótesis y los objetivos planteados.

Estudios preliminares

Los estudios preliminares se realizaron para hacer ajustes en la operación de los reactores y en el programa experimental. Dichos estudios consistieron en operar los reactores bajo la modalidad de flujo continuo. Durante este periodo se utilizaron los dos medios de soporte de la marca Liapor y Kaldnes. Los estudios preliminares permitieron detectar errores en la determinación de los lechos filtrantes y ajustar algunas técnicas analíticas para los análisis fisicoquímicos y en la caracterización de las biopelículas desarrolladas sobre los medios de soporte. Básicamente los ajustes consistieron en operar un reactor más con el medio de soporte de la marca Linpor y modificar la operación de los reactores a la modalidad de flujo discontinuo. En los resultados se discuten con mayor detalle los

ajustes que se realizaron en el programa experimental. La Figura 3.4 muestra de manera resumida el planteamiento que se siguió durante los estudios preliminares.

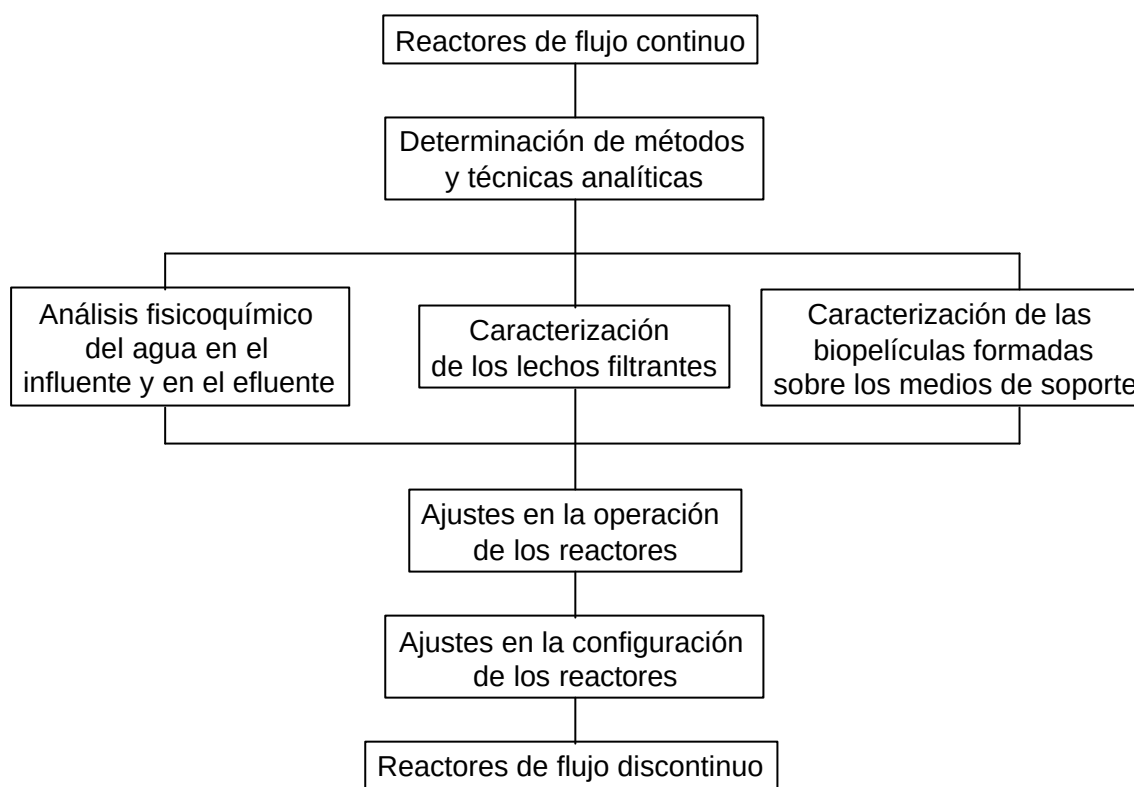


Figura 3.3. Programa experimental durante los estudios preliminares

Experimentos finales

En el programa experimental final que se plantea, quedan ya implícitos los cambios que se realizaron con base en los resultados arrojados por los estudios preliminares.

3.3 Caracterización de los medios de soporte

Un reactor contiene como medio de soporte partículas esféricas de cerámica (Liapor®, Leca-Liapor Baustoffe GmbH, Alemania); otro reactor contiene partículas de polietileno (Kaldnes®, Purac, Merseburg, Alemania) y, un tercer reactor, con partículas cúbicas de poliuretano (Linpor®, Linde-KCA-Dresden GmbH, Alemania). En el Subcapítulo 2.7 de antecedentes se presenta una tabla comparativa de estos materiales (página 28).

3.3.1 Área superficial específica

Para determinar el área superficial específica se tomaron consideraciones particulares de cada uno de los materiales bajo estudio. Ver Apéndice 1. Se optó por utilizar los valores obtenidos en laboratorio en lugar de los presentados por las respectivas compañías.

3.3.2 Densidad del material

Se tomaron los datos proporcionados por las respectivas fábricas.

3.3.3 Tamaño

En el caso de los anillos de Kaldnes y los cubos de Linpor el tamaño individual ya viene estipulado por la compañía. Por lo que respecta a las esferas de Liapor, como presenta un intervalo de tamaño entre 4 y 8 mm, se siguió el procedimiento: lavar 300 g de material y secar en la estufa a 110°C. Colocar la muestra en el juego de mallas DIN-ISO 33/0/1 (8mm) y DIN-4188 ISO 565 T.1 (5mm). Agitar con el aparato “rotap” por un lapso de 10 minutos. El tamaño efectivo se obtiene determinando el tamaño correspondiente al 10 por ciento, resultando:

$$\begin{aligned}\text{Tamaño efectivo (Te)} &= P_{10} \\ P_{10} &= \text{Percentil 10}\end{aligned}$$

3.3.4 Porosidad del lecho

El espacio vacío que se encuentra en sistemas de filtración o porosidad no puede ser calculado fácilmente por medio de métodos teóricos, sin embargo, existen métodos experimentales mediante los cuales se puede obtener la porosidad de una forma práctica (CEPIS, 1978; Weber, 1979). Partiendo de que la porosidad representa el porcentaje de espacio vacío de un sistema ocasionado por las formas irregulares de las partículas que evita una perfecta unión, se puede calcular este espacio vacío en términos de la medición de un volumen real que es el volumen que ocupa una cierta masa contenida en un recipiente graduado, por lo que este volumen real es la suma es la suma del espacio ocupado por las partículas y el espacio vacío que queda entre las mismas. El volumen calculado se obtiene del cociente de la masa total de las partículas entre la densidad de las mismas. Como se puede observar, el volumen calculado considera exclusivamente el espacio ocupado por las partículas. Con base en este razonamiento se llega a la siguiente relación:

$$\varepsilon = 1 - (V_{\text{calculado}} / V_{\text{real}}) \quad (3-1)$$

Donde,

ε = porosidad

$V_{\text{calculado}}$ = masa/densidad

V_{real} = medición directa de la masa contenida en un recipiente graduado

3.4 Operación de los reactores

Los reactores operaron bajo la modalidad de reactores con lecho fijo de flujo intermitente (SBBR, por su terminología en inglés, Sequencing Batch Biofilm Reactor). Se establecieron ciclos de operación de 8 horas, esto es, tres ciclos por día (Figura 3.4). Se optó por dejar un lapso de 120 minutos de mezclado sin aire para beneficiar la proliferación de metabolismos diversos en el consorcio microbiano desarrollado sobre los tres medios de soporte. Se ha visto que bajo condiciones anaerobias, la capacidad hidrolítica de las bacterias facultativas para romper moléculas orgánicas complejas, previo a un proceso aerobio, funciona como un factor de estabilización para las comunidades microbianas en las plantas para el tratamiento de aguas residuales (Cuevas-Rodríguez *et al.*, 1998).

Además, el grupo de microorganismos capaces de eliminar fósforo de las aguas residuales, conocidos como acumuladores de fosfato, siendo organismos aerobios estrictos obtienen su energía (ATP) a través de la vía metabólica del ciclo de los ácidos tricarboxílicos y cadena respiratoria, empleando oxígeno como aceptor de electrones. Sin embargo, cuando estos organismos son sometidos a condiciones anaerobias, activan una vía metabólica alterna de supervivencia que consiste en emplear cierta energía de reserva que poseen, para mantener las funciones básicas de su metabolismo pero, sobre todo, para capturar materia orgánica del medio la cual transforman y almacenan en forma de poli-β-hidroxibutirato (PHB) o de glucógeno (Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996).

Solamente cuando se restablecen las condiciones ambientales propicias, es decir, en presencia de oxígeno molecular, dicha materia orgánica es degradada y entonces produce la energía necesaria para reactivar el metabolismo celular, incluyendo la reproducción. Al mismo tiempo, estos microorganismos capturan el fósforo presente en el medio en una proporción mayor a la concentración excretada durante la fase anaerobia, ya que el fósforo es empleado tanto para la generación de ATP como para recargar las reservas energéticas en forma de poli-fosfatos (poli-P) (Muñoz-Colunga y González-Martínez, 1996). Para completar la remoción biológica de fósforo se debe retirar la biomasa que ha acumulado los PHB por medio de la purga de lodos si se habla de un sistema de lodos activados o, por medio del retrolavado si se habla de reactores con lecho (Arnz, 2001). Estudios previos con reactores de lecho fijo operando con ciclos de 8 horas indican que un periodo de 120 minutos de reacción anaerobia es el óptimo para el proceso antes descrito (Morgenroth y Wilderer, 1998; Arnz, 2001).

CICLOS DE 8 HORAS

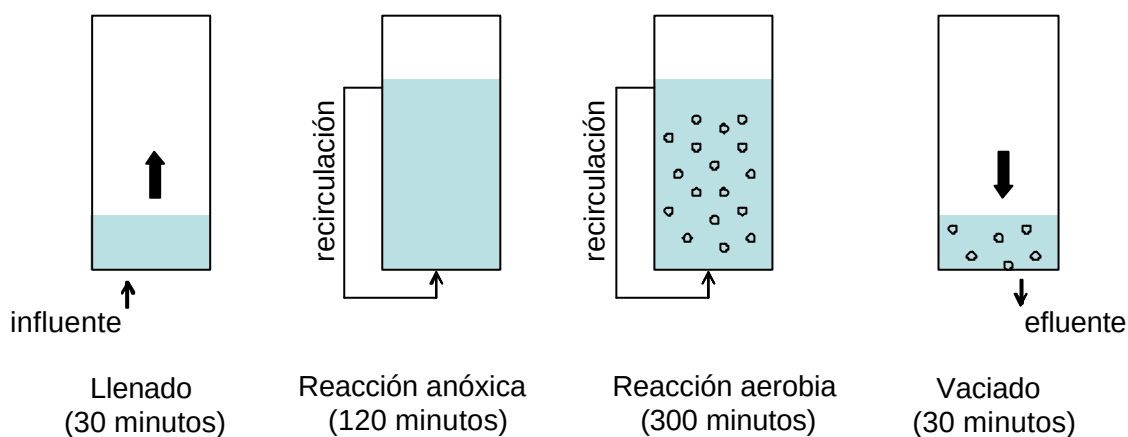


Figura 3.4. Secuencia de un ciclo de operación de 8 horas

Se trabajaron dos intervalos de carga orgánica, de 0.5 a 2.5 y de 3.0 a 8.0 g DQO/m²·d. En la Tabla 3.1 se presentan las condiciones bajo las cuales operaron los tres reactores. La carga orgánica se ajustó variando el volumen del lecho y, por consiguiente, el volumen de recambio. Lo que se deseaba era mantener en los tres reactores condiciones iguales en el valor del área total expuesta, situación que no se alcanzó durante el primer intervalo de carga orgánica manejado. Esto se debió, principalmente, a que los cálculos se realizaron con muestras de los medios de soporte totalmente limpios, esto es, sin la presencia de ningún material celular desarrollado sobre sus superficies. Para el cálculo del

área total expuesta están interrelacionados otros parámetros, como la porosidad, el volumen y la altura del lecho. El volumen y la altura del lecho están en función de la porosidad del lecho que presenta cada uno de los materiales, es por ello, que los valores de la altura y el volumen del lecho varían de un material con respecto a los otros. Para mayor detalle ver el Apéndice 1.

Posteriormente, se realizaron los cálculos con los reactores ya estabilizados, con la presencia de las biopelículas desarrolladas sobre los medios de soporte y se obtuvieron valores de porosidad diferentes a los que se obtuvieron con los materiales totalmente limpios, repercutiendo en los valores de la altura y volumen del lecho y, por consiguiente, en el cálculo del área total expuesta. Para el segundo intervalo de carga orgánica se realizaron los ajustes necesarios para mantener un valor de 2.7 m² de área total expuesta en los tres reactores.

Tabla 3.1. Condiciones de operación

Carga orgánica y operación	0.5-2.5 gDQO/m ² ·d			3.0-8.0 gDQO/m ² ·d		
	Esferas	Anillos	Cubos	Esferas	Anillos	Cubos
	Liapor	Kaldnes	Linpor	Liapor	Kaldnes	Linpor
Volumen/ recambio, m ³ /d	0.066	0.063	0.072	0.069	0.069	0.063
Altura del lecho, m	0.33	0.33	0.52	0.16	0.17	0.32
Volumen del lecho, m ³	0.0152	0.0166	0.0148	0.005	0.0055	0.010
Porosidad del lecho	0.38	0.44	0.58	0.38	0.44	0.58
Área total expuesta, m ²	8.3	8.1	3.9	2.7	2.7	2.7

Retrolavado

Con base en los estudios previos realizados en el Instituto de Control y Calidad del Agua, se optó por realizar el retrolavado cada 24 horas (Gieseke *et al.*, 1999; Arnz, 2001). Dicha operación se realizó de manera manual adaptando el procedimiento propuesto por Khlebnikov y Péringer (1996):

1. Se suspende la alimentación de agua residual y de aireación para el proceso.
2. Durante 2 minutos se conecta la línea de alta presión (6 bares) para introducir aire por el fondo del reactor y separar el exceso de biopelícula de las partículas del lecho.
3. Sin suspender el suministro de aire a presión se abre la válvula que conduce agua potable a presión por el fondo del reactor para arrastrar el material desprendido durante la fricción que se llevó a cabo en el paso 2.
4. Se desactiva el suministro de aire a presión y se reactiva el suministro de aire a baja presión para el proceso para terminar de arrastrar el material en suspensión.
5. Se suspende la entrada de agua potable. Se desaloja el agua.
6. Se reanuda el proceso.

3.5 Programa experimental

La figura 3.5 presenta a manera de diagrama de flujo los análisis que se llevaron a cabo en el presente trabajo.

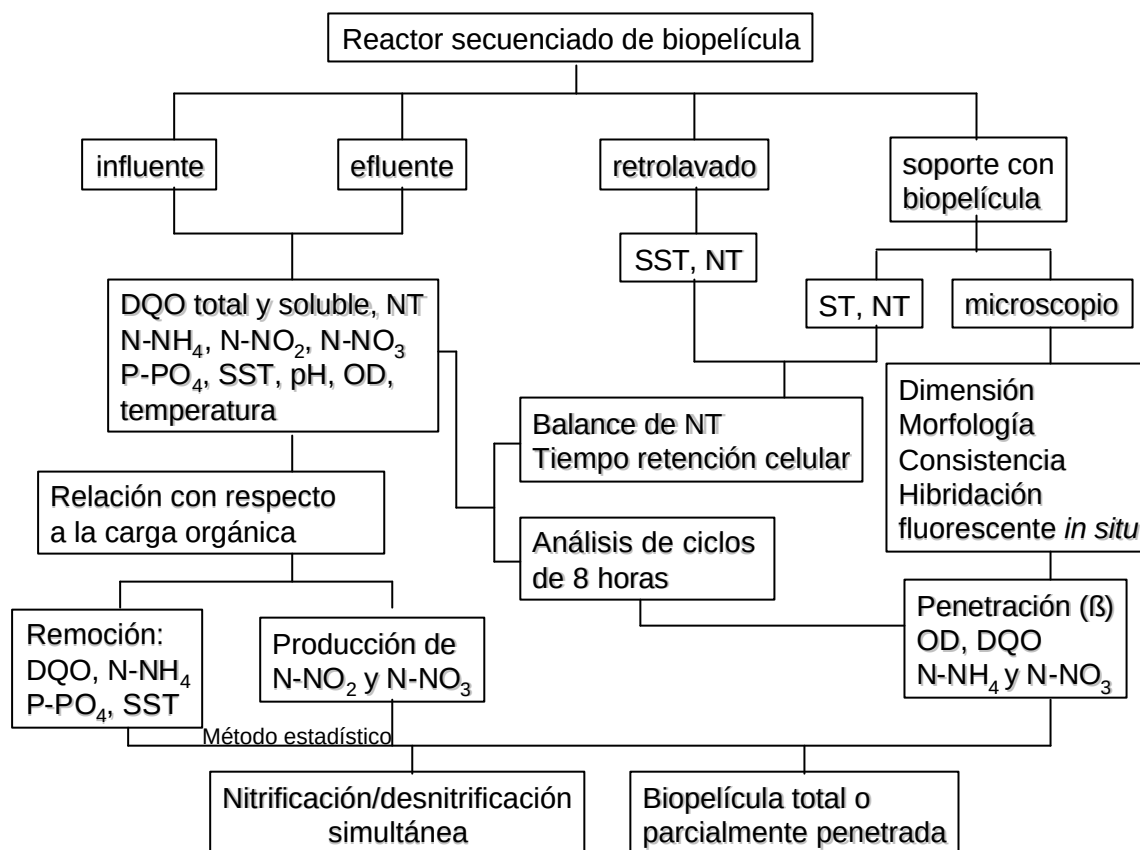


Figura 3.5. Programa experimental:

DQO = demanda química de oxígeno; SST = sólidos suspendidos totales;
ST = sólidos totales; NT = nitrógeno total; N-NH₄ = nitrógeno amoniacal;
N-NO₂ = Nitrógeno de nitritos; N-NO₃ = nitrógeno de nitratos;
P-PO₄ = orto-fosfatos; OD = oxígeno disuelto;
β = parámetro adimensional de penetración del sustrato en la biopelícula

3.5.1 Programa de muestreo

Los reactores operan paralelamente, de tal forma que se tuvieran condiciones similares en la calidad del agua residual influente. En la línea de recirculación se cuenta con válvulas para tomar muestras del efluente y en la línea de alimentación con válvulas para tomar muestras del influente (Figura 3.1).

Las muestras de agua se toman bajo dos condiciones diferentes:

1) Por medio de las bombas peristálticas acopladas a las bombas de llenado y vaciado es posible tomar muestras compuestas diarias para evaluar el desempeño de los sistemas

por día de operación. Se pueden conocer los valores de los diferentes contaminantes a la entrada y salida de los reactores para determinar el desempeño de los sistemas.

2) Una vez por mes se selecciona un ciclo diurno como representativo de un día de operación y se toman muestras puntuales del efluente cada 60 minutos para cubrir el ciclo de 8 horas con 10 muestras y poder describir los perfiles de contaminantes durante ese ciclo. De esta manera es posible determinar los cambios en cada una de las fases del ciclo para cada tipo de soporte de la biopelícula y bajo diferentes condiciones de operación.

3.5.2 Determinaciones analíticas

Las determinaciones analíticas que se realizan a las muestras de agua residual se basan en los Métodos Estándar Americanos (APHA, AWWA, WPCT, 1995) y en las Normas Alemanas (Deutsche Einheitsverfahren, 1983).

La demanda química de oxígeno (DQO) total y soluble, el nitrógeno amoniacal (N-NH_4), el nitrógeno de nitratos (N-NO_3) y el de nitritos (N-NO_2), y los ortofosfatos (P-PO_4) se determinaron con métodos fotométricos (Dr. Lange tipo LCK, fotómetro digital ISIS 6000). Los sólidos suspendidos totales (SST) se determinaron para conocer la cantidad de sólidos que se encuentran en suspensión en el agua influente y efluente. Se utilizaron para seguir el comportamiento dentro de los reactores del oxígeno disuelto y la temperatura un electrodo Oxy196 y un electrodo 526 medir el pH, ambos de la marca WTW.

3.5.3 Balance de nitrógeno total (NT)

En el balance del nitrógeno total se consideran el nitrógeno en sus formas orgánica e inorgánica (nitrógeno amoniacal, nitritos y nitratos). Para realizar el balance de nitrógeno total se utilizaron las muestras compuestas colectadas de influente y efluente, además del agua de retrolavado, durante un ciclo de operación. La determinación se realiza con base en los procedimientos alemanes (ISO 11905-1 H36, 1999). En la Figura 3.6 se esquematiza el planteamiento del balance.

El balance de nitrógeno total en el sistema se puede expresar con base en la ecuación propuesta por Zwerger *et al.* (1999) y Nikolavcic *et al.* (1999).

$$(Q \times NT)_{\text{influyente}} - (Q \times NT)_{\text{efluente}} = (Q \times NT)_{\text{retrolavado}} + N_2 \quad (3-2)$$

donde,

NT = nitrógeno total, g/m^3

Q = caudal, $\text{m}^3/\text{día}$

N_2 = Nitrógeno molecular que se libera al ambiente. Se considera que es el nitrógeno molecular que se produce de la transformación de los nitratos por procesos de desnitrificación: $N_{\text{desnitrificación}}$ gNT/día.

Entonces,

$$NT_{\text{desnitrificación}} = (Q \times NT)_{\text{influyente}} - [(Q \times NT)_{\text{efluente}} + (Q \times NT)_{\text{retrolavado}}] \quad (3-3)$$

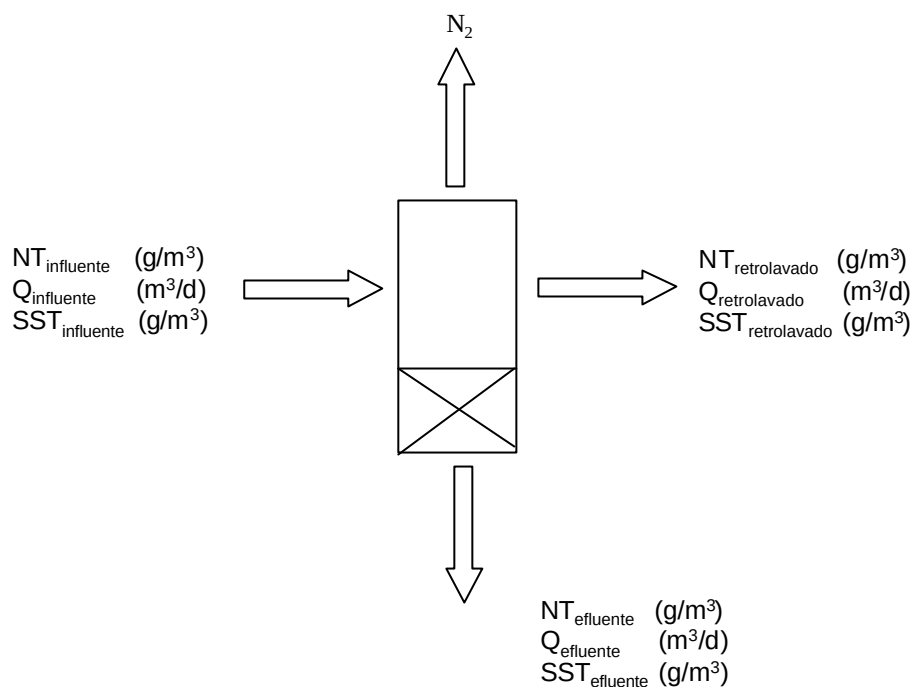


Figura 3.6. Esquema para el balance de nitrógeno en el sistema

Para determinar el NT dentro de los medios de soporte se colectaron tres piezas por cada tipo de medio utilizado. La colecta se realizó al inicio de un ciclo de operación (inmediatamente después del retrolavado) y al final del mismo (antes del retrolavado). Se consideró que los medios de soporte no aportan material nitrogenado. Con esta determinación se pretende corroborar la estimación de biomasa por medio de la determinación de ST y el balance de nitrógeno total y SST en el sistema.

3.5.4 Análisis de las biopelículas

Para el análisis de las biopelículas desarrolladas sobre los tres diferentes medios de soporte se tomaron periódicamente muestras de dicho material. Para la toma de muestras las unidades experimentales tienen la facilidad de reclinarse en forma horizontal. Una vez que los reactores son desaguados, y previo al retrolavado, se afloja la rejilla metálica superior para liberar el lecho. Los reactores cambian su posición vertical a una horizontal para facilitar la toma de muestra. Sistemáticamente se colectó la muestra de partículas a de la parte central del lecho (Figura 3.7).

3.5.4.1 Determinación de biomasa

La cantidad total de biomasa se puede determinar en términos de masa seca. La principal desventaja del empleo de estos parámetros para caracterizar la biopelícula es que dicha estimación incluye no sólo los microorganismos activos, sino también la biomasa inerte, exopolímeros y materia orgánica adsorbida sobre la superficie de la misma biopelícula. Sin embargo, por cuestiones prácticas y para tener una idea de la cantidad de “biomasa” desarrollada sobre los medios de soporte, se realizó la estimación de la biopelícula con este método. Se calcula un error aproximado del 6% (Lazarova y Manem, 1995).

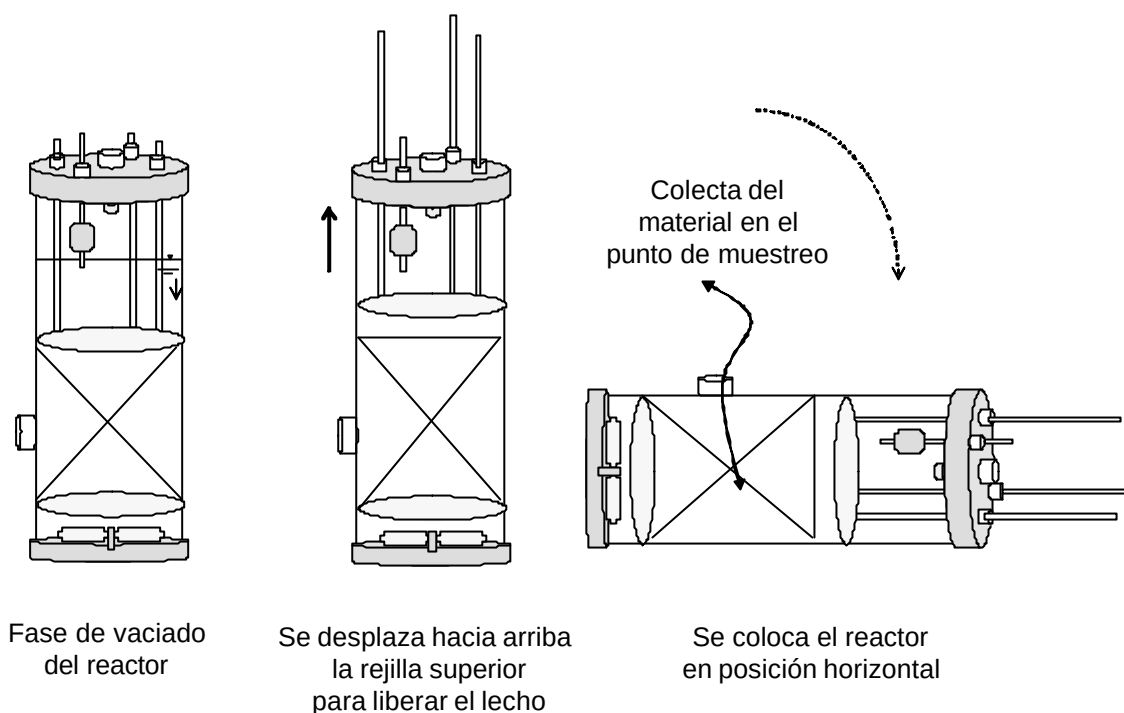


Figura 3.7. Esquematización de la colecta de material de soporte con biomasa

Algunos autores consideran preferentemente la porción de sólidos suspendidos volátiles (SSV) en la determinación de la biomasa (Iwai y Kitao, 1994). Sin embargo, estudios realizados por Kayser (1971) han demostrado que no existe una relación lineal entre la parte activa del contenido de biomasa seca y la carga orgánica (Abwassertechnik, 1985). Con esto se tiene que no existe alguna diferencia significativa entre utilizar la porción de sólidos volátiles o la porción de sólidos totales (ST). Esto ha generado una corriente alemana que se aplica en Europa en la que en el diseño de sistemas con biomasa en suspensión se realiza bajo el criterio de la carga orgánica considerando la porción de sólidos totales (Abwassertechnik, 1985).

Bajo este mismo criterio, la determinación de biomasa medida como masa seca se realiza considerando la porción de sólidos suspendidos totales (Broch-Due *et al.*, 1994; Bonomo *et al.*, 2000a,b; Comett-Ambriz *et al.*, 2003; Passinetti y Emondi, 2003). Los análisis realizados en el presente estudio se basan en la corriente alemana.

Cada uno de los tres materiales de soporte utilizados durante el presente estudio muestra ciertas particularidades por lo que la forma de determinar el contenido de masa seca varía en cada caso. La concentración de biomasa se reporta en unidades masa seca por unidades de (g/m^2 o bien mg/pieza). A continuación se resume el procedimiento realizado para cada tipo de material:

a) Esferas Liapor. Se colecta n 30 mL de material de soporte con biomasa. En un frasco con tapa se deposita el material con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0.01 por ciento. Se somete el material a una agitación manual para desprender la biomasa adherida a las partículas esféricas de arcilla. Se filtra el material y se determina n los ST de acuerdo con los métodos estandarizados.

b) Anillos Kaldnes. Se colectan tres medios de soporte con biomasa. Con ayuda de la solución NaOH 0.01% se desprende la biomasa adherida al material de soporte raspando las paredes con aguja de disección. El material se filtra para la determinación de los ST.

c) Cubos Linpor. Se colectan tres medios de soporte. El material prácticamente se “exprime” con ayuda de solución NaOH al 0.01%. El material se filtra para la determinación de ST.

3.5.4.2 Tiempo de retención celular promedio (θ_c)

Los valores de SST que se obtengan de las muestras de agua del influente, efluente y agua de retrolavado de los tres reactores se utilizan para obtener el gasto másico (Q_M) y con ello poder calcular el tiempo de retención celular promedio (θ_c). Se supone que los SST del influente no son afectados por la actividad biológica de los microorganismos y que salen del sistema en el efluente o durante el retrolavado. El cálculo del θ_c es por medio de la ecuación:

$$q_c = \frac{\text{masa seca total en el sistema}}{\text{gasto másico}}, \quad \left[\frac{g}{g/d} \right] \quad (3-4)$$

La masa seca total en el sistema resulta de la relación del promedio obtenido en la cuantificación de masa seca de las muestras de soportes con biomasa y el área total expuesta en cada reactor (ecuación 3-5).

$$\text{masa seca total en el sistema} = (\overline{\text{masa seca}})(\text{área total}) \left[\left(\frac{g}{m^2} \right) (m^2) \right] \quad (3-5)$$

El gasto másico (Q_M) representa la masa seca que entra y sale del sistema y se obtiene con la siguiente ecuación:

$$Q_M = [(Q)(SST)]_{\text{efluente}} + [(Q)(SST)]_{\text{retrolavado}} - [(Q)(SST)]_{\text{influyente}} \cdot \left[\left(\frac{m^3}{d} \right) \left(\frac{g}{m^3} \right) \right] \quad (3-6)$$

3.5.4.3 Hibridación fluorescente *in situ*

Los laboratorios Vermicon AG han desarrollado sondas de genes programadas (Nitri-VIT) para detectar exclusivamente organismos nitrificantes (Vermicon AG, 2001). La detección está basada sobre el arreglo genético de las bacterias nitrificantes, las que han adquirido características distintivas en los procesos evolutivos. Las sondas de genes están programadas especialmente para estas características y se tienen disponibles en forma líquida en el estuche de preparación. Las sondas de genes programados provocan que las bacterias nitrificantes adquieran un color fluorescente y sea más rápido y fácil detectarlas.

Nitri-VIT es un estuche comercial, en el que las soluciones utilizadas (A,B,C,D) ya están preparadas para su uso directo durante las determinaciones. No se sabe con precisión su composición. Los pasos para utilizar Nitri-VIT se pueden resumir como sigue (de acuerdo con el instructivo del fabricante):

1. Colocar una gota de la muestra a analizar sobre el portaobjetos
2. Secar la muestra sobre portaobjetos a 46°C durante 10-30 minutos
3. Fijar la muestra al agregar una gota de la solución A y dejar incubar a 46°C durante 10-30 minutos (la muestra A contiene etanol)
4. Agregar una gota de la solución B y dejar incubar a temperatura ambiente durante 3 minutos (la solución B también contiene etanol y se utiliza para fijar la muestra en esta segunda fase)
5. Agregar una gota de la sonda de genes en la muestra fijada
6. Agregar 25 gotas de la solución C y poner a incubar durante 90 minutos a 46°C (la solución C contiene formamida para evitar la degradación del ARN)
7. Lavar la muestra en 25 mL de solución D preparada (la solución D contiene formamida). La solución D se prepara agregando 2.5 mL del reactivo y 22.5 mL de agua destilada
8. Lavar la muestra en agua destilada
9. Dejar secar a 46 °C durante 15 minutos en la oscuridad
10. Agregar una gota de aceite "Finisher" para su observación al microscopio
11. Las muestras se pueden conservar en congelación a 20 grados centígrados bajo cero, durante un año como límite máximo de confiabilidad

Las bacterias que oxidan el nitrógeno amoniacal a nitritos adquieren un color rojo fluorescente. Las bacterias que oxidan el nitrógeno de nitritos a nitrógeno de nitratos adquieren un color verde fluorescente. La presencia de bacterias está marcada por un valor numérico que representa la densidad y abundancia relativa del respectivo grupo de bacterias nitrificantes con respecto a la población presente en la preparación de la muestra sobre el portaobjetos. Se deben observar bajo el microscopio al menos veinte diferentes campos visuales sobre una misma preparación. El cálculo para determinar dentro de qué grupo se encuentra la muestra analizada se basa en el número de células encontradas en una preparación de muestra de acuerdo con la expresión:

$$AR = \left[\sum_i i \rightarrow n \left(\sum_j^m Gi \right) \right] p^{-1} \quad (3-5)$$

i = Grupo 1.....Grupo n

j = 1 célula..... m células

p = número de observaciones

Esta expresión permite calcular la abundancia relativa (AR) de grupos funcionales (bacterias amonio-oxidantes y nitrito-oxidantes) con base en el índice cualitativo de densidad y abundancia relativa con valores de 1 a 5 (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Índices cualitativos de densidad y abundancia de células bacterianas (Vermicon AG, 2000).

Índice	Densidad y abundancia
Grupo 1	<i>Rara</i> . El número de células es de una a dos unidades.
Grupo 2	<i>Baja</i> . Presencia de células arriba de cinco unidades.
Grupo 3	<i>Media</i> . Grupos espaciados de células.
Grupo 4	<i>Alta</i> . Grupos de células más densos.
Grupo 5	<i>Dominante</i> . Conglomerados de células en toda el área visual.

3.5.4.4 Observaciones al microscopio

Microscopio estereoscópico. Se utilizó un microscopio estereoscópico marca Zeiss con “zoom” WILD M8, con tubo “trilocular” bajo inclinado y chasis para película de pequeño formato. Se tomaron periódicamente muestras simultáneas de soporte con biomasa para observar la apariencia física de la biopelícula desarrollada sobre cada tipo de material utilizado. Las observaciones de las muestras de material se hicieron antes y después del retrolavado empleando diferentes oculares (25x, 16x, 10x, 6.5x). Para conservar las muestras durante las observaciones al microscopio estereoscópico se colocaron en una solución amortiguadora de fosfatos.

Microscopio confocal láser de barrido. Se utilizó un microscopio 410 Zeiss, Alemania, equipado con objetivos 100x/1.3, 40x/1.3 y 10x/0.3 y con dos láseres internos de Helio-Neón de 543nm/514nm y dos rayos láser externos de 488nm/514nm. En el Apéndice 2 se puede ver la descripción de la toma y preparación de las muestras. Las observaciones hechas al microscopio estereoscópico y microscopio confocal láser de barrido se documentan con fotografías.

3.6 Modelo unidimensional de transporte de masa en la biopelícula

Tomando como referencia el apartado 2.5 del capítulo de antecedentes, se determinó el parámetro de penetración adimensional para establecer si se tiene una biopelícula parcial o totalmente penetrada (Harremöes, 1978):

$$b = \sqrt{\frac{2 \cdot D \cdot C_{S,0}}{k_0 \cdot L_F^2}} \quad (3-6)$$

donde,

β	parámetro de penetración	adimensional
$C_{S,0}$	concentración de sustrato	g/m^3
D	coeficiente de difusión del sustrato	m^2/d
k_0	tasa de reacción de orden cero	$\text{g/m}^3 \cdot \text{d}$
L_F	Espesor de la biopelícula	m

Con base en el modelo unidimensional de transporte (ecuación 3.6), una de las restricciones que se tiene en el empleo de este modelo lo constituye la consideración de que se cuenta con la difusión de un solo sustrato para una reacción de orden cero. En el caso de los reactores experimentales bajo estudio, se hace la suposición de que el punto en que probablemente se tengan estas condiciones es al inicio de la fase aerobia, que es cuando se tiene una mayor concentración de sustrato. Según Wilderer (1976) para reducir un posible error se debe de considerar la fase de degradación de los sustratos fácilmente biodegradables, esto es, se debe tomar la pendiente de la curva en su inicio para obtener los datos de la primera reacción posible. Conforme avanza el tiempo se obtienen una secuencia de series de curvas que reflejan los procesos de degradación en serie de diferentes sustratos, dependiendo de su grado de complejidad.

En la Figura 3.8 se muestra un ejemplo de cómo se obtuvo un valor de k_0 . En el ejemplo presentado, corresponden los datos a la concentración de amonio en el seno del líquido en el reactor con lecho Kaldnes del día 10 de abril de 2001. La línea intermitente indica justo cuando inicia la aireación del sistema al minuto 120. Este procedimiento se siguió para la determinación de los valores de k_0 y de los otros parámetros bajo estudio: la DQO total, nitratos y oxígeno disuelto para cada uno de los reactores experimentales y para cada uno de los análisis de ciclos de ocho horas que se llevaron a cabo a lo largo de los estudios experimentales.

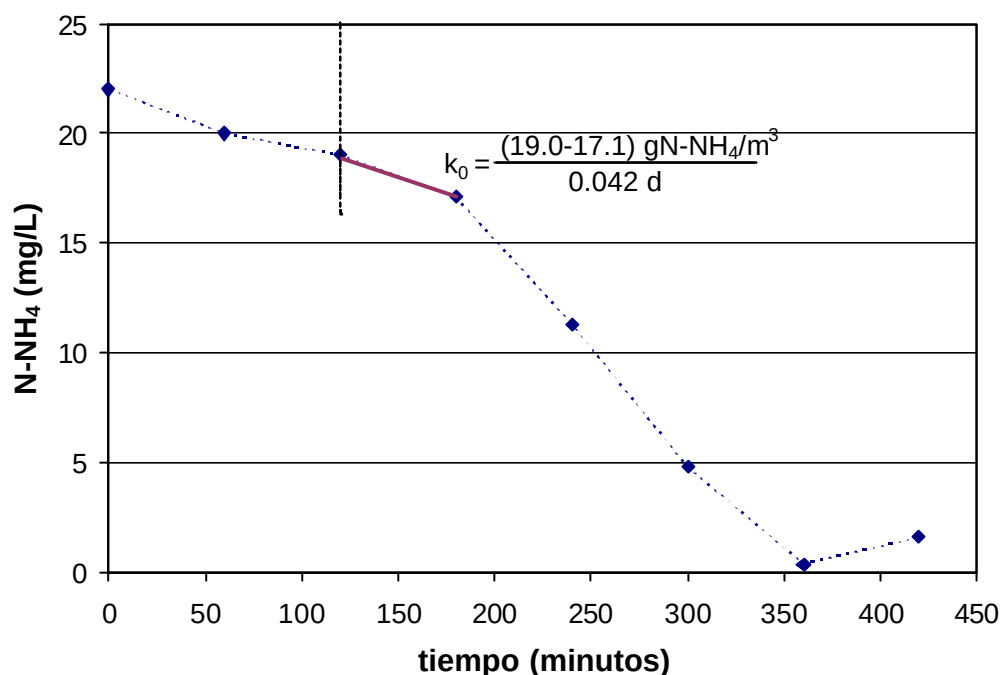


Figura 3.8. Determinación del valor de k_0 para el amonio en el seno del líquido del reactor con lecho Kaldnes. Fecha: 10.04.2001

Para el coeficiente de difusión (D) se presenta una lista de los coeficientes de difusión molecular en biopelículas de los substratos de interés para este trabajo (Tabla 3.3). La tasa de reacción se determinó con datos experimentales de los análisis que se hicieron por ciclo representativo para cada reactor. El espesor de la biopelícula se determinó con ayuda del microscopio estereoscópico y del microscopio confocal láser de barrido.

Tabla 3.3. Coeficientes de difusión molecular dentro de una biopelícula

compuesto	D , cm^2/seg	Fuente
Oxígeno	$1.7\text{-}2.1\text{E}^{-4}$	Harremöes y Henze, 1997
	1.9E^{-4}	Williamson y McCarty, 1976
NH_4^+	1.2E^{-4}	Williamson y McCarty, 1976
NO_3^-	1.3E^{-4}	Williamson y McCarty, 1976
DQO	$0.3\text{-}0.6\text{E}^{-4}$	Harremöes y Henze, 1997

Número de Reynolds (Re) en lechos empacados

Retomando el capítulo 2.5 y considerando la cuarta suposición en el transporte de masa a través de la biopelícula en el modelo unidimensional, se tiene que el efecto de la difusión de substratos a través de la capa líquida en la superficie de la biopelícula puede ser despreciado. Para definir si existe o no efecto del líquido en la difusión a través de la biopelícula se aplica el número de Reynolds (Re) para flujos a través de un lecho empacado (Iwai y Kitao, 1994):

$$Re = \frac{dUd}{me} \quad (3-7)$$

Donde,

d	diámetro (diámetro equivalente) del medio de soporte	cm
U	velocidad superficial del agua	cm/s
d	densidad del agua	g/cm ³
m	viscosidad del agua	g/cm·s
e	porosidad del lecho	adimensional

En un reactor aireado con lecho empacado, que implica la transferencia de masa entre partículas y líquido, el número de Reynolds se define frecuentemente de acuerdo con la teoría de turbulencia de Kolmogoroff (Nicolella *et al.*, 2000), mediante la ecuación 3-8:

$$Re = \frac{dVd}{me}(E) \quad (3-8)$$

Donde E corresponde a la tasa de disipación de energía.

Para lograr una mayor aproximación en el análisis de la transferencia de masa, se supone que un reactor con biopelícula presenta una tasa de disipación de energía esencialmente uniforme a través del volumen total del reactor (Nicolella *et al.*, 2000). Por lo tanto, estos autores proponen en cálculo de la tasa de disipación de energía de la siguiente manera (ecuación 3-9):

$$E = U_G g \quad (3-9)$$

Donde

U_G = velocidad del gas, cm/s

g = aceleración de la gravedad, $9.81 \text{ m/s}^2 = 981 \text{ cm/s}^2$

Se tiene una velocidad de aire inyectado en el reactor 0.019857 cm/s para el primer intervalo de carga orgánica ($0.5\text{-}2.5 \text{ gDQO/m}^2 \cdot \text{d}$) y de 0.02975 cm/s para el segundo intervalo de carga orgánica ($3.0\text{-}8.0 \text{ gDQO/m}^2 \cdot \text{d}$)

Si $Re > 2000$, se considera un flujo turbulento, por lo tanto, $C_S = C_{\text{Sinterfase}}$

Si $Re < 2000$, se considera un flujo laminar, por lo tanto, $C_S > C_{\text{Sinterfase}}$

3.7 Análisis estadístico

Los datos se analizaron mediante la metodología de análisis de varianza STATA o Statistics Data Analysis (STATA, 2001) versión 7. De manera independiente, se analizaron las siguientes variables de respuesta: la cantidad de biomasa y el porcentaje de remoción de DQO total, de DQO soluble, de N-NH₄, de N-NO₃ y de SST. El porcentaje de remoción es una variable continua y se calcula como:

$$\% \text{ remoción} = \frac{\text{valor inicial del elemento} - \text{valor final del elemento}}{\text{valor inicial del elemento}} \times 100$$

Las variables explicativas son el tipo de reactor y la carga orgánica. El tipo de reactor es una variable cualitativa con tres categorías: esferas Liapor, anillos Kaldnes y cubos Linpor. La carga orgánica es una variable continua calculada como:

$$\text{carga orgánica} = \frac{(Q \times \text{DQO}_{\text{influyente}})}{A} \quad (3-8)$$

donde,

Q es el caudal de agua, m³

DQO es la cantidad de materia orgánica medida como la demanda química de oxígeno, g/m³

A es el área superficial total expuesta al desarrollo de microorganismos, m²

Antes de ajustar un modelo se verifica, mediante la prueba de Levene (Winer, 1971), si las variables de respuesta satisfacen el supuesto de homogeneidad de varianzas para cada reactor. También se grafica cada variable de respuesta contra la carga orgánica y se calcula el coeficiente de correlación entre estas variables. Los datos se analizan mediante un modelo de análisis de covarianza si satisfacen el supuesto de homogeneidad de varianzas y existe una relación lineal entre las variables de respuesta y la carga orgánica. Si la variable de respuesta satisface el supuesto de homogeneidad de varianzas pero no está correlacionada con la carga orgánica se usa un modelo de análisis de varianza con un criterio de clasificación ignorando el efecto de la carga orgánica. En este caso, si se rechaza la hipótesis de que la media de la variable de respuesta es igual en todos los reactores se usa el método de comparaciones múltiples de Scheffé (Winer, 1971) para determinar los reactores en los que se obtuvo una respuesta distinta. Finalmente, la prueba de Kruskal-Wallis (Winer, 1971) se usa si la variable de respuesta no cumple el supuesto de homogeneidad de varianzas y no está correlacionada con la carga orgánica. Es decir, cuando los datos no satisfagan los supuestos de un modelo de análisis de varianza se aplica una prueba no paramétrica porque si se transforman los datos se complica la interpretación de los resultados.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El agua residual cruda con la que se alimentaron los reactores durante la experimentación provenía de la Planta para el Tratamiento de Aguas Residuales de Garching, Munich, Alemania. Dicha agua, de origen doméstico, proveniente de la ciudad de Garching y de la zona de Institutos de la Universidad Técnica de Munich, se bombea después del sistema de rejillas y desbaste de la planta a un cárcamo de bombeo ubicado afuera del laboratorio del Instituto de Control y Calidad del Agua de la Universidad Técnica de Munich, lugar donde se realizó el presente estudio. La composición del agua residual está, por consiguiente, influenciada por las épocas del año, las actividades desarrolladas en la ciudad y por los períodos vacacionales en la universidad. En la Tabla 4.1 se presentan los valores promedio de las características del agua residual utilizada durante toda la experimentación y en la Figura 4.1 los registros de los parámetros correspondientes a los días de experimentación.

Tabla 4.1. Características del agua residual cruda durante la experimentación

Parámetro, mg/L	Promedio	Mínimo	Máximo
DQO _{total}	234	66	730
DQO _{soluble}	78	40	154
SST	60	12	218
N-NH ₄	34	16	54
N-NO ₃	<1.0	<1.0	<1.0
P-PO ₄	3.8	1.7	4.9
Temperatura, °C	16	15	18
Valor de pH	8.1	7.9	8.3

La DQO total en el agua influente se puede considerar baja para aguas residuales de origen doméstico, pues se reporta un promedio de 500 mg/L para este tipo de aguas (Metcalf y Eddy, 1991). En la Figura 4.1 se puede apreciar la variación que presentaron los valores de DQO total y soluble en el agua residual cruda a lo largo del tiempo. La diferencia entre la DQO total y la disuelta es relativamente alta con una relación $DQO_{total}/DQO_{soluble}$ cercana a un valor de 3. Esta relación podría explicarse por la presencia de altas concentraciones de SST. Sin embargo, los SST presentan un valor bajo. La posible causa de tener esta relación se debe a la presencia de partículas suspendidas coloidales. En procesos con biopelícula la única forma de poder eliminar las partículas coloidales es que éstas se adhieran a la superficie de la biopelícula y entonces toman el mismo curso que los substratos de bajo peso molecular, en donde son hidrolizados por los microorganismos para su aprovechamiento (Iwai y Kitao, 1994).

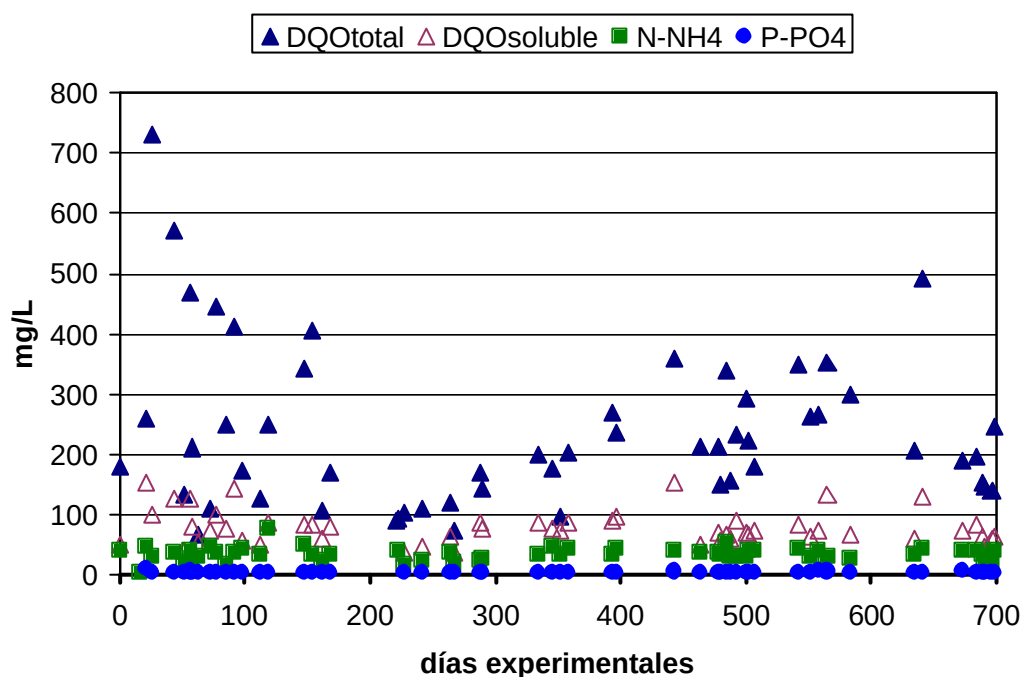


Figura 4.1. Comportamiento del agua residual cruda durante todo el estudio experimental

La concentración de nitrógeno amoniacal en el agua residual cruda presentó variaciones a lo largo del estudio (Tabla 4.1). La entrada de nitrógeno amoniacal con un valor promedio de 34mg $N-NH_4/L$ es relativamente alta para aguas típicas residuales domésticas. Se reporta en promedio un valor de 25mg $N-NH_4/L$ para aguas típicas residuales de origen doméstico (Metcalf y Eddy, 1991). La zona de Garching presenta una fuerte actividad agrícola, por lo que la producción y el uso de fertilizantes, influye en el contenido de nitrógeno amoniacal en la composición del agua residual. Además, se cuenta con una fuerte industria en el procesamiento de carne, de cerveza y de productos lácteos. Aunado a esto, la densidad estudiantil es de considerarse en la aportación de nitrógeno amoniacal vía la urea contenida en la orina. Según algunos autores la concentración alta de nitrógeno amoniacal tiene efectos inhibitorios sobre el desarrollo de las bacterias nitrificantes (Barnes y Bliss, 1983; Wett y Rauch, 2003).

Con respecto a la presencia de nitratos y nitritos (N-NO_2 y N-NO_3) el agua residual de la Planta de Tratamiento de Garching presentó características típicas de un agua residual de origen doméstico. Los valores estuvieron por debajo de $1.0\text{mg N-NO}_x/\text{L}$ por lo que se consideró despreciable. En cuanto a la concentración de fosfatos, ésta no representa ningún problema pues se reporta un valor promedio para fósforo orgánico de $3\text{mg P-PO}_4/\text{L}$ para aguas típicas residuales. Los valores de pH y temperatura no presentaron grandes fluctuaciones.

4.1 Estudios preliminares. Operación en continuo

Los estudios preliminares correspondieron a la operación del reactor con lecho de esferas Liapor y del reactor con lecho de anillos Kaldnes bajo la modalidad de reactores de flujo continuo (Tabla 4.2). La meta de los estudios preliminares era obtener la formación de una biopelícula delgada sobre la superficie del material de esferas Liapor y una biopelícula profunda sobre el material de anillos Kaldnes. Los reactores se pusieron a funcionar el 30 de mayo de 2000.

Tabla 4.2. Operación durante los estudios preliminares (día experimental 1-268)

Características y operación	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes
Volumen del lecho (m^3)	0.023	0.023
Altura del lecho (m)	0.66	0.66
Área total expuesta (m^2)	12	11
Volumen del reactor vacío (m^3)	0.031	0.031
Volumen del reactor con lecho (m^3)	0.017	0.018
Caudal (m^3/d)	0.12	0.12
Tiempo de residencia hidráulica (d)	0.14	0.15
Carga orgánica ($\text{gDQO}/\text{m}^2 \cdot \text{d}$)	1.3 ± 0.7	1.4 ± 0.8

Durante los estudios preliminares se utilizaron medios de soporte ya colonizados para estudios previos realizados en el Instituto de Control y Calidad del agua. La estabilización y ajuste en los controles de operación duró un mes dando inicio a la primera etapa experimental que duró de julio a diciembre de 2000 (168 días). La Tabla 4.3 presenta los valores promedio de los parámetros de control de influente y efluente. Ambos reactores presentaron comportamientos similares en la eliminación de materia orgánica con remociones de DQO total arriba del 85 por ciento y de DQO soluble del 68 por ciento. Las esferas Liapor presentaron una mejor eliminación de nitrógeno amoniacal con un valor promedio de 94 por ciento mientras que los anillos Kaldnes presentaron remociones de amonio del 85 por ciento.

Durante esta fase preliminar se siguió el mismo procedimiento en ambos reactores para la cuantificación de biomasa. Se tomaron sistemáticamente muestras de material de soporte (30 mL) con biopelícula. Dichas muestras se depositan en un recipiente con tapa que contenga una solución amortiguadora de fosfatos, SAF. El recipiente que contiene la muestra del medio de soporte inmerso en SAF, se somete a una agitación manual vigorosa para desprender la biomasa. La biomasa desprendida se cuantifica como sólidos

totales. En el caso del material de esferas Liapor se obtuvo un buen desprendimiento de la biomasa promediando $18.4 \pm 4.7 \text{ g/m}^2$. En el caso de los anillos Kaldnes, a pesar de que se utilizó ultrasonido para desprender la biomasa adherida al material de soporte, el desprendimiento fue mínimo. Por esta situación el promedio de $5 \pm 1.8 \text{ g/m}^2$ no se considera confiable.

Tabla 4.3. Valores promedio durante la fase preliminar (día experimental 1-268)

Parámetro	Influyente (mg/L)	Efluente (mg/L)		Remoción (%)	
		Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes
DQO _{total}	259±147	37±14	39±10	86	85
DQO _{soluble}	85±33	27±10	27±7	68	68
SST	86±68	25±22	30±25	71	65
N-NH ₄	33±12	2±4	5±8	94	85
N-NO ₂ , N-NO ₃	<1	25±8	25±10	-	-
P-PO ₄	3.4±0.9	3.6±0.5	3.9±0.4	-	-

Modificaciones después de los estudios preliminares

Los estudios preliminares arrojaron varias observaciones a la metodología utilizada hasta el momento. Con base a estas observaciones se realizaron algunas modificaciones para poder cumplir con los objetivos planteados en el presente trabajo.

Operación de los reactores. Uno de los cambios más significativos fue la operación de los reactores. Durante los estudios preliminares los reactores experimentales operaron bajo la modalidad de reactores de flujo continuo. La principal característica de este tipo de reactores es que se tiene un patrón de flujo pistón en donde la transformación de los contaminantes presentes en el agua residual se realiza paulatinamente a través del lecho filtrante. Esto significa la estratificación de comunidades bacterianas a lo largo del lecho y el desarrollo heterogéneo de biopelículas. De esta forma el medio de soporte que entra en primer término en contacto con el agua residual influente desarrolla una biopelícula más gruesa y con características cinéticas diferentes a los medios de soporte que entran en contacto con el agua en las capas subsiguientes.

Para las metas fijadas en el presente estudio en donde se pretende analizar el funcionamiento de un lecho filtrante que permita el desarrollo de una biopelícula delgada en comparación con uno que permita el desarrollo de una biopelícula gruesa, las características del flujo pistón no son las apropiadas para tal fin. Con base en ello es que se decidió operar los reactores bajo la modalidad de flujo discontinuo asegurando obtener un reactor totalmente mezclado y tratar de obtener un desarrollo bacteriano homogéneo buscando lograr la formación de biopelículas con las mismas características cinéticas a todo lo largo del lecho filtrante.

Número de reactores y material de soporte. La segunda modificación de importancia fue la adición de un tercer reactor con otro material de soporte además de los dos ya existentes, esferas Liapor y anillos Kaldnes. Durante los estudios preliminares se observó que sobre el material Liapor se tiene la formación de una biopelícula relativamente

delgada. Sobre el material Kaldnes se tiene el crecimiento de una biopelícula profunda en la parte axial del material y de una biopelícula menos profunda sobre los canales externos con los que cuenta dicho material. De esta forma se puede decir que el material Kaldnes tiene la dualidad de la formación de una biopelícula gruesa y delgada a la vez. Es así como se decidió utilizar un tercer material que permitiera la formación de una biopelícula profunda para cumplir con los objetivos. El tercer material seleccionado fueron los cubos Linpor, cubos de poliuretano altamente porosos que permiten el desarrollo bacteriano dentro de los poros internos a resguardo de las fuerzas cortantes y permitiendo la formación de una biopelícula profunda.

Caracterización del medio de soporte. En un principio se caracterizó el material de soporte nuevo, limpio de crecimiento bacteriano y a escala, es decir, en vasos de precipitado de un litro. Datos como porosidad del lecho y el área superficial específica resultaron diferentes con el material limpio y a escala que con el material poblado y en el reactor operando bajo condiciones estables. Principalmente con los anillos Kaldnes, pues el espacio axial se ocupó en su totalidad por biomasa influyendo significativamente en la porosidad del lecho. Con base en estas observaciones es que se optó por determinar este parámetro directamente en los reactores experimentales, bajo condiciones reales de operación y con la presencia de las biopelículas desarrolladas sobre los tres medios de soporte. Los valores calculados en este estudio del área superficial y porosidad del lecho se reportan en la Tabla 2.3 y en la Tabla 3.1, respectivamente.

Estimación de biomasa. Se ajustó la metodología a las necesidades de cada tipo de medio en particular. Para el caso de las esferas Liapor, la agitación manual en un medio salino resultó eficiente para desprender la biomasa adherida sobre su superficie, por lo que se siguió utilizando este procedimiento para este material. Con los anillos Kaldnes fue necesario utilizar agujas de disección y espátulas para raspar la superficie de los anillos y así poder desprender la biomasa desarrollada sobre su superficie. Se siguió utilizando la solución salina de fosfatos para lavar los anillos y captar el material celular desprendido. Los cubos Linpor fueron literalmente “exprimidos” manualmente utilizando la solución salina. El material quedaba prácticamente libre de crecimiento celular. En los tres casos se siguió utilizando el procedimiento en la determinación de sólidos totales para cuantificar el contenido de biomasa. Además, se determinó el nitrógeno total en muestras de los medios de soporte con biomasa como un método alternativo en la cuantificación de biomasa.

Se considera importante hacer notar las complicaciones a las que se puede enfrentar una investigación con los métodos analíticos. Estas modificaciones ya están contempladas en el Capítulo 3 correspondiente a la metodología. Cabe señalar que con las esferas Kaldnes se realizaron pruebas utilizando la particularidad de este medio de soporte. Las esferas Kaldnes fueron diseñadas para utilizarse como lecho móvil (Ødegaard et al., 1994). Sin embargo, durante los estudios preliminares se observó que debido al constante movimiento de los anillos, y por consiguiente al constante choque entre ellos, se tiene un desprendimiento continuo de la biomasa. Esta característica provocaba alterar la configuración de los sistemas, básicamente agregar una operación de sedimentación secundaria para que la biomasa desprendida durante el proceso no influyera en la determinación de la demanda química de oxígeno, de los sólidos suspendidos totales y de nitrógeno total. Esto significaba agregar una variante más al proceso, optando por manejar a los tres reactores bajo la modalidad de lecho fijo y disminuir las variantes.

4.2 Experimentos finales. Operación en discontinuo

4.2.1 Remoción de materia orgánica medida como DQO

4.2.1.1 Anillos Kaldnes

La particularidad del medio de soporte de anillos Kaldnes es mantenerlo en constante movimiento para obtener un lecho móvil. Sin embargo, durante los estudios preliminares se observó que al mantener en movimiento el medio de soporte Kaldnes se promueve un choque constante entre las partículas mismas que conforman el lecho móvil y las paredes del reactor con el subsiguiente desprendimiento de biomasa. Esto obviamente implica la introducción de una variable más en el análisis de los resultados. Por un lado, se tiene a final de cuentas un reactor híbrido que trabaja con biomasa suspendida y biomasa adherida al material Kaldnes. Por otro lado, la presencia de la biomasa suspendida influye en los resultados de la DQO total y SST en el efluente, teniendo que implementar la adición de una sedimentación secundaria. Ante esta situación es que se optó por mantener el lecho fijo y no un lecho móvil. Muy seguramente por esta situación es que en la mayoría de los trabajos con anillos Kaldnes los autores reportan sus resultados como DQO sedimentada y/o soluble y no como DQO total (Rusten *et al.*, 1995; Pastorelli *et al.*, 1997; Ødegaard *et al.*, 1999).

En la Figura 4.2 se observa el comportamiento de la DQO total y soluble en el efluente del reactor con anillos Kaldnes durante la fase de experimentos finales.

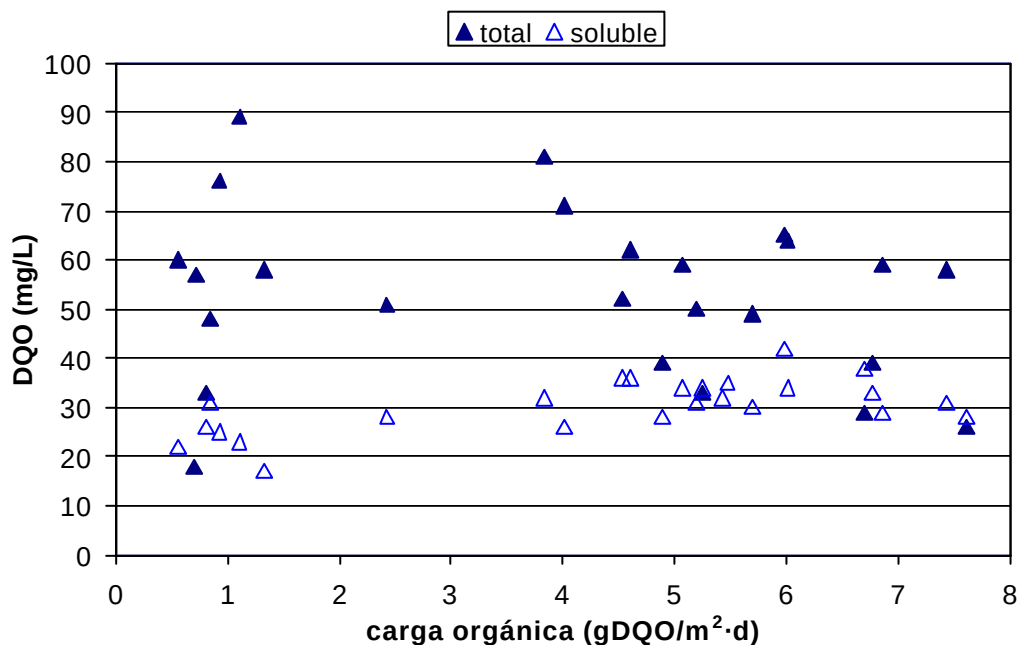


Figura 4.2. Reactor con anillos Kaldnes. Valores de DQO en el efluente con respecto de la carga orgánica inicial

Continuando con la secuencia de tiempo experimental de la fase de estudios preliminares interrumpida en el día 168, para los experimentos finales el primer intervalo de carga orgánica, de 0.5 – 2.5g DQO/m²·d, corresponde del día experimental 221, una vez que fueron estabilizados los reactores bajo las nuevas condiciones de operación, hasta el día 300. El segundo intervalo de carga orgánica bajo estudio, con un intervalo de 3.0-8.0g DQO/m²·d, corresponde del día 300 al día 680.

Se puede apreciar en la Figura 4.2 que los valores de DQO total no muestran algún cambio sustancial bajo las diferentes condiciones de carga orgánica presentando valores muy dispersos y sin seguir algún patrón definido. Sin embargo, se puede englobar a la mayoría de los puntos dentro de un intervalo de 55 a 65mg DQOtotal/L. Si se toma en cuenta que la DQO total en el influente presenta variaciones principalmente causadas por sólidos en suspensión, se observa entonces que la DQO soluble es más estable durante los períodos experimentales y que las variaciones de carga orgánica se deben a variaciones de la DQO total. Hay que tomar en consideración que los anillos Kaldnes, debido a su configuración y tamaño, no conforman un lecho filtrante ideal, por lo que es de esperarse que algunas partículas en suspensión no queden atrapadas en el lecho. Por otra parte, este tipo de material presenta un constante desprendimiento de la biomasa desarrollada sobre su superficie, lo cual puede contribuir en la lectura de la DQO total.

En los valores de DQO soluble se puede apreciar que la calidad del efluente se ve influenciada por los cambios de carga orgánica. Los valores de DQO soluble a la salida del sistema incrementan cuando se tiene una carga orgánica mayor. El primer bloque de puntos cae dentro de un intervalo de 17-31mg DQOsoluble/L para el primer intervalo de carga orgánica y el segundo bloque cae dentro de 26-41mg DQOsoluble/L para el segundo intervalo de carga orgánica.

4.2.1.2 Esferas Liapor

La Figura 4.3 muestra el comportamiento de la DQO total y soluble en el efluente del reactor con esferas Liapor durante el experimento. Para el primer intervalo de carga orgánica, de 0.5-2.5 gDQO/m²·d, la DQO total presenta puntos que caen dentro de un amplio intervalo de valores en el efluente entre 20 y 60 mgDQOtotal/L y sin mostrar algún patrón definido de comportamiento. Sin embargo, la DQO soluble en el efluente presenta un comportamiento homogéneo desde el inicio con valores entre 14 y 19 mg/L.

El comportamiento de la DQO total con cargas orgánicas superiores a un valor de 3.0 gDQO/m²·d es más estable. A pesar de que incrementan los valores de DQO total en el efluente se tiene un intervalo más estrecho entre los valores más bajos de 47 mg/L con respecto a los más altos de 74 mg/L. La DQO soluble sigue presentando datos homogéneos pero los valores en el efluente aumentaron ligeramente, con respecto al primer intervalo de carga orgánica, concentrando el mayor número de valores alrededor de 30 mg/L.

Al igual que con los anillos Kaldnes, con las esferas Liapor se nota una influencia de la DQO soluble con respecto a los cambios en la carga orgánica, incrementando los valores en el efluente conforme aumenta la carga orgánica. En este caso en particular, esta influencia de la carga orgánica también se nota con la DQO total. Es de esperarse que las esferas Liapor conformen un lecho que atrape una mayor cantidad de partículas sólidas en suspensión que los anillos Kaldnes.

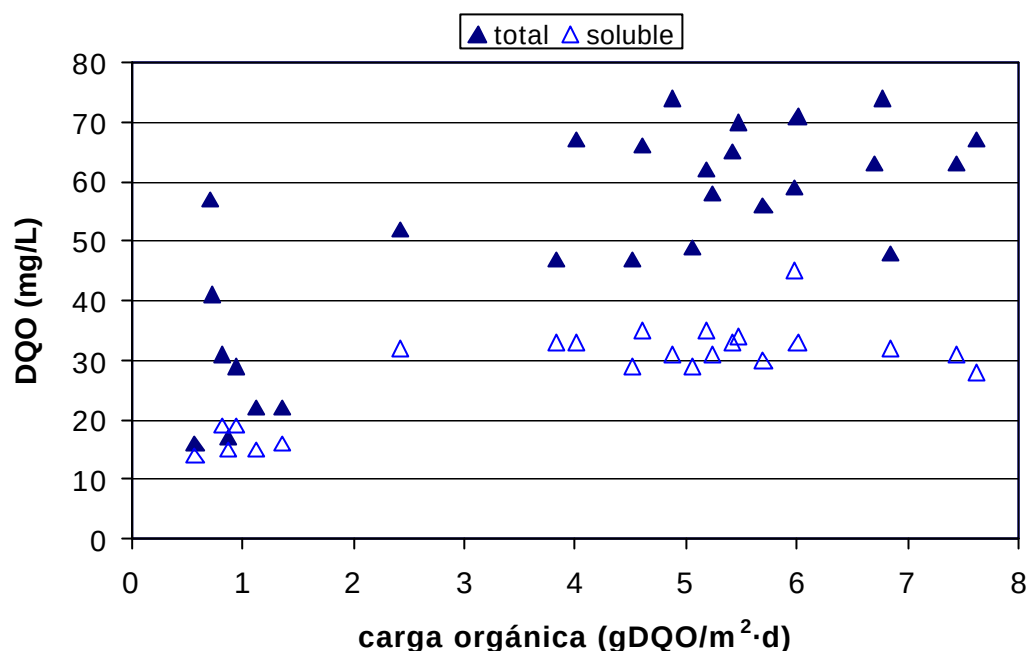


Figura 4.3. Reactor con esferas Liapor. DQO total y soluble en el efluente del reactor *versus* carga orgánica inicial

4.2.1.3 Cubos Linpor

El reactor con lecho de cubos Linpor presenta resultados irregulares en cuanto se refiere a la DQO total en ambos intervalos de carga orgánica. La Figura 4.4 muestra los valores de DQO total y soluble en el efluente durante todo el experimento. Los puntos que representan la DQO total van desde 20 hasta 50 mg/L durante el primer intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d. Los datos son dispersos y no muestran un patrón característico. Durante el segundo intervalo de carga orgánica, de 3.0-8.0 gDQO/m²·d, se observa el mismo comportamiento. Los valores de DQO total siguen siendo dispersos y sin ningún patrón reconocible. En este caso el intervalo de los puntos sobre el gráfico incrementó con valores entre 25 y 60mg DQO total/L.

Como se mencionó en el caso de los anillos Kaldnes, los cubos Linpor no conforman un lecho filtrante ideal para atrapar partículas en suspensión, pues la forma cúbica, junto con las dimensiones que presenta este material, evita tener un mejor empalme entre partícula y partícula, influenciando los valores de DQO total, considerando que los valores del influente varían principalmente por el contenido de sólidos suspendidos.

Por lo que respecta a la DQO soluble muestra una tendencia a permanecer con valores en un intervalo de 18 a 28 mgDQOsoluble/L durante el primer intervalo de carga orgánica. Para el segundo intervalo de carga orgánica, la DQO soluble presentó valores entre 12 y 35 mg/L, aunque el grueso de los puntos se encuentra alrededor de los 22 mg/L. Con los cubos Linpor se nota una menor influencia de los cambios de la carga orgánica con la calidad del efluente. Esta característica se atribuye a que este material alberga una mayor cantidad y diversidad de microorganismos dentro de los poros, lo que le permite tener una mejor respuesta a los cambios de carga orgánica. Más adelante, esta observación se

corroborar con los resultados de la determinación de biomasa y características de la biopelícula.

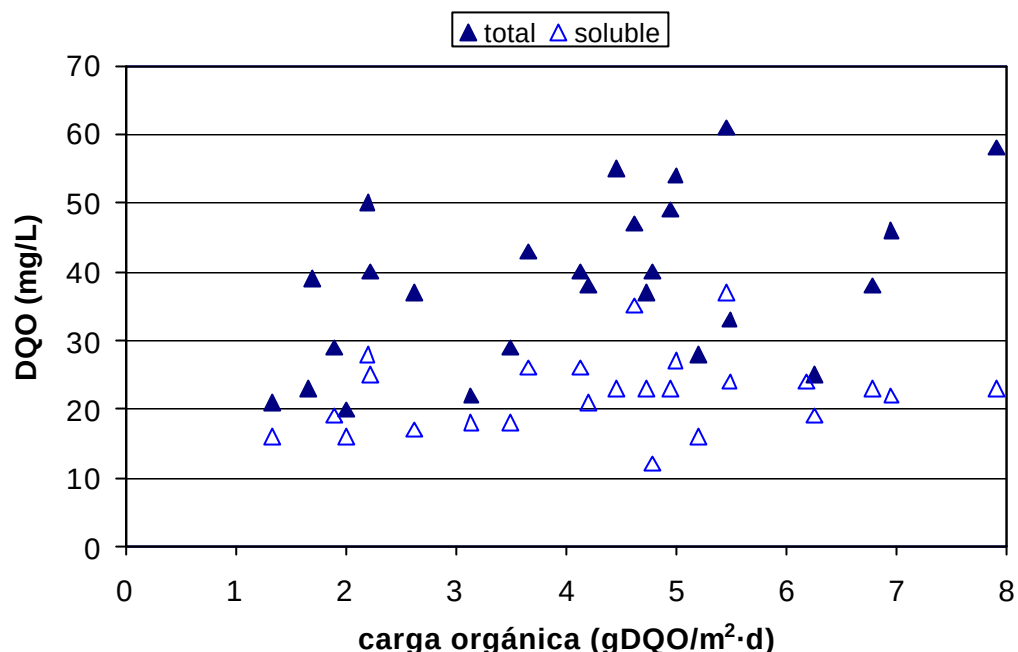


Figura 4.4. Reactor con cubos Linpor. Valores de DQO en el efluente con respecto a la carga orgánica inicial

4.2.2 Compuestos nitrogenados

4.2.2.1 Anillos Kaldnes

La Figura 4.5 presenta los valores obtenidos de los compuestos nitrogenados en el efluente del reactor empacado con anillos Kaldnes. Durante el primer intervalo de carga orgánica, de 0.5 a 2.5g DQO/m²·d, con excepción de un punto con un valor de 11 mg/L, se logró una eliminación de nitrógeno amoniacal manteniendo concentraciones en el efluente por debajo de 1.6 mgN-NH₄/L. Con esto se puede afirmar que se tuvieron las condiciones apropiadas para las bacterias encargadas de transformar biológicamente el nitrógeno amoniacal en nitrógeno de nitratos y nitritos asegurando una buena nitrificación. La presencia de N-NO₂ y N-NO₃ fue irregular sin mostrar algún patrón definido. Es de llamar la atención la presencia en tres puntos de altas concentraciones de nitrito por arriba de 4 y hasta 14 mg/L, durante esta fase, cuando las concentraciones promedio de N-NH₄ en el influente fueron de 26 mg/L.

Existen estudios en los que se propone que la acumulación de nitritos durante los procesos de nitrificación se debe a fenómenos de difusión. Cuando inicia la oxidación del nitrógeno amoniacal por parte del primer grupo de bacterias nitrificantes en las primeras capas de la biopelícula se tiene una difusión parcial de los nitritos hacia las capas internas y hacia el exterior. Entonces se induce un fuerte gradiente de concentración en el seno del líquido lo que provoca que se tenga una concentración alta de nitritos y una concentración baja de nitratos (Nijhof y Klapwijk, 1995).

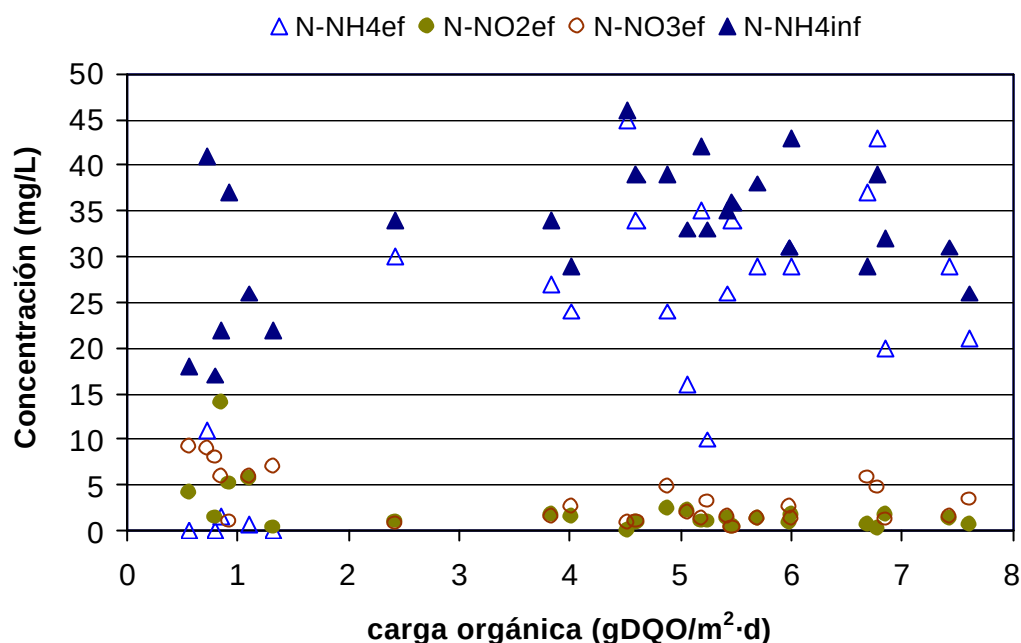


Figura 4.5. Reactor empacado con anillos Kaldnes.
Nitrógeno amoniacal en influente y efluente y nitrógeno de nitritos y de nitratos en el efluente con respecto a la carga orgánica inicial

En la Figura 4.6 se presenta un esquema extraído del trabajo de estos autores para explicar este fenómeno. No es sino hasta que el gradiente de concentración es mayor hacia el interior de la biopelícula que los nitritos se difunden hacia las capas profundas en donde son oxidados por el segundo grupo de bacterias nitrificantes para completar este proceso. Al parecer, el tipo de biopelícula que se desarrolló sobre los anillos Kaldnes presentó características que dificultan el transporte de nutrientes hacia las capas internas.

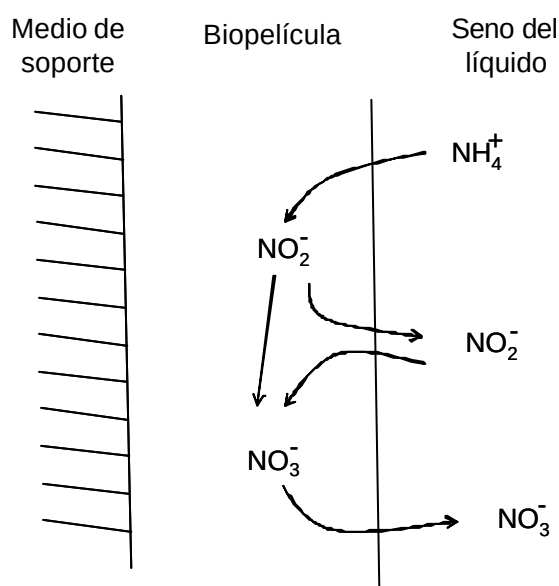


Figura 4.6 Esquema tentativo para explicar la difusión de los productos de la oxidación del amonio en biopelículas (Nijhof y Klapwijk, 1995)

Para el caso del segundo intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d la nitrificación decreció considerablemente. Como se puede ver, la presencia de amonio en el efluente fue irregular y elevada. La concentración mínima fue de 10 mgN-NH₄/L y la más alta de 45 mgN-NH₄/L, encontrándose el grueso de los puntos dentro de un intervalo de 25 a 35 mgN-NH₄/L. Esto habla de una transformación biológica de amonio pobre, lo cual es respaldado por la baja presencia de nitrógeno de nitritos y de nitratos, con concentraciones por abajo de 2 mgN-NO₂/L y 6 mgN-NO₃/L, respectivamente.

Más adelante, cuando se analizan las características de las biopelículas y los ciclos de operación (Apartados 4.2.5 y 4.2.6), se explican con mayor detalle las causas por las cuales se tuvo una pobre nitrificación con los anillos Kaldnes en el segundo intervalo de carga orgánica. Básicamente se tuvieron condiciones una biopelícula penetrada parcialmente por el oxígeno, lo que provocó que las bacterias nitrificantes que pudieran estar presentes en las capas inferiores detuvieran su metabolismo por falta de oxígeno molecular. También se presenta el balance de nitrógeno total en el capítulo para un mejor entendimiento de los procesos de nitrificación y desnitrificación en las biopelículas.

4.2.2.2 Esferas Liapor

La Figura 4.7 muestra la concentración de nitrógeno amoniacal, de nitrito y de nitrato en el efluente del reactor empacado con el material Liapor. Para el primer intervalo de carga orgánica las esferas Liapor presentan resultados homogéneos.

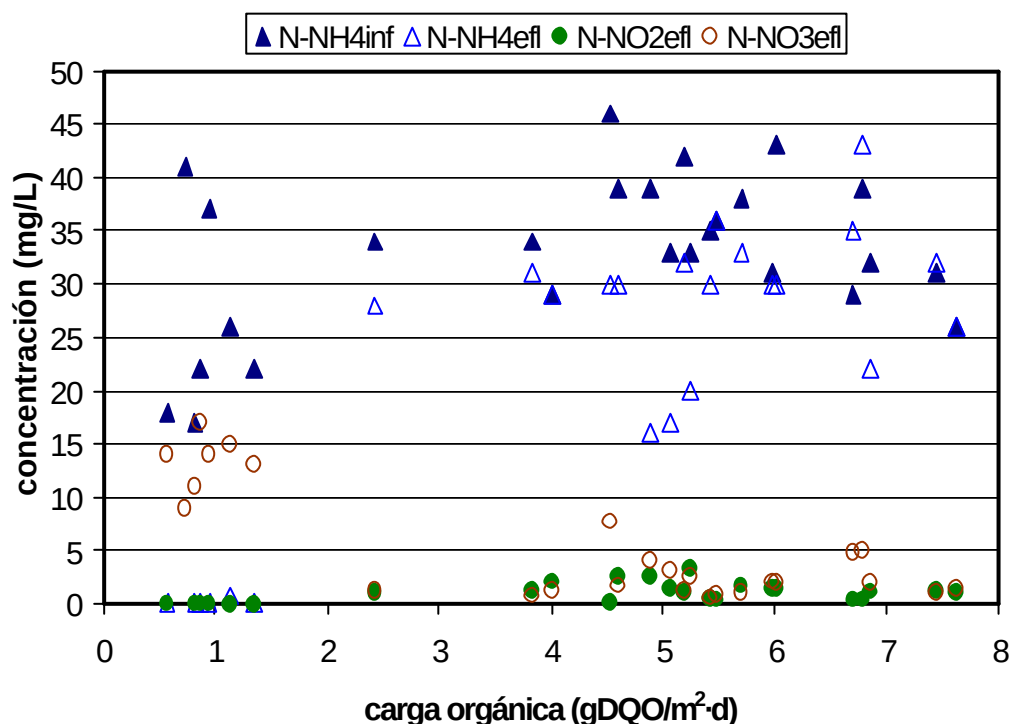


Figura 4.7. Reactor empacado con esferas Liapor. Nitrógeno amoniacal en influente y efluente y nitrógeno de nitritos y nitratos en efluente con respecto a la carga orgánica inicial

La concentración de nitrógeno amoniacal se mantuvo por abajo de 1 mgN-NH₄/L durante este período. La presencia de nitrógeno de nitratos en el efluente se mantuvo estable entre 11 y 17 mgN-NO₃/L. El nitrógeno de nitritos estuvo presente en mínimas concentraciones lo que se considera, para este caso, despreciable. Esto habla de un proceso estable y de una nitrificación completa.

Las condiciones con el empaque Liapor cambian para el segundo intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d. La transformación de nitrógeno amoniacal decreció drásticamente y presenta un comportamiento irregular sin mostrar un patrón bien definido. La presencia de nitrógeno amoniacal remanente en el efluente es alta con una tendencia a mantenerse entre 30 y 36 mgN-NH₄/L. De igual manera, la presencia de nitrógeno de nitritos y nitratos es irregular y muy baja. La concentración de nitritos en el efluente va desde valores inferiores a 1 hasta 2.6 mgN-NO₂/L mientras que el nitrógeno de nitrato varió en el efluente desde aproximadamente 1 hasta 7.7 mgN-NO₃/L. Esto habla de un proceso inestable con una nitrificación deficiente. Adelantándose un poco al análisis del tipo de biopelícula que se desarrolló sobre la superficie de este material, sección 4.2.5, se atribuye esta nitrificación deficiente al desprendimiento constante de la biopelícula durante el segundo intervalo de carga orgánica, provocando el lavado continuo de las bacterias nitrificantes del sistema durante el retrolavado sin permitir un tiempo de retención celular adecuado para su reproducción.

4.2.2.3 Cubos Linpor

La Figura 4.8 muestra el análisis de los compuestos nitrogenados en el efluente del reactor empacado con cubos Linpor. Para el primer intervalo de carga orgánica, de 0.5-2.5 gDQO/m²d, el efluente tratado con este material presentó concentraciones de nitrógeno amoniacal por abajo de 1 mgN-NH₄/L. El nitrógeno de nitritos, a excepción de un punto que se disparó hacia arriba con un valor de 4 mgN-NO₂/L, se mantuvo con valores cercanos a cero por lo que se consideran despreciables. Las concentraciones de nitrógeno de nitratos muestran una tendencia a incrementar conforme aumenta la carga orgánica con valores desde 7 hasta 16-17 mgN-NO₃/L. Existen dos puntos que se disparan, uno hacia arriba con 23 mgN-NO₃/L y, otro hacia abajo con 4 mgN-NO₃/L. En el reactor con cubos Linpor, a diferencia de la DQO, la transformación de nitrógeno amoniacal presenta un comportamiento estable y con procesos de nitrificación bastante buenos.

La configuración de este material permite desarrollar dentro de sus poros a las bacterias al resguardo de las fuerzas cortantes a las que pudieran ser sometidas durante el proceso y, principalmente, durante el retrolavado. Esta particularidad da oportunidad a las bacterias nitrificantes, que necesitan mayor tiempo para su reproducción, permanecer en el sistema sin ser lavadas durante el retrolavado. El tiempo de retención celular se analiza en el Apartado 4.2.4 que inicia en la página 60.

Para el segundo intervalo de carga orgánica, de 3.0-8.0 gDQO/m²d, nuevamente se tienen datos dispersos, aunque se puede establecer una tendencia del comportamiento de los compuestos nitrogenados. En este intervalo de carga orgánica la actividad por parte de las bacterias nitrificantes disminuyó, como así lo demuestran las concentraciones de nitrógeno amoniacal residual en el efluente que caen dentro de un intervalo entre 4 y 18 4 mgN-NH₄/L. Sin embargo, la presencia de nitrógeno de nitratos, aunque irregular, habla de que los procesos de nitrificación no cesaron. Los valores en la concentración de nitratos

cayeron en un intervalo de 4 hasta 17 mgN-NO₃/L. El nitrógeno de nitritos durante esta fase presentó valores más consistentes con concentraciones inferiores a 2 mgN-NO₂/L.

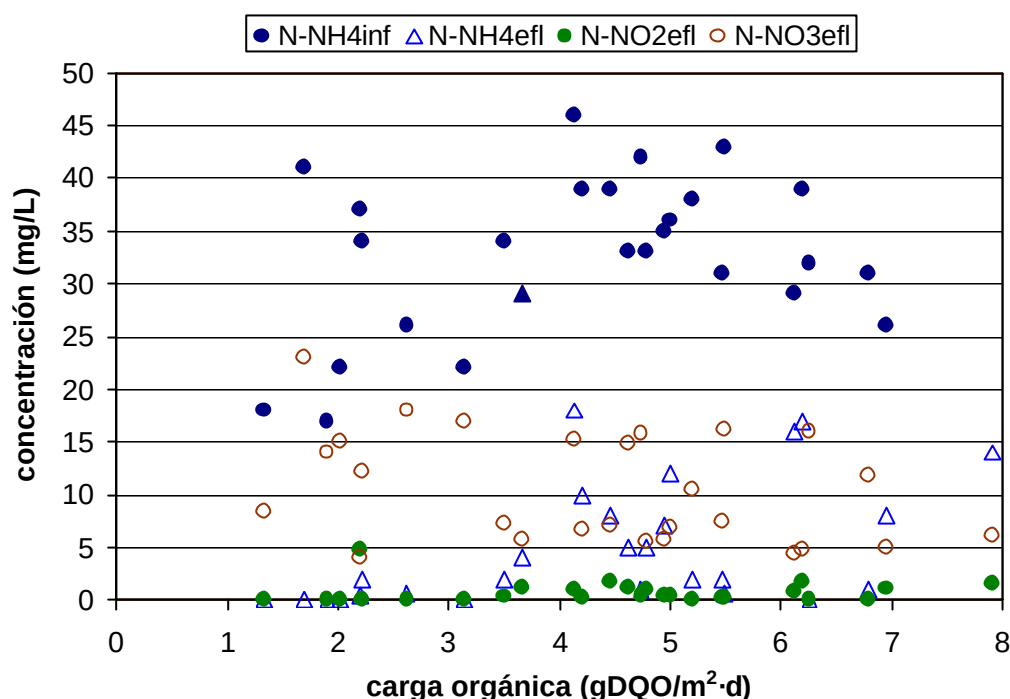


Figura 4.8. Reactor con empaque de cubos Linpor. Nitrógeno amoniacal en influente y efluente y nitrógeno de nitritos y de nitratos en el efluente con respecto a la carga orgánica inicial

Algunos autores atribuyen la disminución de los procesos de nitrificación como una consecuencia del desarrollo de una mayor cantidad de bacterias heterótrofas con cargas orgánicas mayores. Al haber una mayor disposición de materia orgánica para los metabolismos heterótrofos, y al tener una tasa de reproducción mayor que las bacterias autótrofas, compiten por el espacio y la disponibilidad de oxígeno disuelto desplazando a las bacterias nitrificantes. De esta forma la tendencia cambia de una población predominantemente autótrofa con cargas orgánicas inferiores a 2.5 gDQO/m²·d, a una población predominantemente heterótrofa con cargas orgánicas superiores (Zhang *et al.*, 1994; van Loosdrecht *et al.*, 1999).

4.2.3 Orto-fosfatos

La Figura 4.9 presenta las concentraciones de orto-fosfatos determinadas en el influente y determinadas en el efluente de los tres reactores. A pesar de que los puntos que representan las concentraciones de P-PO₄ son muy dispersos, se alcanza a percibir que los tres reactores presentan una menor transformación de orto-fosfatos en el efluente conforme incrementa la carga orgánica, presentando altas concentraciones en el efluente.

Esto puede deberse a que algunas de las bacterias que participan en la eliminación biológica de fósforo, tienen la facultad para desnitrificar (bacterias EPD). Esta facultad ofrece ventajas en el tratamiento de aguas residuales ya que puede haber una

desnitrificación y una eliminación biológica de fósforo de manera simultánea con el ahorro de energía y de materia orgánica (Kuba *et al*, 1996a;b). Sin embargo, debe tenerse cuidado en las condiciones de operación que se requieren para poder alcanzar esta dualidad. Según estos autores, una fase aerobia prolongada puede resultar contraproducente, pues gran parte del material de reserva que almacenaron las bacterias EPD durante la fase anaerobia como cadenas de polihidroxibutiratos (PHB), es aerobiamente oxidado. Esto significa que los PHB no son utilizados por este tipo de bacterias de forma eficiente en la transformación de compuestos nitrogenados y fosforados. Además, también se ha visto que durante la fase anaerobia la captación de orto-fosfatos por parte de las bacterias EPD se pudiera afectar debido a la presencia de nitratos que quedaron atrapados en la biopelícula procedentes del ciclo aerobio anterior. La obtención de energía representa una ruta más corta para desnitrificar que para almacenar orto-fosfatos (Falkentoft *et al.*, 2001). En el análisis correspondiente a los ciclos de operación se verá con mayor detalle este fenómeno.

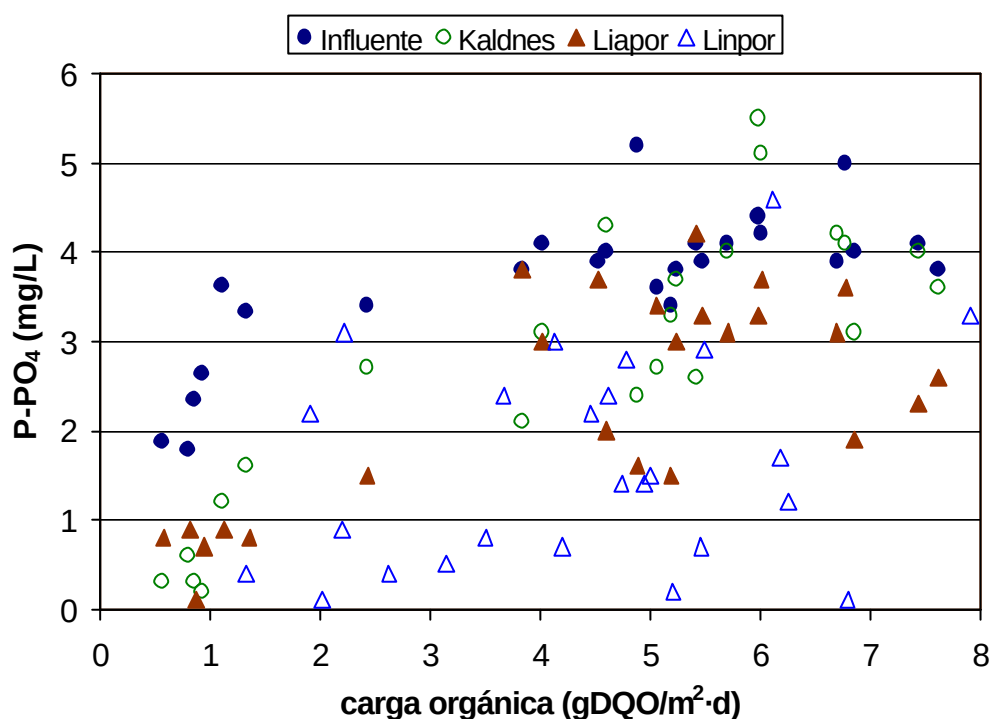


Figura 4.9. Orto-fosfatos en el influente y el efluente de los tres reactores

4.2.3.1 Anillos Kaldnes

El reactor con anillos Kaldnes presentó un efluente con concentraciones inferiores a 1.0mg P-PO₄ /L con cargas orgánicas inferiores a 1.0g DQO/m²·d (Figura 4.9). Por arriba de esta carga orgánica, hasta un valor de 2.5g DQO/m²·d, la concentración de orto-fosfatos en el efluente incrementa ligeramente hasta 1.6mg P-PO₄ /L. En el siguiente intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0g DQO/m²·d, la concentración de orto-fosfatos se mantuvo en un intervalo de entre 2.1 y 5.5mg P-PO₄ /L sin mostrar algún patrón definido. Como se ha mencionado, el comportamiento irregular de este compuesto puede estar sujeto a los procesos de desnitrificación como vía alterna de obtención de energía.

4.2.3.2 Esferas Liapor

En la Figura 4.9 se puede ver para el intervalo de carga orgánica 0.5-2.5 gDQO/m²·d que la concentración de orto-fosfato en el efluente del reactor empacado con las esferas Liapor muestra un comportamiento homogéneo con valores inferiores a 1.0mg P-PO₄ /L. Al igual que los anillos Kaldnes, en el caso del segundo intervalo de carga orgánica, los valores de orto-fosfatos en el efluente incrementan ligeramente sin mostrar gran diferencia a lo largo de los resultados obtenidos durante este intervalo. Los valores van desde 1.5 hasta 4.2 mgP-PO₄/L.

4.2.3.3 Cubos Linpor

En el caso de los cubos Linpor, considerando una vez más el análisis de la Figura 4.9, se puede notar que para el caso de los orto-fosfatos no se tiene una diferencia clara entre un intervalo de carga orgánica y otro. Por abajo de cargas orgánicas de 2.5 gDQO/m²·d los orto-fosfatos en el efluente de Linpor se encuentran en concentraciones inferiores a 2.2mg P-PO₄/L. Después entre una carga orgánica de 2 y 6 gDQO/m²·d los orto-fosfatos se encuentran por abajo de 3 mgP-PO₄/L. Por último, con cargas orgánicas de hasta 8 gDQO/m²·d las mediciones de los orto-fosfatos en el efluente alcanzan valores hasta de 4.6mg P-PO₄/L.

4.2.4 Sólidos suspendidos, retrolavado y biomasa adherida

4.2.4.1 Anillos Kaldnes

La Figura 4.10 presenta los SST determinados en el influente, efluente y agua de retrolavado en unidades de g/d, además de la biomasa seca, en el reactor empacado con anillos Kaldnes en unidades de g/m². El efluente presentó valores consistentemente por abajo de 4.4 gSST/d. Los SST medidos en el agua del retrolavado presentan valores sin un patrón definido. Sin embargo, en dicha figura se puede apreciar que un conjunto de puntos se concentran alrededor de 5 gSST/d para cargas orgánicas inferiores a 5 gDQO/m²·d. Para cargas orgánicas superiores a 5 gDQO/m²·d incrementa la concentración de sólidos en un intervalo de 10 g/d hasta 20 g/d. Esto es de esperarse, pues a mayor carga orgánica se puede suponer que se tiene una mayor cantidad de biomasa en exceso al incrementar la masa convertida. Además la aportación de sólidos suspendidos en el influente también incrementa con la carga orgánica por lo que seguramente se tiene una mayor captura de sólidos en el lecho de anillos Kaldnes y, por consiguiente, también participan en la cantidad de SST en el agua a la hora de lavar el lecho.

Para la estimación de biomasa adherida al material de anillos Kaldnes, medida como masa seca, se obtuvo un valor promedio de 23±4 gST/m². En la Figura 4.10 se puede apreciar la estimación de biomasa con respecto a la carga orgánica. Bajo el patrón de lecho móvil y para el tratamiento de aguas residuales municipales eliminando DQO, nitrificando y desnitrificando, Pasinetti y Emondi (2003) reportan para reactores con anillos Kaldnes un intervalo entre 4-9 gST/m². Como se mencionó en el punto correspondiente a DQO, al funcionar el empaque Kaldnes como lecho móvil se tiene un desprendimiento constante de biomasa.

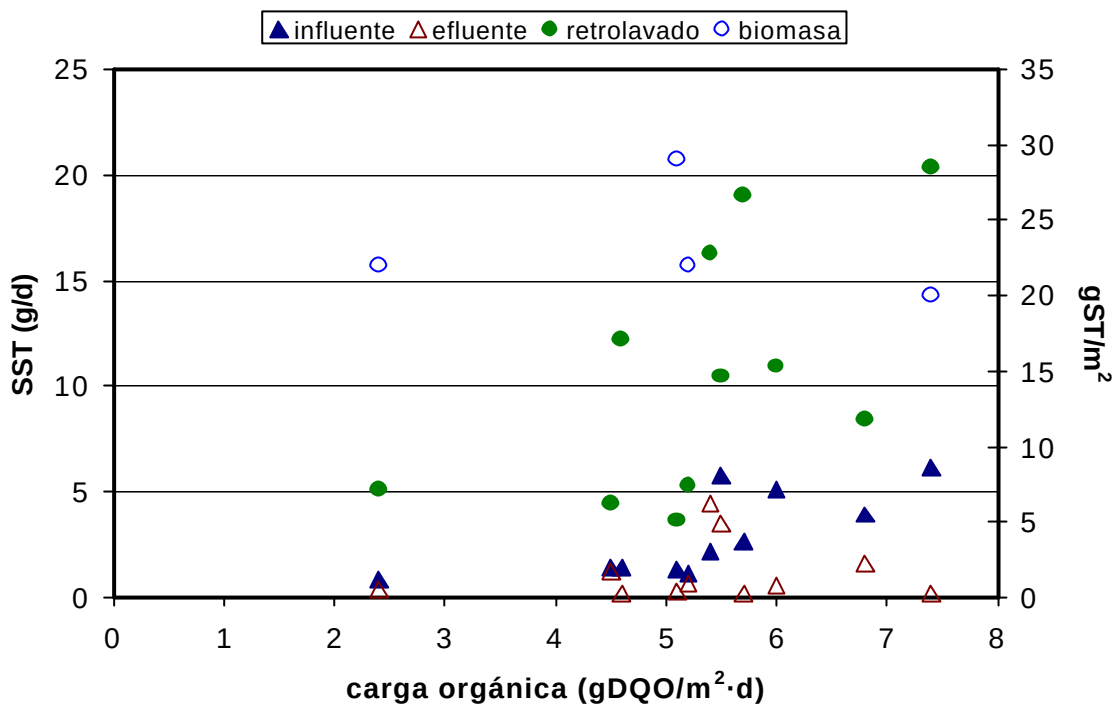


Figura 4.10. Biomasa seca y SST versus carga orgánica inicial en un reactor empacado con anillos Kaldnes

En el presente estudio el lecho de anillos Kaldnes se mantuvo fijo, lo que pudo haber influido en la determinación de biomasa, pues al no tener las condiciones de un lecho móvil se evita el desprendimiento de biomasa que se tiene por el constante choque entre las partículas que componen el lecho logrando concentrar una mayor cantidad de biomasa en los medios de soporte.

Es importante hacer notar que el desempeño de los anillos Kaldnes en el desarrollo de biopelículas para el tratamiento de aguas residuales pudo verse afectado al utilizarlos como lecho fijo, pues su principal ventaja es precisamente la movilidad en el seno líquido lo que ayuda a obtener un mayor contacto e intercambio de oxígeno y nutrientes entre el seno líquido y la superficie de la biopelícula (Ødegaard *et al.*, 1994; Rusten *et al.*, 1994). Pero para los fines de este estudio, que es estudiar los tipos de biopelícula bajo un mismo régimen de operación, fue necesario utilizarlos como lecho fijo.

Los valores de SST en influente, efluente y retrolavado fueron utilizados para calcular el gasto másico (Q_M) y con ello calcular el tiempo de retención celular (τ_c). Como se mencionó en la metodología, se supone que los SST en el influente no son afectados por la actividad biológica de los microorganismos y que existen en el sistema ya sea en el efluente o en el agua de retrolavado. Se consideró el promedio de la biomasa seca determinada de 23 gST/m² para calcular la masa total en el sistema (2.7 m²). El promedio de masa seca total en el sistema empacado con anillos Kaldnes fue de 62.8 g. Se obtuvo un promedio de gasto másico de 8.7 g/d y un promedio de tiempo de retención celular de 10 días (Tabla 4.4).

Cabe recordar que el tiempo de retención celular (τ_c) se obtiene con la expresión:

$$\tau_c = \frac{\text{masa seca total en el sistema}}{\text{gasto másico}} \left[\frac{g}{g/d} \right] \quad (4-1)$$

Tabla 4.4. SST y tiempo de retención celular (τ_c) para diferentes corridas en el reactor empacado con anillos Kaldnes

Carga orgánica (gDQO/m ² ·d)	SST influente (g/d)	SST efluente (g/d)	SST retrolavado (g/d)	Q _M (g/d)	τ_c (d)
2.4	0.83	0.41	5.15	4.7	13.4
4.5	1.45	1.24	4.45	4.2	14.9
4.6	1.38	0.21	12.19	11.0	5.8
5.1	1.31	0.28	3.65	2.6	24.1
5.2	1.17	0.69	5.28	4.8	13.1
5.4	2.14	4.42	16.26	18.5	3.4
5.5	5.80	3.52	10.46	8.2	7.7
5.7	2.62	0.21	19.07	16.7	3.8
6.0	5.11	0.55	10.94	6.4	9.8
6.8	3.93	1.59	8.45	6.1	10.3
7.4	6.14	0.21	20.35	14.4	4.4
5.3	2.90	1.21	10.57	8.9	10.0

Los valores al final de la tabla son promedios

Caudal de entrada y de salida: 0.069 m³. Caudal de retrolavado: 0.032 m³

El reactor empacado con lecho Kaldnes presenta una mayor concentración de SST en el efluente con respecto a los otros dos reactores. Como se ha mencionado, la configuración de los anillos y sus dimensiones, no les confiere las características ideales para conformar un lecho filtrante.

4.2.4.2 Esferas Liapor

La Figura 4.11 muestra los valores obtenidos con el reactor empacado con esferas Liapor de los SST en el influente, efluente y retrolavado, y de la cuantificación de biomasa medida como masa seca (g/m²). Los SST determinados en el efluente de Liapor muestran una tendencia a mantenerse por abajo de 3 g/d. Cabe mencionar que la particularidad de las esferas Liapor es utilizarlas en lechos fijos, por lo que era de esperarse que gran parte de los SST quedara atrapada en el lecho. En el retrolavado la determinación de SST arrojó valores dispersos y sin un patrón definido. Los valores varían desde 6 hasta 24 gSST/d aunque el grueso de los puntos se concentra en un intervalo de 11 a 19 gSST/d. Este tipo de material presenta una mayor cantidad de SST en el agua de retrolavado en comparación con los otros dos reactores, esto significa que la superficie de las esferas ofrece una menor resistencia al desprendimiento de la biomasa por efecto de las fuerzas cortantes.

En la Figura 4.11 se puede apreciar que la cuantificación de biomasa presenta una tendencia a incrementar conforme aumenta la carga orgánica hasta alcanzar un valor de 26 gST/m² para una carga orgánica de 5.7 gDQO/m²·d. Sin embargo, por arriba de una carga orgánica de 6 gDQO/m²·d, cae el punto que representa la biomasa seca hasta un valor de 8 gST/m². Esto coincide con la cuantificación de biomasa medida como nitrógeno

total que se presenta en el balance de nitrógeno en la Tabla 4.5. En dicha tabla se ve que la cuantificación de biomasa medida como NT es mayor para una carga orgánica de 2.4 gDQO/m²·d con 6.28 gNT/kg que para una carga orgánica de 6 gDQO/m²·d, en donde se obtuvo un valor de 1.25 gNT/kg. El promedio de biomasa seca para el reactor con esferas Liapor fue de 15±8 gST/m². Arnz (2001) reporta valores promedio para el empaque Liapor de 8.3 gST/m² con cargas orgánicas cercanas a 1.0 gDQO/m²·d.

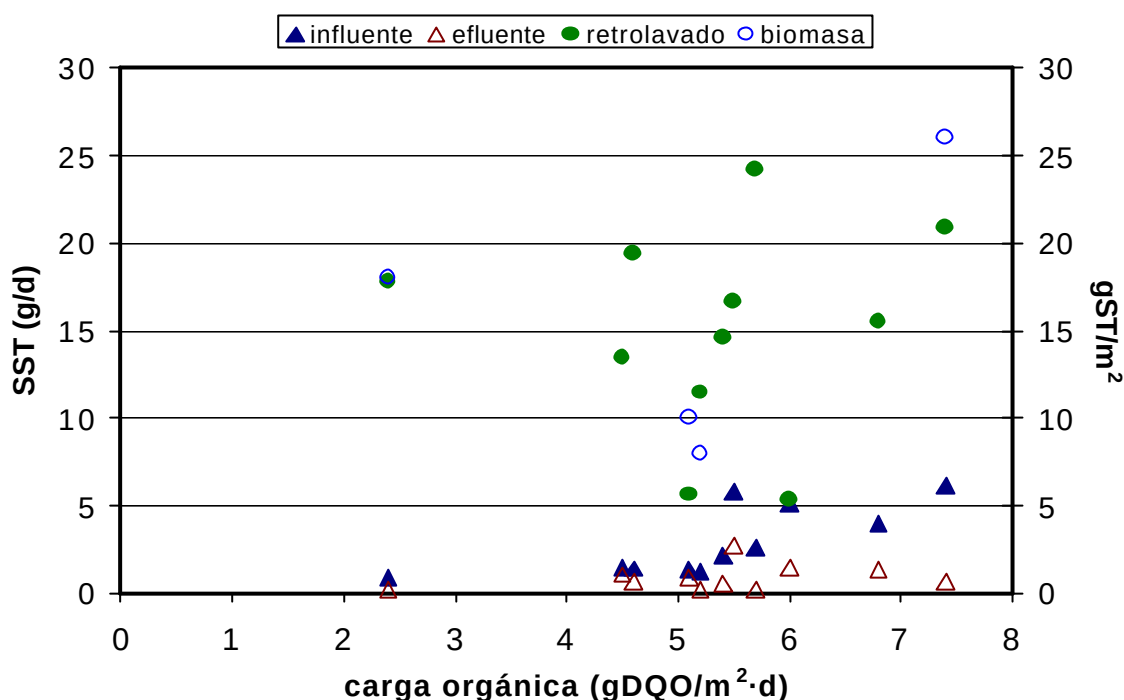


Figura 4.11. Biomasa seca y SST para diferentes cargas orgánicas iniciales en el reactor empacado con esferas Liapor

En la Tabla 4.5 se presentan los resultados obtenidos con el empaque Liapor en el cálculo del gasto másico (Q_M) y tiempo de retención celular (τ_c). El promedio de masa seca total en el sistema empacado con Liapor (15.5 g/m² x 2.7m²) es de 41.8 g. Como ya se mencionó, este material presenta gran desprendimiento de biomasa durante el retrolavado, lo cual se ve reflejado en la medición de SST con un promedio de 15 gST/m³. Esta condición reduce la posibilidad de mantener los microorganismos adheridos a las esferas Liapor por períodos largos y, por consiguiente, se tienen tiempos de retención celular bajos, con un promedio de 5.4 días.

4.2.4.3 Cubos Linpor

La Figura 4.12 muestra los sólidos suspendidos totales en el influente, efluente y agua de retrolavado, y la cuantificación de biomasa adherida con respecto a la carga orgánica. Los cubos Linpor presentan en el efluente a lo largo del estudio valores de SST por abajo de 2 g/d. Debido a la forma cúbica que tiene este tipo de material, aunado a sus dimensiones, se esperaba que este material fuera deficiente como lecho filtrante, sin embargo, al parecer la superficie porosa de este medio de soporte ayuda a que las partículas en suspensión se adhieran con mayor facilidad que para el caso de los anillos Kaldnes. La

cuantificación de SST en el retrolavado es dispersa y sin ningún patrón característico. Se tienen valores desde 3 y hasta 20 gSST/d a lo largo del estudio. Los cubos Linpor junto con las esferas Kaldnes presentan valores promedio similares en la concentración de SST en el agua de retrolavado. Estos dos materiales ofrecen mayor resistencia al desprendimiento de biomasa.

Tabla 4.5. SST y tiempo de retención celular (? c) para diferentes corridas en el reactor empacado con esferas Liapor

Carga orgánica (gDQO/m ² ·d)	SST influente (g/d)	SST efluente (g/d)	SST retrolavado (g/d)	Q _M (g/d)	? c (d)
2.4	0.83	0.21	17.76	17.1	2.4
4.5	1.45	1.04	13.44	13.0	3.2
4.6	1.38	0.69	19.46	18.8	2.2
5.1	1.31	0.83	5.63	5.1	8.1
5.2	1.17	0.21	11.46	10.5	4.0
5.4	2.14	0.48	14.56	12.9	3.2
5.5	5.80	2.69	16.70	13.6	3.1
5.7	2.62	0.21	24.26	21.8	1.9
6.0	5.11	1.45	5.31	1.7	25.3
6.8	3.93	1.31	15.52	12.9	3.2
7.4	6.14	0.69	20.86	15.4	2.7
5.3	2.90	0.89	15.0	13.0	5.4

Los valores al final de la tabla son promedios

Caudal de entrada y de salida: 0.069 m³. Caudal de retrolavado: 0.032 m³

Cabe recordar que el patrón de desprendimiento de la biomasa depende de varios factores (ver Subcapítulo 2.1). Más adelante se verá, que los tres reactores presentaron condiciones hidrodinámicas de flujo turbulento. Esta condición favorecería el desarrollo de biopelículas con una mayor resistencia al desprendimiento de los medios de soporte (Rasmussen y Lewandowski, 1998). Sin embargo, para que esta condición se cumpla deben de tenerse condiciones de cargas orgánicas bajas y constantes (Picioreanu *et al.*, 2000; Vieira *et al.*, 1993). Durante el presente estudio, principalmente al trabajar con un agua residual de origen municipal bajo condiciones reales, se tuvieron variaciones de carga orgánica. Estas condiciones pudieron influir sobre los datos dispersos que se registraron en las mediciones de los sólidos suspendidos totales en el efluente y en el retrolavado, sobre todo con cargas orgánicas altas, que es cuando se desarrollan biopelículas mas gruesas pero con menos resistencia al desprendimiento (Melo y Vieira, 1999). Además, debe tomarse en cuenta que estos resultados también están sujetos a la variación en los valores de los SST en el agua residual influente.

Independientemente de la carga orgánica aplicada Linpor presentó un crecimiento de microorganismos homogéneo y estable con valores que van de 50 a 56 gST/m² (Figura 4.12) para un promedio de 53±2.6 gST/m². En la literatura se encontraron reportes en la cuantificación de biomasa en sistemas que utilizan los cubos Linpor con valores que van desde 10 hasta 16.8 kg/m³ (Morper y Wildmoser, 1990; Morper, 1994). La configuración de los cubos de hule espuma (altamente porosos) permite mantener la biomasa contenida dentro del medio al resguardo de las fuerzas cortantes que pudieran tenerse en el seno del líquido, por lo que este material ofrece una gran resistencia al desprendimiento de

biomasa durante la operación y durante el retrolavado. Esta situación ofrece a los microorganismos las condiciones adecuadas para su reproducción con el mayor promedio en el tiempo de retención celular de 24.7 días (Tabla 4.6). Los cubos Linpor presentaron un promedio de masa seca total en el sistema de 143.1 g ($53\text{gST/m}^2 \times 2.7\text{m}^2$).

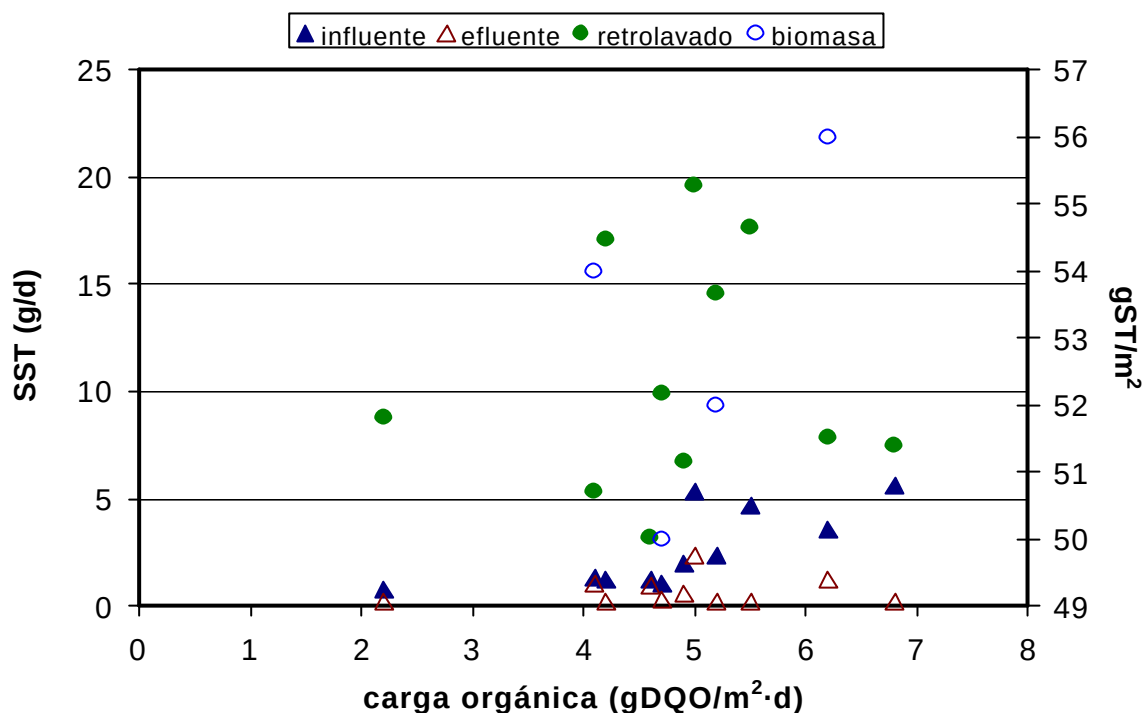


Figura 4.12. Biomasa seca y SST para diferentes cargas orgánicas iniciales en el reactor empacado con los cubos Linpor

Tabla 4.6. SST y tiempo de retención celular (? c) para diferentes corridas en el reactor empacado con cubos Linpor

Carga orgánica (gDQO/m ² ·d)	SST influente (g/d)	SST efluente (g/d)	SST retrolavado (g/d)	Q _M (g/d)	? c (d)
2.2	0.76	0.19	8.80	8.2	17.4
4.1	1.32	1.01	5.34	5.0	28.4
4.2	1.26	0.19	17.09	16.02	8.9
4.6	1.20	0.95	3.23	3.0	48.0
4.7	1.07	0.32	9.89	9.1	15.7
4.9	1.95	0.57	6.75	5.4	26.7
5.0	5.29	2.33	19.62	16.7	8.6
5.2	2.39	0.19	14.59	12.4	11.5
5.5	4.66	0.19	17.66	13.2	10.8
6.2	3.59	1.26	7.84	5.5	26.0
6.8	5.61	0.19	7.49	2.1	69.1
4.9	2.65	0.67	10.75	5.4	24.7

Los valores al final de la tabla son promedios

Caudal de entrada y de salida: 0.063 m³. Caudal de retrolavado: 0.032 m³

4.2.5 Observaciones al microscopio

4.2.5.1 Anillos Kaldnes

La Figura 4.13 presenta imágenes de muestras de anillos Kaldnes con biomasa. Estas imágenes corresponden a un intervalo de carga orgánica de 0.5 a 2.5 g DQO/m²-d y son representativas de la serie de imágenes que fueron tomadas a lo largo del estudio. Se puede apreciar claramente que los cuatro compartimentos internos de los que se compone este medio fueron ocupados en su totalidad por biomasa.

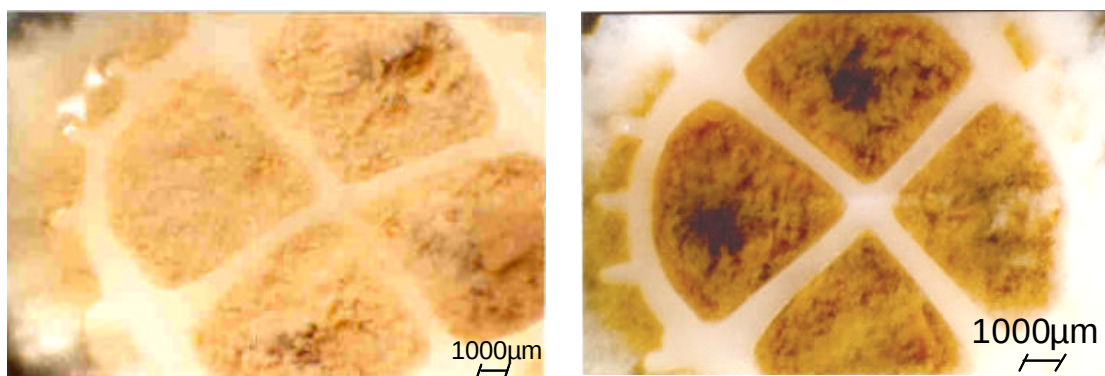


Figura 4.13. Compartimentos internos de anillos Kaldnes con biomasa antes y después de retrolavar. Intervalo de carga orgánica 0.5-2.5 gDQO/m²-d

Las aletas externas que conforman la periferia del medio de soporte fueron también colonizadas por microorganismos e incluso se tiene crecimiento filamentososo por arriba de la altura de dichas aletas (Figuras 4.14 y 4.15). Se puede apreciar una coloración ocre y se tiene una biopelícula con apariencia “esponjosa”. Se alcanza a apreciar en el crecimiento de la parte interna algunas tonalidades oscuras. Después del retrolavado persiste la biopelícula que se desarrolla sobre las aletas longitudinales, lo que indica una fuerte resistencia al desprendimiento por efecto de las fuerzas cortantes durante esta operación (Figura 4.13 derecha). De la biomasa que se encuentra en la parte interna, se desprenden las capas superficiales dejando a la vista las capas subsiguientes que presentan zonas con coloraciones oscuras lo que indica actividad de procesos anaerobios.

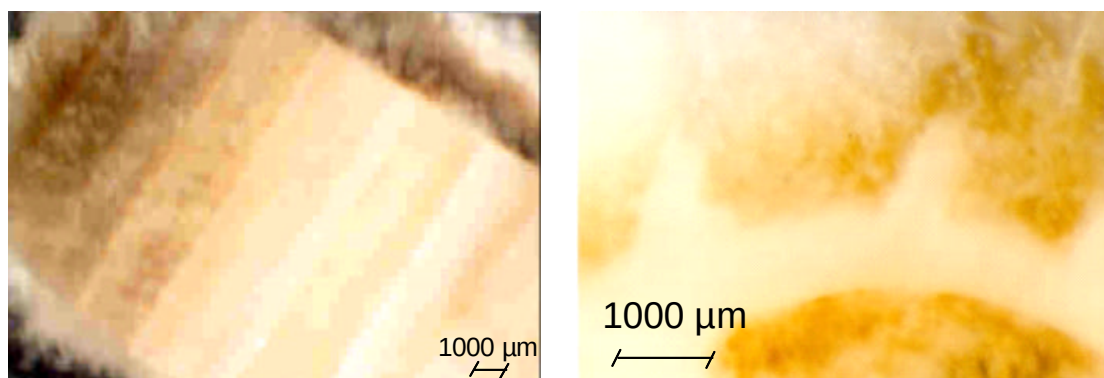


Figura 4.14. Detalle de las aletas externas de los anillos.
Intervalo de carga orgánica 0.5-2.5 gDQO/m²-d

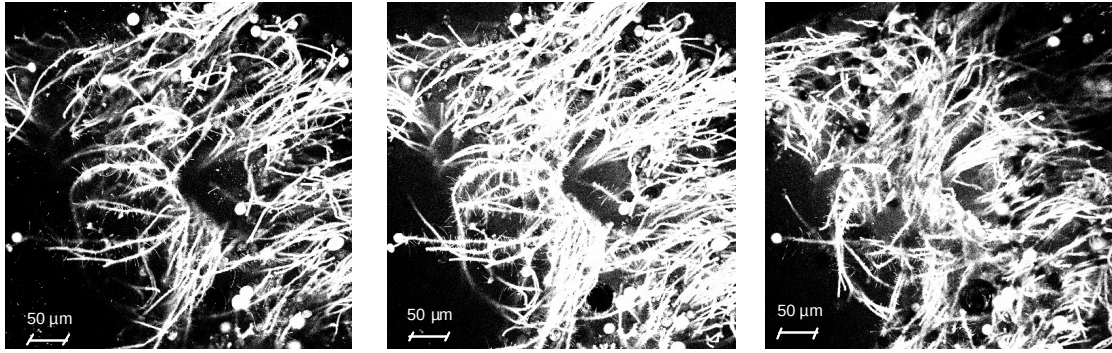


Figura 4.15. Secuencia de imágenes tomada de la biomasa que prolifera sobre las aletas externas. Microscopio confocal láser de barrido

Para las imágenes que corresponde al segundo intervalo de carga orgánica se tiene la presencia de una biomasa con tonos pardos (Figuras 4.16 y 4.17). En las aletas externas se sigue teniendo la formación de una biopelícula pero en esta ocasión el crecimiento es más uniforme y sólo cubre la altura de las aletas. Las imágenes que se tomaron después del retrolavado una vez más muestran la resistencia de la biopelícula contenida en las aletas longitudinales. Las aletas quedan rasuradas pero no se desprende por completo. En la parte interna de los anillos se nota una mayor actividad anaerobia. Los manchones grisáceos son mayores e incluso se tiene un mayor desprendimiento de biomasa en esta zona. En la Figura 4.17 se puede apreciar incluso que algunas zonas quedan totalmente al descubierto hasta llegar a la cara opuesta del material quedando libre de biomasa.

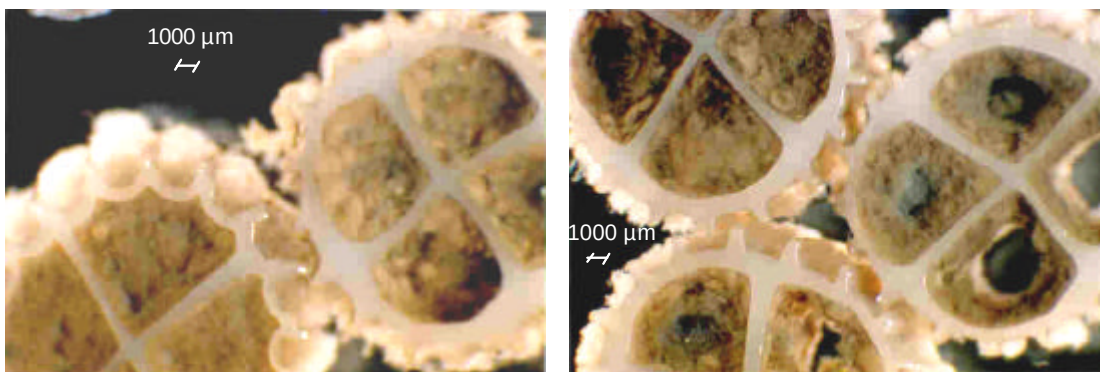


Figura 4.16. Anillos Kaldnes antes y después de retrolavar.
Intervalo de carga orgánica 3.0-8.0 gDQO/m²·d

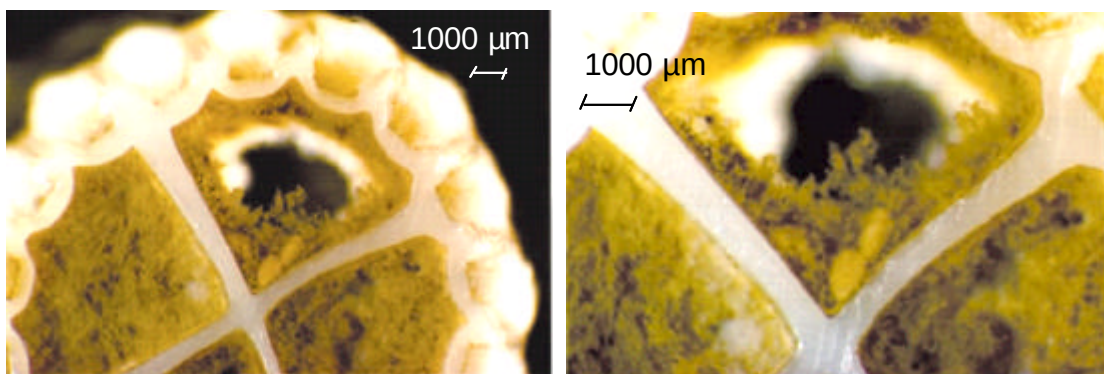


Figura 4.17. Detalle de los anillos Kaldnes después de retrolavar.

Las observaciones hechas con el microscopio confocal láser de barrido y utilizando un método cualitativo de hibridación fluorescente *in situ*, indicaron la presencia de bacterias amonio y nitrito-oxidantes en la parte superficial y hasta aproximadamente 2 mm de profundidad de la parte axial Kaldnes (Figura 4.18).

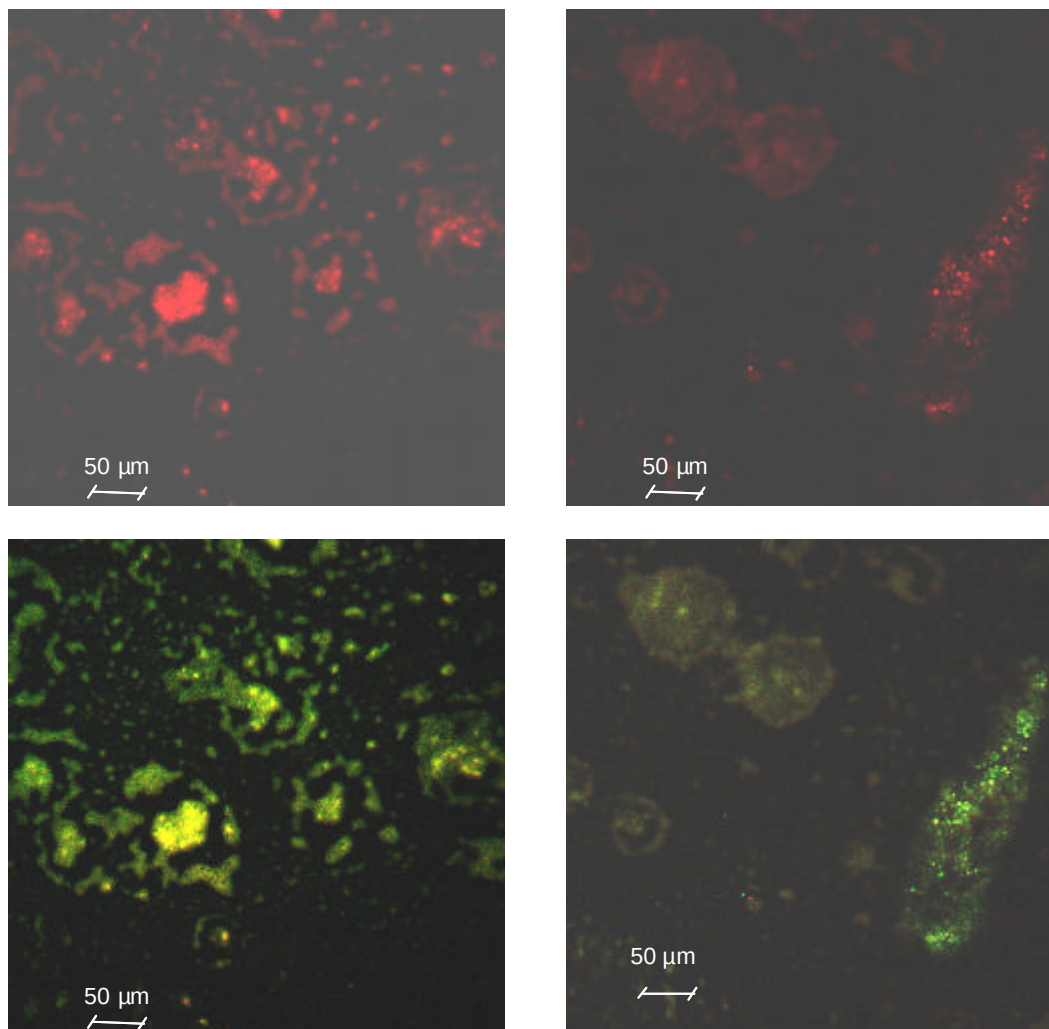


Figura 4.18. Determinación de bacterias-amonio oxidantes (rojo) y bacterias nitrito-oxidantes (verde) con método cualitativo de hibridación fluorescente *in situ* de Vermicon. Microscopio confocal láser de barrido

Las imágenes de la izquierda corresponden a una muestra tomada de las capas superficiales de uno de los cuatro compartimentos que conforman estos medios de soporte.

Las imágenes de la derecha corresponden a una muestra tomada de las capas profundas.

De acuerdo con los criterios de Vermicon, la presencia de las bacterias amonio-oxidante se califica dentro del grupo 3 (densidad media) para el caso de las capas superficiales y

dentro del grupo 2 (densidad baja) para las capas internas. La presencia de bacterias nitrito-oxidantes se califica dentro del grupo 4 (densidad alta) para las capas superficiales y dentro del grupo 3 (densidad media) para las capas internas. Esto indica que existe la difusión de oxígeno disuelto hacia las capas profundas de la biopelícula lo que permite la actividad de bacterias nitrificantes donde supuestamente no se esperaría que sobrevivieran. Cualitativamente se tiene menor número de células en la parte interna que en la parte externa. Gieseke *et al.* (2002) reporta que en secciones delgadas de muestras de biomasa hibridizada con diferentes sondas fluorescentes no se encontró diferencia significativa entre la estructura de la comunidad bacteriana desarrollada sobre las aletas longitudinales y la desarrollada en el espacio axial. El resultado del análisis cualitativo indicó ligeramente una mayor presencia de bacterias nitrito-oxidantes que de amonio oxidantes. Daims *et al.* (2001) reporta para biopelículas desarrolladas sobre arcilla con el aporte de aguas residuales con altos contenidos de sales y amonio que las bacterias amonio-oxidantes se hacen presentes en gran número de células y ocupan un espacio considerablemente más amplio del biovolumen total que las bacterias nitrito-oxidantes.

Experimentos realizados con biopelículas indican que la competencia dentro de la biopelícula provoca una distribución espacial no uniforme de los microorganismos, así como de la densidad y porosidad de la biopelícula. La estructura interna de las biopelículas depende principalmente de dos factores: el transporte de los substratos (difusión) y su transformación (competencia por el substrato) (Zhang *et al.*, 1994). Cuando el oxígeno es el principal factor limitante, un incremento en la carga orgánica puede causar un mayor consumo de oxígeno por parte de los microorganismos heterótrofos, lo cual se traduce en una inhibición en los procesos de la nitrificación como una consecuencia del déficit de oxígeno (Zhang *et al.*, 1994).

4.2.5.2 Esferas Liapor

Para describir la apariencia física de la biopelícula desarrollada sobre la superficie de las esferas Liapor se presenta una serie de imágenes tomadas con microscopio estereoscópico y confocal láser. La superficie de las esferas Liapor es rugosa, lo que facilita la colonización de bacterias. La Figura 4.19 presenta muestras de las esferas antes y después del retrolavado para el primer intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d.

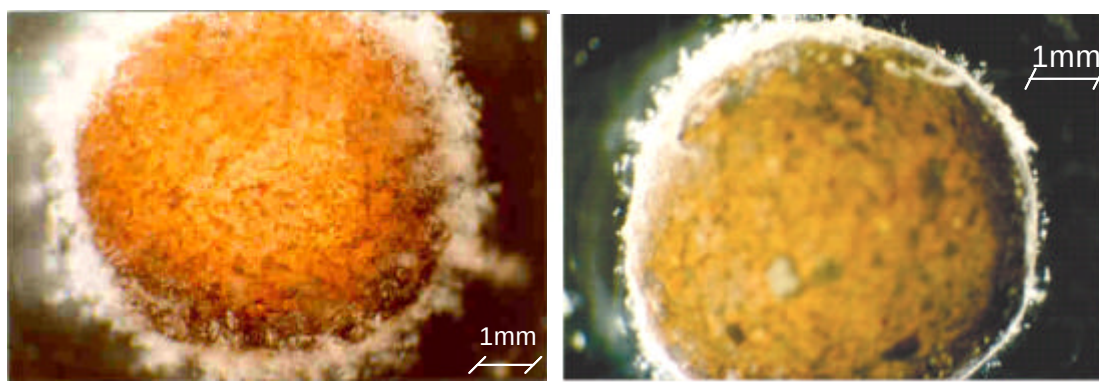


Figura 4.19. Esferas Liapor antes (izq.) y después (der.) de retrolavar Intervalo de carga orgánica 0.5-2.5 gDQO/m²·d

Antes del retrolavado, las esferas Liapor están cubiertas por microorganismos distribuidos sobre toda la superficie de este medio. Después del retrolavado solo queda una biopelícula delgada pero igualmente distribuida homogéneamente sobre toda la superficie. En el caso de la segunda carga orgánica, de 3.0-8.0 gDQO/m²·d, cambia la apariencia de la biopelícula (Figura 4.20). En este caso se tiene crecimiento irregular de biomasa a manera de mechones. Se observa un crecimiento poco homogéneo y de una consistencia más abultada.

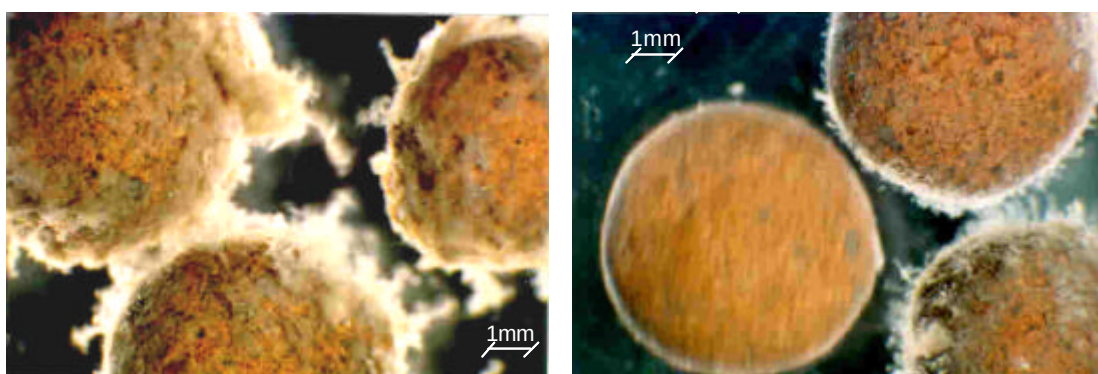


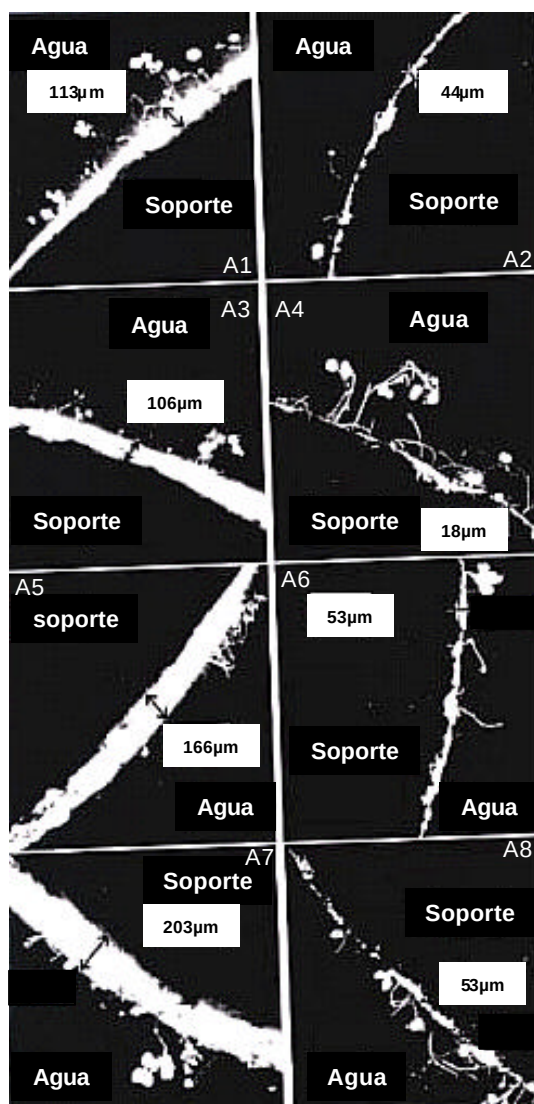
Figura 4.20. Esferas Liapor antes (izq.) y después (der.) de retrolavar
Intervalo de carga orgánica 3.0-8.0 gDQO/m²·d

En ambos casos el material ofrece poca resistencia al desprendimiento de biomasa. Los pequeños poros sobre la superficie de este material dan pocas posibilidades de que la biomasa quede protegida de las fuerzas cortantes con el consiguiente desprendimiento de la biopelícula durante el retrolavado. Esto se vio reflejado en los altos valores en la medición de SST en el retrolavado (Tabla 4.5).

Las Figuras 4.21 y 4.22 presentan imágenes captadas con el microscopio confocal láser de barrido de secciones de la superficie de muestras de esferas Liapor con biopelícula antes del retrolavado (izq.) y posterior a éste (der.). La zona clara corresponde al desarrollo de microorganismos sobre la superficie de las esferas (soporte). Puede apreciarse la diferencia de espesores de las biopelículas desarrolladas para los dos intervalos de carga orgánica. El espesor de la biopelícula formada en el primer intervalo de carga orgánica, de 0.5-2.5 gDQO/m²·d (Figura 4.21), presentó un promedio de 135±45µm antes de retrolavar y de 44±15µm después de retrolavar. Para el segundo intervalo de carga orgánica, de 3.0-8.0 gDQO/m²·d (Figura 4.22), fue de 425±237µm antes de retrolavar y de 200±127µm después de retrolavar.

Cabe mencionar que estas imágenes se tomaron durante los primeros meses de operación en este intervalo de carga orgánica. Posteriormente se pudo apreciar que el desprendimiento de la biomasa después del retrolavado fue mayor. Además, las biopelículas comenzaron a desarrollar una estructura irregular presentando las esferas en algunas zonas de su superficie un desarrollo celular a manera de mechones mientras que otras zonas estaban libres de este tipo de desarrollo. Utilizando un modelo bidimensional para una evaluación cuantitativa del efecto del transporte convectivo y difusivo del sustrato dentro de la biopelícula, muestra que biopelículas que presentan una estructura con una superficie irregular desarrolla un régimen limitado de transporte de sustrato (Picioreanu et al., 2000).

A este respecto, Kuntz (2005) menciona que es importante considerar la “edad” de las biopelículas, pues después de determinado tiempo de utilizar los mismos medios de soporte, el desarrollo bacteriano comienza a ser deficiente. Durante este estudio, tanto las esferas Liapor como los anillos Kaldnes provenían de estudios anteriores, mientras que los cubos Linpor eran nuevos. Tal vez, esta situación haya influido en los resultados obtenidos de la operación de los tres reactores.



A1. Se presenta la medición en μm de la parte más gruesa de la biopelícula.

A2. Se observa una biopelícula delgada uniforme.

A3. Estructura uniforme. Se presenta la medición de la parte más delgada.

A4. Los microorganismos que se observan con apariencia de filamentos terminados en una circunferencia son protozoarios.

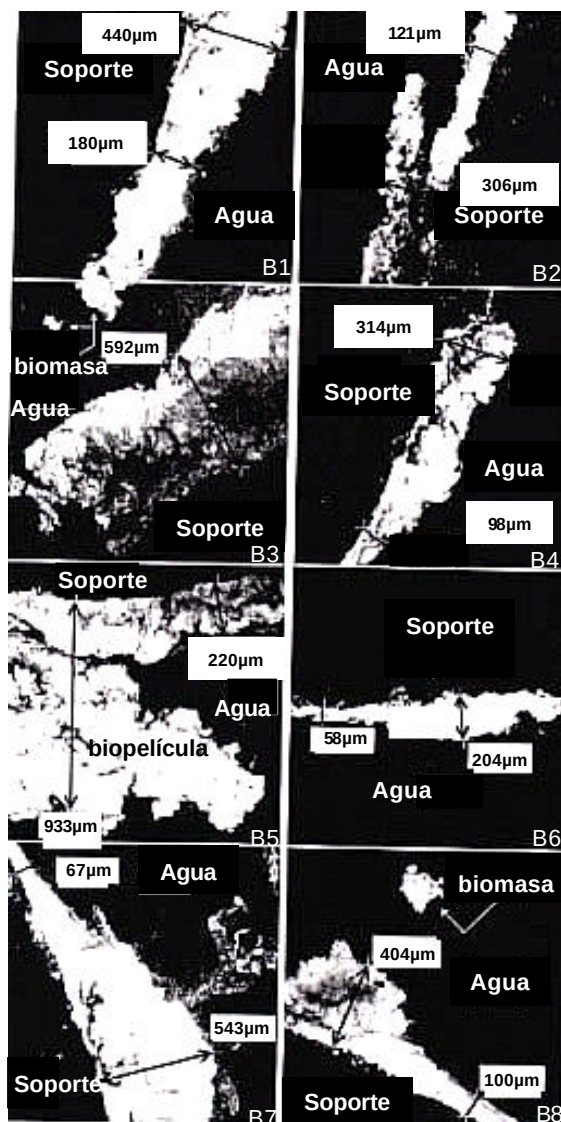
A5. En esta sección se presenta la medición de la parte más gruesa de la biopelícula.

A6. En esta imagen se puede ver como la biopelícula está fuertemente adherida a la superficie porosa de las esferas Liapor.

A7. Biopelícula uniforme con la medición más alta del espesor de las muestras observadas al microscopio. De acuerdo con Tyagy y Vembu (1990) se trata de una biopelícula totalmente penetrada.

A8. Se puede notar en esta imagen, al igual que en las anteriores, que se desprende bastante cantidad de biomasa durante el proceso quedando una película delgada.

Figura 4.21. Biopelícula desarrollada sobre la superficie de las esferas Liapor
Carga orgánica $0.5\text{-}2.5 \text{ gDQO/m}^2 \cdot \text{d}$
Imágenes captadas con el microscopio confocal láser de barrido



B1. Se muestran dos mediciones de la biopelícula, una de la parte más ancha y otra de la parte más delgada, en donde se puede apreciar que el crecimiento de la biopelícula es más irregular con cargas orgánicas más altas.

B2 y B4. Aunque se desprende una gran cantidad de biomasa permanece una estructura de espesor considerable pero con la presencia de varios canales.

B3 y B5. Se aprecia una biopelícula gruesa pero las zonas oscuras denotan un crecimiento no continuo a manera de canales. En apariencia se puede inferir que este tipo de estructura ofrece menos resistencia a las fuerzas cortantes del medio, lo cual es de esperarse de acuerdo con la literatura (Wäsche, 1999). En la parte superior de la imagen B3 se aprecia biomasa desprendida durante la manipulación de la muestra.

B7. Biopelícula de estructura irregular. En algunas zonas delgada y en otras zonas gruesa.

B8. Con cargas orgánicas más altas, las esferas Liapor presentan comúnmente una biopelícula de estructura irregular después del retrolavado.

Figura 4.22. Biopelícula desarrollada sobre la superficie de las esferas Liapor
Carga orgánica 3.0-8.0 gDQO/m²·d.

Imágenes captadas con el microscopio confocal láser de barrido

4.2.5.3 Cubos Linpor

Los cubos de Linpor mostraron una gran rigidez y no presentaron deformaciones al término del presente estudio. En un campo visual del microscopio confocal láser de barrido (CLSM) de $1296 \times 852 \mu\text{m}$ se detectaron 55 poros con un tamaño promedio del poro de $487 \pm 113 \mu\text{m}$. Como se puede apreciar en la Figura 4.23 los cubos Linpor presentan poros comunicados unos con otros, lo que le confiere a este material la propiedad de poder alojar una gran concentración de biomasa.

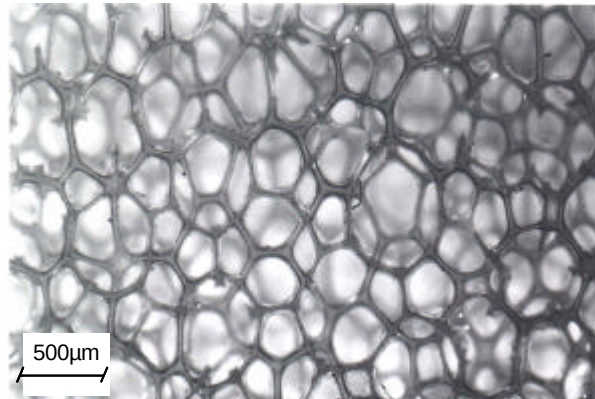


Figura 4.23. Detalle de los poros de los cubos Linpor

Al inicio del presente estudio se planteó que los poros de los cubos Linpor se llenarían de biomasa. Esta hipótesis se cumplió pues los poros estuvieron ocupados en su totalidad por microorganismos. La Figura 4.24 muestra parte de ello. Las imágenes corresponden a una muestra de los cubos Linpor antes y después del retrolavado para el intervalo de carga orgánica de $0.5\text{-}2.5 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$. Si se observa la pared lateral del cubo se puede apreciar la presencia de crecimiento filamentoso y los poros de la cara superficial se notan ocupados por biomasa.

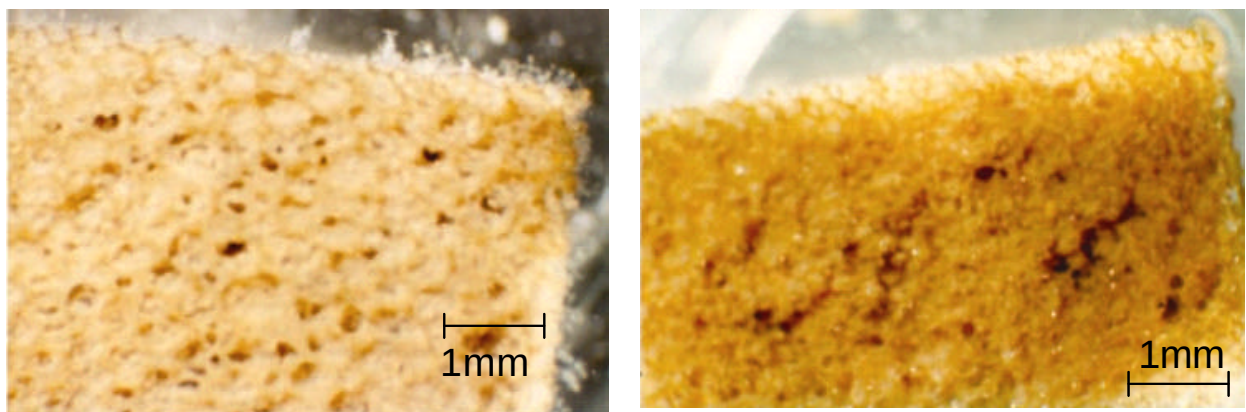


Figura 4.24. Cubos Linpor antes de retrolavar (izq.) y después de retrolavar (der.). intervalo de carga orgánica $0.5\text{-}2.5 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$. Microscopio estereoscópico, aumento 6.5x

Después del retrolavado las paredes laterales se ven libres de crecimiento filamentoso y los poros de la cara superficial también se aprecian con una población microbiana menos

densa. Se observaron condiciones similares, tanto en la superficie como en la parte interna de los cubos Linpor. La Figura 4.25 muestra la imagen de un corte que se hizo en la parte media de una muestra de los cubos. Se percibe la misma coloración y apariencia física de la biomasa en el interior que en el exterior. Esto indica una difusión de oxígeno disuelto y de nutrientes a través de todo el medio Linpor.

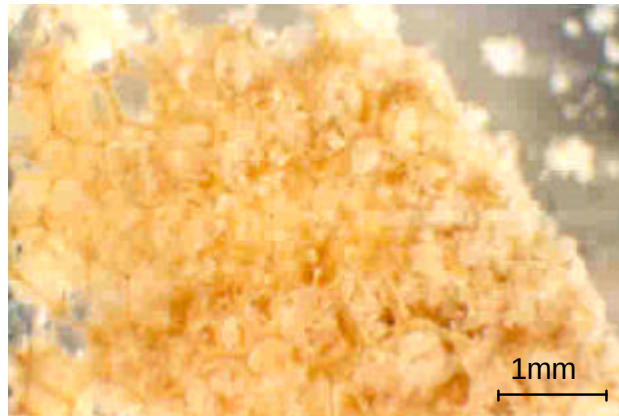


Figura 4.25. Corte de la parte media de un cubo Linpor. Microscopio estereoscópico, 10x

Para el caso del segundo intervalo de carga orgánica se tienen condiciones semejantes. La Figura 4.26 muestra imágenes de los cubos Linpor correspondientes a dicha carga orgánica antes y después de retrolavar. Al igual que el caso anterior, los poros se aprecian ocupados en su totalidad por biomasa. Se aprecia crecimiento a manera de ramas de árbol que salen de los poros, incluso algunos de los poros están cubiertos en su totalidad por biomasa. Después de retrolavar, se despeja la superficie de la proliferación de microorganismos quedando libre el contorno de los poros.

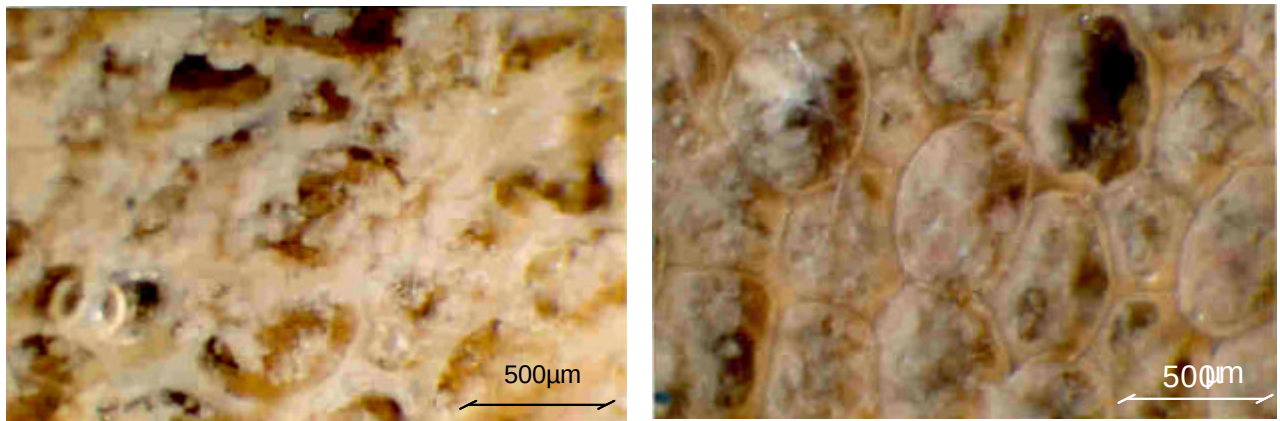


Figura 4.26 Cubos Linpor antes de retrolavar (izq.) y después de retrolavar (der.). Intervalo de carga orgánica 3.0-8.0 gDQO/m²·d. Microscopio estereoscópico, aumento 25x

En las imágenes que corresponden a la observación de los cortes realizados de las capas internas de los cubos, se aprecia que la apariencia física de la biomasa permanece sin cambios sustanciales aún después del retrolavado. Esto habla de la fuerte resistencia

mecánica que ofrece este medio para evitar el desprendimiento de la biomasa, lo cual concuerda con los datos obtenidos en la medición de los SST en el retrolavado. En varias ocasiones quedaron al descubierto organismos vermiformes, los que seguramente participaron en la regulación del desarrollo de microorganismos al depredar sobre ellos. En las imágenes que corresponden al corte de la parte interna media de muestras de Linpor, se aprecia nuevamente condiciones similares en la apariencia física de la biomasa desarrollada, tanto en los poros superficiales como en los internos (Figura 4.27).

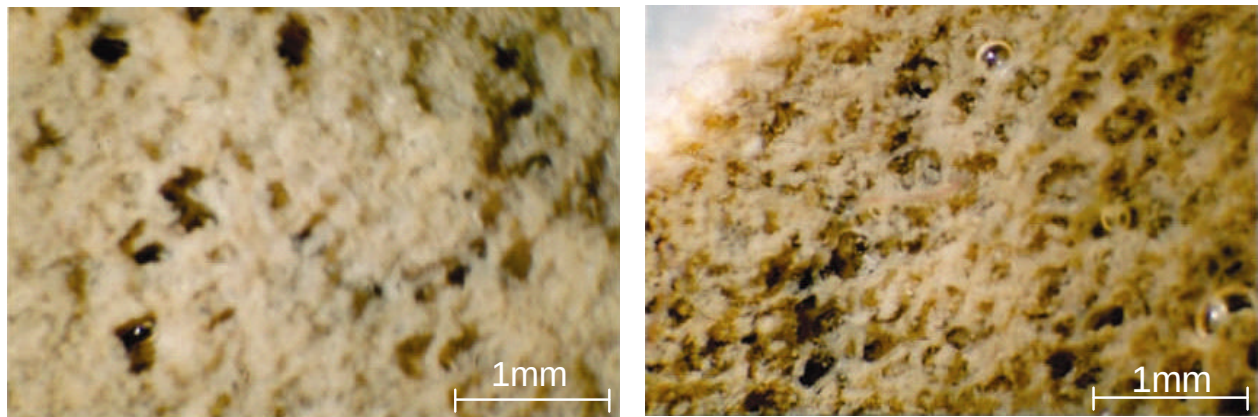


Figura 4.27 Cortes de la parte media interior de cubos Linpor. Antes del retrolavado (izq.) y después del retrolavado (der.). Microscopio estereoscópico, aumento 25x.

Las pruebas cualitativas aplicadas con Vermicon arrojaron resultados similares a los obtenidos con los anillos Kaldnes. Se detectó la presencia de bacterias nitrificantes en los poros internos de la parte media de los cubos Linpor. En la Figura 4.28 se presentan imágenes en la detección de nitrificantes de muestras de biomasa tomadas en los poros superficiales y en los poros internos de los cubos Linpor. Con base en los criterios de Vermicon las bacterias amonio-oxidantes calificaron dentro de la categoría del grupo 3 (densidad media) para las capas superficiales y dentro de la categoría del grupo 2 (densidad baja) para las capas internas. Las bacterias nitrito-oxidantes calificaron dentro del grupo 4 (densidad alta) para las capas superficiales y dentro de la categoría del grupo 3 (densidad media) para las capas internas. En resumen, se tiene un mayor número de células presentes en los poros externos que en los poros internos. De igual manera, la presencia de bacterias nitrito-oxidantes es ligeramente mayor a la de bacterias amonio-oxidantes.

En un principio se esperaba encontrar condiciones anóxicas o anaerobias en el interior de los cubos Linpor, suponiendo el desarrollo de una biopelícula que se formara hacia el interior del material y pensando en las dimensiones de los cubos Linpor al tener 15 mm por lado, se pensó en una biopelícula gruesa de 6-7 mm de espesor. Sin embargo, la presencia de las bacterias nitrificantes en los poros internos, aunado a las imágenes tomadas con el microscopio estereoscópico de cortes del material en su parte interna (Figuras 4.25 y 4.27), permiten afirmar que hubo difusión de oxígeno disuelto y de nutrientes a través de los poros hasta llegar a la zona interna del material. Con estas observaciones, y con los resultados que se obtuvieron en la eliminación de fosfatos, se concluye que los procesos de desnitrificación que se realizaron en el sistema corrieron por cuenta de organismos acumuladores de fosfatos (PAOs, por sus siglas en inglés

Phosphate accumulating organisms). Se ha comprobado que cierto tipo de organismos acumuladores de fosfatos tienen la capacidad de desnitrificar bajo condiciones anóxicas (Barker y Dold, 1996; Falkentoft *et al.*, 2001). Kuba *et al.* (1997) establecen que la ocurrencia de este tipo de bacterias que desnitrifican en plantas de tratamiento a escala completa depende en gran medida de los procesos de diseño y control de cada planta en particular. Ellos investigaron dos plantas de tratamiento y encontraron que, de la población de bacterias acumuladoras de fosfatos presente en cada planta, pudieron desnitrificar del 10-30% y de 30-50%, respectivamente (Kuba *et al.*, 1997).

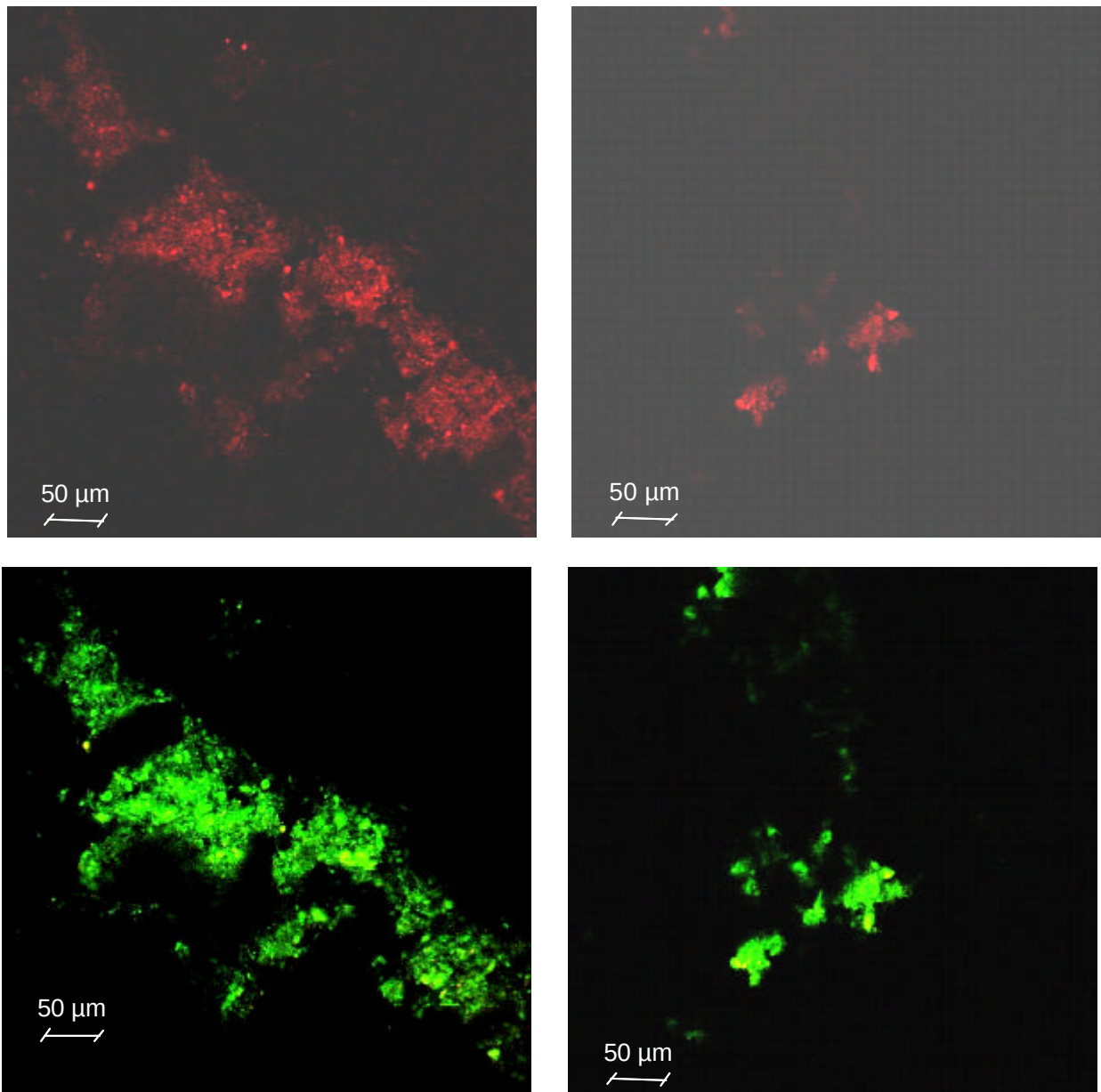


Figura 4.28. Bacterias amonio-oxidantes (rojo) y bacterias nitrito-oxidantes (verde). Microscopio confocal láser de barrido. Muestras colectadas de la biomasa que proliferó en los poros superficiales (izq.) y en los poros internos (der.) de cubos Linpor

4.2.6 Análisis de dos ciclos representativos de operación

Para un mejor análisis del comportamiento de los reactores se presentan los resultados obtenidos de un ciclo representativo de operación de ocho horas correspondiente al día experimental 241 y del día experimental 352. Estos dos ciclos representan, el comportamiento característico de la operación de los reactores durante los dos intervalos de carga orgánica manejados durante el presente estudio que fueron de 0.5-2.5 gDQO/m²·d y de 3.0-8.0 gDQO/m²·d, respectivamente (ver Apéndice 5). En los gráficos que se presentan el tiempo cero corresponde a los valores del agua residual a la entrada de los reactores y la línea punteada en el minuto 120 indica el término de la fase anaerobia y el inicio de la fase aerobia (ver Subcapítulo 3.4 del capítulo de materiales y métodos).

4.2.6.1 Anillos Kaldnes

DQO total y soluble-1er ciclo. La Figura 4.29-A presenta el análisis del primer ciclo correspondiente al reactor empacado con anillos Kaldnes. Se registró un valor a la entrada del reactor de 109 mgDQOtotal/L y de 45 mgDQOsoluble /L. Durante las primeras dos horas, tiempo en que el reactor opera bajo condiciones anaerobias la DQO total decrece en un 25 por ciento y la DQO soluble en un 29 por ciento. Este decremento en los valores de DQO se atribuye a fenómenos de adsorción y lisis. Se han propuesto diferentes conceptos de cómo se efectúa la hidrólisis de materia orgánica particulada en reactores con biopelícula.

Bouwer (1987) establece que, como primer paso de los procesos de transformación, las partículas tienen que ser adsorbidas a la superficie de la biopelícula. La adhesión puede ocurrir debido a procesos de difusión, sedimentación o captura de las partículas sobre la superficie gelatinosa. Una vez que se inicia la inyección de aire, y durante la primera hora de la fase aerobia, la DQO total disminuye 45 por ciento más y prácticamente se mantiene así el resto del ciclo para terminar en el efluente con un valor de 48 mg/L para un porcentaje de remoción del 56 por ciento.

En el caso de la DQO soluble ocurrió algo similar, durante la primera hora de aireación la DQO soluble decrece 22 por ciento y se mantiene así el resto del ciclo para terminar con un valor de 31 mg/L en el efluente lo que equivale a una de remoción del 31 por ciento. Con base en estos resultados y hablando de eliminación de materia orgánica medida como DQO, se puede pensar en reducir los tiempos de reacción para cargas orgánicas por debajo de 2.5 gDQO/m²·d, pues después de la tercera hora de operación, la DQO se mantiene sin cambios representativos en las subsiguientes cinco horas para finalizar el ciclo.

Compuestos nitrogenados-1er ciclo. En la Figura 4.29-B se puede apreciar el comportamiento de los compuestos nitrogenados y fosforados durante el ciclo correspondiente al día experimental 241. En esa ocasión el influente presentó una concentración de amonio de 22 mg N-NH₄/L.

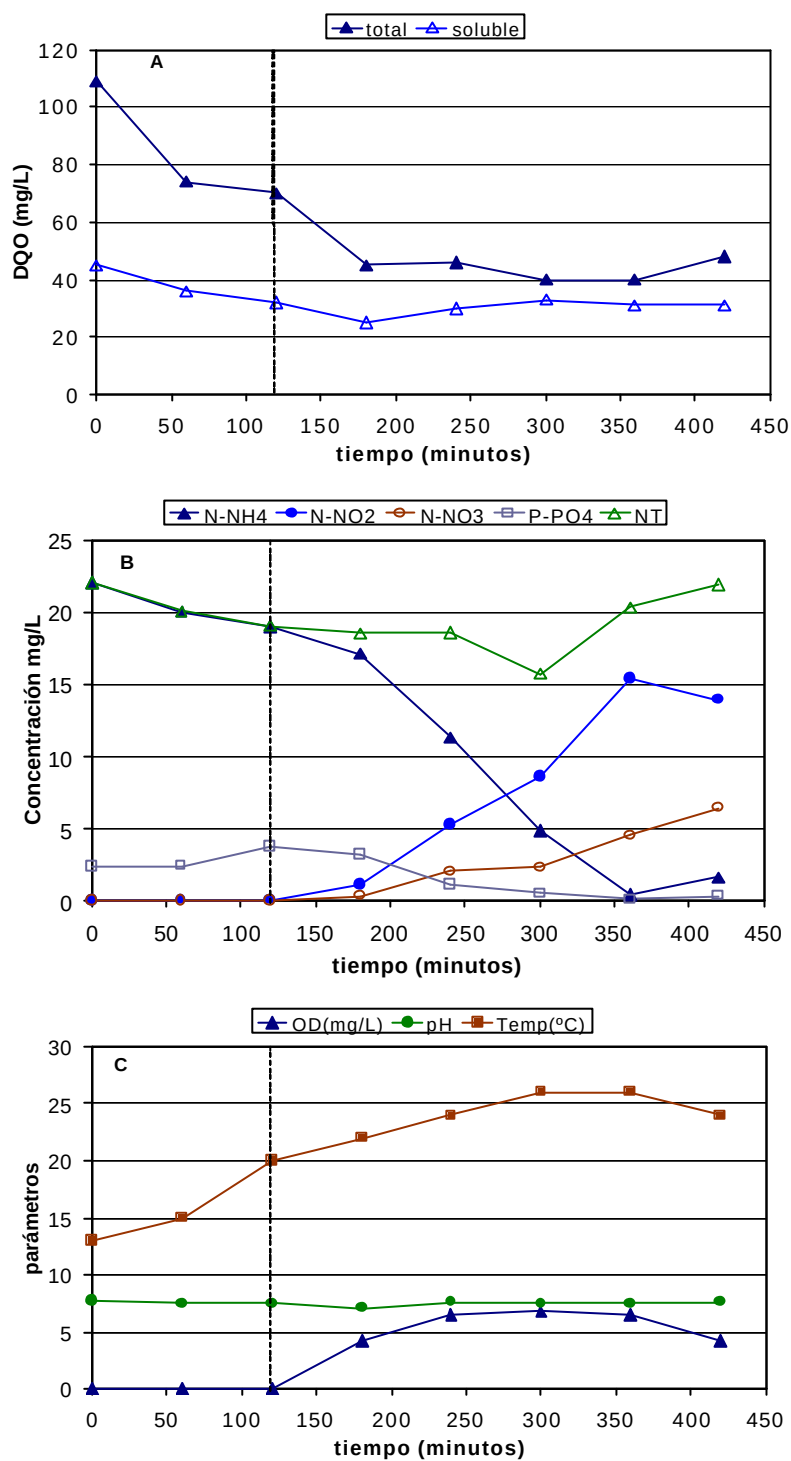


Figura 4.29. Reactor empacado con anillos Kaldnes. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas. Intervalo de carga orgánica 0.5-2.5g DQO/m²·d

Durante las dos primeras horas del ciclo, fase anaerobia, la concentración de N-NH₄ decrece en un porcentaje del 14 por ciento (de 22 a 19 mg/L). Como es del conocimiento

común, sin la presencia de oxígeno molecular no puede haber actividad de bacterias nitrificantes que transformen el nitrógeno amoniacal en nitrógeno de nitrato. Este ligero decremento de nitrógeno de amonio durante la fase anaerobia se atribuye a efectos de adsorción de las moléculas con compuestos nitrogenados a los medios de soporte con biopelícula. Se tienen reportes similares de este fenómeno para lodos activados (Nielsen, 1996) y para SBBR con Kaldnes (Gieseke *et al.*, 1999, 2002) en donde la adsorción de amonio a los flóculos o medios con biopelícula puede explicar la reducción inicial de amonio sin la producción simultánea de nitrito y nitrato en el seno del líquido.

La influencia de la presencia de oxígeno molecular es evidente, en cuanto se inyecta aire para dar inicio a la fase aerobia la concentración de amonio disminuye en el seno del líquido, principalmente a partir del minuto 180. Partiendo de la segunda hora de operación, una vez que finaliza la fase anaerobia, el N-NH_4 decrece en un 92 por ciento. Considerando el ciclo completo desde la entrada de agua al sistema se obtuvo una remoción de nitrógeno amoniacal del 93 por ciento.

De igual manera, la presencia de nitritos y nitratos se tiene a partir de que inicia la fase aerobia. La concentración de ambos compuestos incrementa conforme pasa el tiempo. Al observar los resultados de la Figura 4.29-B, se puede apreciar que el nitrógeno amoniacal sufrió una transformación completa a través de los procesos de nitrificación. La línea verde representa el comportamiento del nitrógeno total inorgánico a lo largo del ciclo de operación. El nitrógeno inorgánico a la entrada del reactor, tiempo cero, está constituido prácticamente por el nitrógeno amoniacal y, por consiguiente, durante las dos primeras horas de reacción anaerobia, tiempo durante el cual no se tiene aún actividad de las bacterias nitrificantes. Se considera que el nitrógeno orgánico pasa a formar parte del material celular, por lo que el nitrógeno total lo constituyen el nitrógeno amoniacal y los productos que resultan de los procesos de nitrificación (nitritos y nitratos). A continuación se presenta el balance de masa de las concentraciones de influente y efluente:

$$\text{N-NH}_4 \text{ influente} = (\text{N-NH}_4 + \text{N-NO}_2 + \text{N-NO}_3)_{\text{efluente}}$$

$$22\text{mgN-NH}_4/\text{L} = 1.6 \text{ mgN-NH}_4/\text{L} + 13.9 \text{ mgN-NO}_2/\text{L} + 6.4 \text{ mgN-NO}_3/\text{L}$$

$$22\text{mg/L} = 21.9 \text{ mg/L} + \alpha$$

donde α = error

Con estos valores se considera que los procesos de desnitrificación fueron mínimos. Se ha mencionado que bajo condiciones de una biopelícula totalmente penetrada por el oxígeno molecular y bajas cargas orgánicas se tiene una población microbiana predominantemente autótrofa, por lo que las bacterias heterótrofas, en este caso, las bacterias capaces de desnitrificar, su presencia es menor (Zhang *et al.*, 1994; van Loosdrecht *et al.*, 1999). Se debe de tomar en cuenta, que en este sencillo análisis no se consideró el nitrógeno orgánico. Se considera que el nitrógeno orgánico fue sintetizado por la población microbiana para formar nuevo material celular. Más adelante se presenta un balance de nitrógeno total, considerando el nitrógeno orgánico y el inorgánico, de valores promedio obtenidos durante los procesos experimentales. Hablando de los procesos de nitrificación se considera que el tiempo de reacción aerobia es el adecuado para lograr

una transformación completa del nitrógeno amoniacal tal y como lo sugieren estudios realizados anteriormente (Morgenroth, 1998; Arnz, 2001).

Ortofosfatos-1er ciclo. Durante el análisis del ciclo representativo de operación correspondiente al día experimental 241 se puede ver que se tuvo actividad de las bacterias eliminadoras de fósforo (Figura 4.29-B). Durante la fase anaerobia del ciclo, la concentración de $P-PO_4$ incrementó en un 60 por ciento, lo que habla de una liberación de orto-fosfatos por parte de las bacterias que tienen la capacidad de almacenar fósforo como fuente de reserva. Una vez que se inicia la aireación del reactor la concentración de orto-fosfatos disminuye paulatinamente en el seno del líquido hasta alcanzar un porcentaje de remoción de orto-fosfatos del 87 por ciento en el efluente.

Para complementar el análisis del ciclo representativo de ocho horas de operación se presenta en la Figura 4.29-C el comportamiento del oxígeno disuelto (OD), la temperatura (Temp) y pH. Al observar la línea de tendencia que representa al OD se puede notar durante la fase aerobia que la concentración de oxígeno aumenta durante las dos primeras horas de aireación hasta alrededor de 6.5 mg/L y se mantiene así durante las subsiguientes dos horas para al final del ciclo bajar hasta 4.2 mg/L. La temperatura incrementó hasta un intervalo de 24-26 grados centígrados, temperatura aceptable para el metabolismo de las bacterias. En cuanto al valor de pH se mantuvo sin variaciones significativas durante el ciclo, presentando un valor a la entrada del sistema de 7.7 y variando durante el ciclo principalmente entre un valor de 7.5 y 7.6.

DQO total y soluble-2º ciclo. Por lo que respecta al segundo ciclo bajo análisis, correspondiente al día experimental 352, la DQO total en la entrada del sistema fue de 95 mg/l y la DQO soluble de 44 mg/L (Figura 4.30-A). En este caso se determinó la DQO inmediatamente después del llenado del reactor (minuto 30). Para el reactor empacado con los anillos Kaldnes, la DQO total se mantuvo sin cambios de consideración durante esta fase, con una concentración de 94 mg/L al término de la media hora de llenado. Durante la fase anaerobia el valor de la DQO total decreció hasta un valor cercano a 76 mg/L, lo que representa un decremento del 20% con respecto a la DQO total de entrada. Una vez que se inyectó aire para dar comienzo a la fase aerobia, la DQO total continuó disminuyendo hasta llegar a un valor en el efluente de 30 mg/L, lo que corresponde a un porcentaje de remoción total del 68 por ciento.

Durante la fase de llenado, la DQO soluble se comporta de forma similar a la de la DQO total, presentando un ligero decremento de una unidad al término de la media hora de llenado (de 44 a 43 mg/L). Durante la fase anaerobia, la DQO soluble en el seno del líquido decrece hasta un valor de 38 mg/L, lo que representa un decremento del 14% con respecto al valor de entrada. La DQO soluble continúa disminuyendo paulatinamente durante la fase aerobia hasta un valor en el efluente de 21 mg/L lo que corresponde a un porcentaje de remoción total del 52 por ciento. En el análisis del primer ciclo, ya se habló acerca de la fenomenología de este proceso.

Compuestos nitrogenados-2º ciclo. Para el segundo ciclo bajo análisis, esto es el día experimental 352, la concentración de amonio a la entrada del sistema fue de 39 mgN- NH_4/L (Figura 4.30-B). Durante el llenado (minuto 30) la concentración de amonio decrece ligeramente a un valor de 36 mgN- NH_4/L , lo cual como ya se ha explicado en el ciclo anterior, se atribuye a fenómenos de adsorción del amonio a la superficie de los medios de

soporte. Una vez que inicia la recirculación del agua y sin la presencia de oxígeno molecular (fase anaerobia) la concentración de amonio incrementa hasta alcanzar el valor inicial de entrada de 39 mgN-NH₄/L.

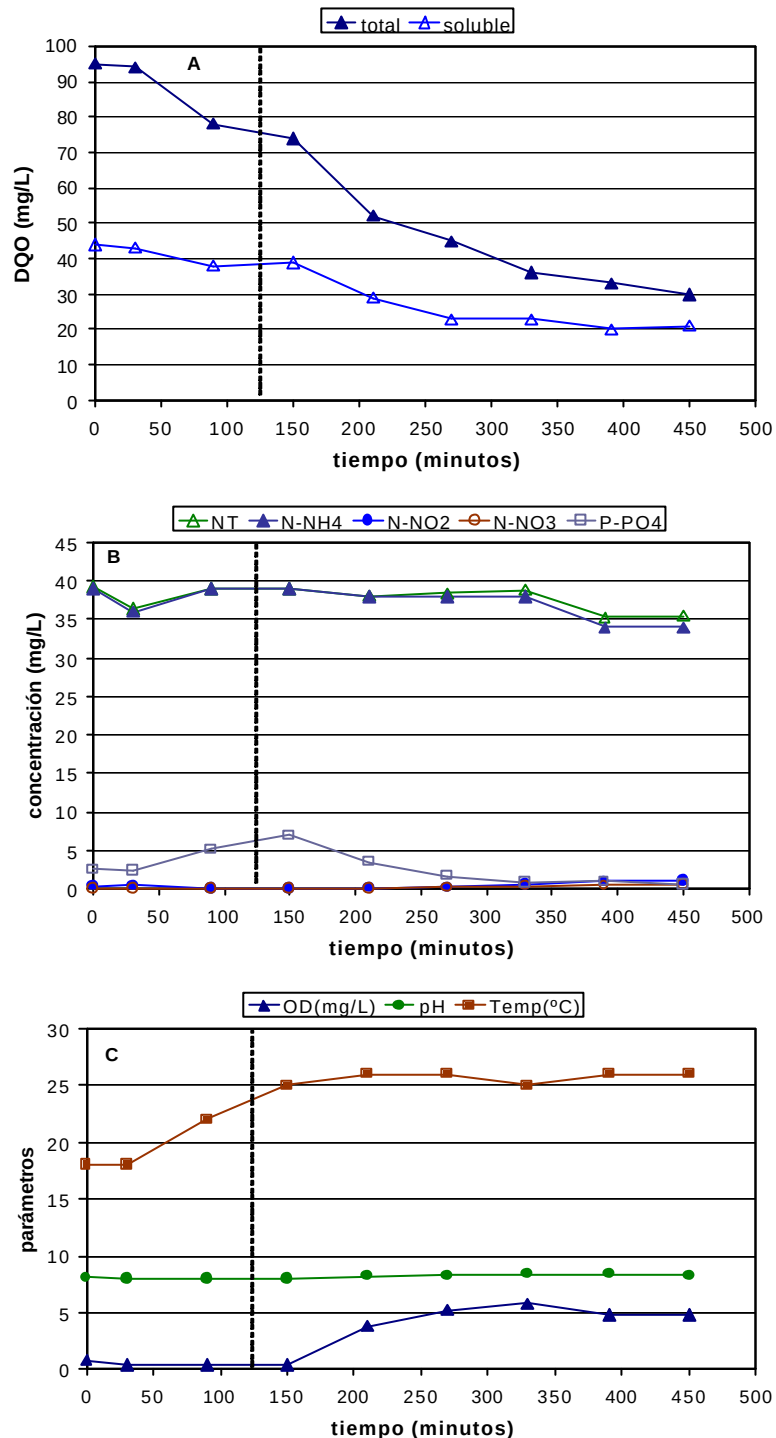


Figura 4.30. Reactor empacado con anillos Kaldnes. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas. Intervalo de carga orgánica 3.0-8.0g DQO/m²·d.

Esta variación puede considerarse no significativa, pues es una variación de menos de 10 por ciento. Sin embargo, puede darse una explicación fenomenológica para fines de interpretación de los resultados. Se ha reportado para el caso de los anillos Kaldnes, comportamientos similares en el que la concentración de amonio incrementa durante la fase anaerobia. Se infiere que al final del ciclo de operación anterior, durante la fase de vaciado, la película de agua que queda adherida a la superficie de la biopelícula contiene residuos de N-NH_4 que no fueron eliminados durante el proceso, lo cual influye en la medición del agua residual entrante del siguiente ciclo de operación (Arnz *et al.*, 2000). En el caso del segundo intervalo de carga orgánica, y tomando como patrón el ciclo bajo estudio, se observa que al término de cada ciclo queda una concentración considerable de amonio remanente.

Durante las primeras horas de reacción de la fase aerobia (minuto 120) la concentración de amonio se mantiene alrededor de $39 \text{ mgN-NH}_4/\text{L}$. No es sino hasta después del minuto 350 que la concentración de amonio disminuye ligeramente a una concentración de $34 \text{ mgN-NH}_4/\text{L}$ al final del ciclo, lo que equivale a un pobre porcentaje de remoción del 10 por ciento.

Este comportamiento fue característico en el reactor con lecho Kaldnes durante el segundo intervalo de carga orgánica manejado en este estudio, en el que la actividad de las bacterias nitrificantes resultó significativamente disminuida. Este comportamiento está ligado con los resultados obtenidos en la determinación del parámetro adimensional de penetración del oxígeno molecular (Sección 4.2.7.5), en el que resultó que el oxígeno no penetró totalmente a través de la biopelícula, afectando el metabolismo de las bacterias nitrificantes que pudieran haberse establecido en las capas internas. La baja presencia de nitritos y nitratos son consecuencia de esta misma explicación.

La diferencia que existe, entre los compuestos nitrogenados del influente con respecto al efluente, en el balance de nitrógeno inorgánico muestra que el poco material que resulta del producto de la nitrificación fue ocupado para material celular, o bien, fue transformado por procesos de desnitrificación (Figura 4.30-B).

$$\text{N-NH}_4 \text{ influente} = (\text{N-NH}_4 + \text{N-NO}_2 + \text{N-NO}_3)_{\text{efluente}}$$

$$39 \text{ mgN-NH}_4/\text{L} = 34 \text{ mgN-NH}_4/\text{L} + 1.0 \text{ mgN-NO}_2/\text{L} + 0.5 \text{ mgN-NO}_3/\text{L}$$

$$39 \text{ mg/L} = 35.5 \text{ mg/L} + \alpha;$$

donde α = error

Orto-fosfatos-2º ciclo. La concentración de orto-fosfatos en la entrada del sistema fue de $2.5 \text{ mgP-PO}_4/\text{L}$ (Figura 4.30-B). Durante los 30 minutos de llenado la concentración de orto-fosfatos disminuye ligeramente a un valor de 2.3 mg/L . La explicación a este fenómeno se atribuye a la presencia en las capas internas de la biopelícula de oxígeno molecular remanente de la fase aerobia del ciclo anterior de operación. Por consiguiente, si al iniciar el ciclo de operación bajo condiciones anaerobias existen oxígeno molecular, nitratos y nitritos, en las capas internas los microorganismos consumirán rápidamente toda la cantidad de sustrato posible por vía óxica y el fenómeno de liberación de fósforo se

detendrá, y será sustituido por el de captación (Kerrn-Jespersen y Henze, 1993; Castillo *et al.*, 1999).

Una vez que inicia la recirculación del agua, este valor incrementó hasta cerca de 6 mgP-PO₄/L (cerca del 140% con respecto al influente) al final de la fase anaerobia (minuto 120). Lo cual habla de la presencia de las bacterias acumuladoras de fósforo, liberando cadenas de orto-fosfatos. Al observar una vez más la Figura 4.29-B se puede notar que la liberación de orto-fosfatos continúa durante la fase aerobia hasta el minuto 150 alcanzado una concentración en el seno del líquido de 6.9 mgP-PO₄/L (176% con respecto al influente). Después del minuto 150 empieza a decrecer la concentración de P-PO₄ en el seno del líquido hasta un valor de 0.5 mg P-PO₄/L para un porcentaje de remoción del 80 por ciento. Lo cual confirma la actividad por parte de las bacterias acumuladoras de fósforo.

La Figura 4.30-C muestra las mediciones de oxígeno disuelto, temperatura y pH durante el ciclo bajo análisis. Como se podrá ver el oxígeno disuelto, una vez que inicia la inyección de aire para la fase aerobia (minuto 120), durante los primeros minutos se mantuvo por abajo de 2 mg/L lo cual se vio reflejado en el desfase de una hora en la transformación de amonio y la liberación de orto-fosfatos (Figura 4.30-B). Después del minuto 150 la concentración de OD comienza a subir hasta alcanzar el máximo valor de 5.8 mg/L alrededor del minuto 350 y posteriormente bajar hasta una concentración de 4.8 mg/L al final del ciclo. La temperatura incrementó hasta 26 grados centígrados y el valor del pH se mantuvo sin muchas fluctuaciones durante el ciclo alrededor de un valor de 8.

4.2.6.2 Esferas Liapor

DQO total y soluble -1er ciclo. La Figura 4.31-A muestra el comportamiento de la DQO total y soluble para el día experimental 241. La DQO influente fue de 109mg DQOtotal/L y 45mg DQOsoluble/L. Durante la fase anaerobia la DQO total disminuyó hasta un valor de 51mg DQO/L (53%) y la DQO soluble hasta 31mg DQO/L (44%). Como se mencionó con los anillos Kaldnes esta disminución en los valores de DQO se atribuye a procesos de lisis y adsorción. Una vez que inicia la fase aerobia la DQO continúa disminuyendo hasta el minuto 300 presentando valores de 17 y 15 mg/L de DQO total y soluble, respectivamente. A partir del minuto 300 no se tienen cambios en ambos valores hasta terminar el ciclo con 89 por ciento de remoción de DQO total y 67 por ciento de remoción de DQO soluble.

Al igual que con los anillos Kaldnes, si se considera únicamente la remoción de material carbonoso, bastaría operar el reactor hasta el minuto 300, pues después de ese tiempo, los cambios en los valores de DQO total y soluble no son significativos, y con un porcentaje de remoción aceptable.

Compuestos nitrogenados-1er ciclo. La Figura 4.31-B presenta el análisis de los compuestos nitrogenados y orto-fosfatos durante el ciclo correspondiente al día experimental 241 (primer intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d). En esa ocasión el amonio entró al sistema con una concentración de 22 mgN-NH₄/L y la presencia de nitrito y nitrato fue nula. Durante las dos primeras horas de reacción sin presencia de oxígeno molecular la concentración de amonio disminuyó de 22 a 18 mgN-NH₄/L (18%).

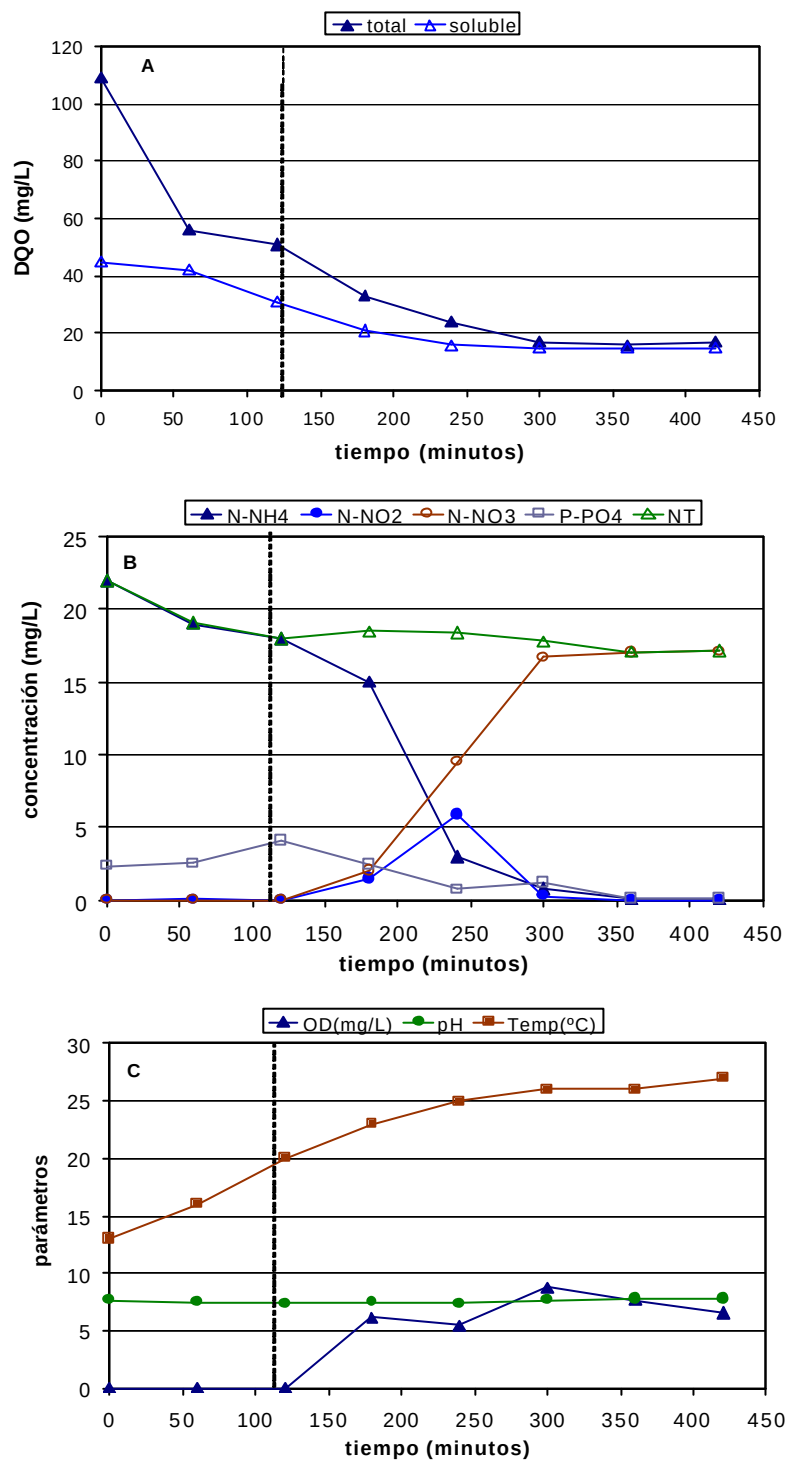


Figura 4.31. Reactor empacado con esferas Liapor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas. Intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5g DQO/m²·d

Como es de esperarse continúa siendo nula la presencia de nitrógeno de nitrito y nitrato durante esta fase anaerobia, pues el metabolismo de las bacterias nitrificantes es

estrictamente aerobio. Es por ello que la disminución de amonio en el seno del líquido se atribuye a efectos de adsorción de algunos compuestos nitrogenados a la biopelícula desarrollada sobre la superficie de las esferas Liapor. Una vez que inicia la inyección de aire, se aprecia la actividad de las bacterias nitrificantes con un decremento notorio en la concentración de nitrógeno amoniacal y la presencia de nitratos en el seno del líquido.

La concentración de amonio en el seno del líquido decrece durante la primera hora de la fase aerobia hasta 15 mgN-NH₄/L y posteriormente decrecer drásticamente hasta 3 mgN-NH₄/L en el minuto 240, que es cuando se considera que se tiene un equilibrio en el gradiente de concentración entre el seno del líquido y las capas internas de la biopelícula desarrollada sobre el medio de soporte que está participando en los procesos de nitrificación. El amonio residual continúa transformándose hasta el minuto 360 donde se tienen concentraciones de 0.6 mgN-NH₄/L en el seno del líquido y se mantiene así hasta el final del ciclo, logrando una completa nitrificación del nitrógeno amoniacal bajo condiciones de cargas orgánicas bajas.

El nitrógeno de nitrito y nitrato aparece en el seno del líquido inmediatamente después de que inicia la inyección de aire por actividad de las bacterias nitrificantes, quienes transforman el nitrógeno amoniacal en nitritos y nitratos. La concentración de nitritos alcanzó un valor hasta de 5.9 mgN-NO₂/L en el minuto 240 y después baja drásticamente a partir del minuto 360, y hasta el final del ciclo, hasta alcanzar valores despreciables. La concentración de nitratos en el seno del líquido incrementó ligeramente durante la primera hora de aireación (minuto 180) a un valor de 2 mgN-NO₃/L y posteriormente aumentar a un valor de 17 mgN-NO₃/L en el minuto 300 y mantenerse así hasta el final del ciclo. En este primer intervalo de carga orgánica se tiene un comportamiento estable del reactor con una excelente nitrificación. En el apartado 4.2.2 se da una explicación de cómo se lleva a cabo la difusión de los productos de la oxidación del amonio en las biopelículas, en donde se tiene una difusión inicial parcial de los nitritos hacia las capas internas y hacia el exterior de la biopelícula durante los primeros minutos de aireación. Esto provoca que se dé un gradiente de difusión en el seno del líquido con la mayor presencia de nitritos y le menor presencia de nitratos, hasta que se logra un mayor gradiente de concentración hacia el interior de la biopelícula en donde los nitritos son transportados y transformados a nitratos (Nijhof y Klapwijk, 1995).

A continuación se presenta el balance de nitrógeno orgánico para este ciclo:

$$N-NH_4 \text{ influente} = (N-NH_4 + N-NO_2 + N-NO_3)_{\text{efluente}}$$

$$22\text{mgN-NH}_4/\text{L} = 0.1 \text{ mgN-NH}_4/\text{L} + 0.0 \text{ mgN-NO}_2/\text{L} + 17.1 \text{ mgN-NO}_3/\text{L}$$

$$22\text{mg/L} = 17.2 \text{ mg/L} + \alpha$$

donde α = error

Orto-fosfatos-1er ciclo. En la Figura 4.31-B se ve que la concentración de orto-fosfatos en el seno líquido incrementa durante la fase anaerobia en un 73 por ciento de un valor de 2.35 a 4.06 mgP-PO₄/L (minuto 120). Una vez que inicia la fase aerobia la concentración de este compuesto decrece rápidamente hasta llegar a valores inferiores a 0.1 g mgP-

PO_4/L en el minuto 360 y mantenerse así hasta el final del ciclo para una eliminación biológica de orto-fosfatos del 95 por ciento. Como se mencionó con los anillos Kaldnes, este comportamiento indica la presencia de bacterias acumuladoras de fosfato. En el tiempo de contacto anaerobio, las bacterias que intervienen en la eliminación biológica del fósforo, usan sus reservas intracelulares de polifosfatos como fuente de energía, y almacenan sustratos orgánicos simples, como los ácidos grasos volátiles (AGV), lo que favorece la liberación de fósforo como cadenas cortas de orto-fosfatos durante la fase anaerobia.

Durante la fase aerobia, las bacterias usan sus reservas de carbono como fuente de energía y acumulan más fósforo que el liberado en la fase previa, almacenando este elemento por encima de sus necesidades estequiométricas (Garzón-Zúñiga y González-Martínez, 1996; Muñoz-Colunga y González Martínez, 1996). Al finalizar esta fase, la biomasa rica en fósforo debe ser retirada por medio del retrolavado, para completar el proceso de eliminación biológica de fósforo (ver Apartado 3.4 de materiales y métodos).

La Figura 4.31-C presenta los valores de oxígeno disuelto, pH y temperatura medidos durante el análisis del primer ciclo bajo estudio en el intervalo de 0.5-2.0 gDQO/m²·d. Una vez que inicia la inyección de aire la concentración de oxígeno disuelto se dispara hasta 6 mgO₂/L durante la primera hora de la fase aerobia. En la siguiente hora de aireación baja un poco y vuelve a subir en la tercera hora para finalmente disminuir paulatinamente de nueva cuenta hasta un valor de 6 mgO₂/L. El oxígeno disuelto se mantuvo siempre por arriba del mínimo recomendable para los metabolismos aerobios y bajo condiciones estables de operación que es de 2.0 mgO₂/L (Barnes y Bliss, 1983; WEF 1992).

El valor de pH se mantuvo sin grandes fluctuaciones a lo largo del ciclo de ocho horas iniciando con un valor de 7.7 (influyente, minuto cero) y terminando con un valor de 7.8. Esto indica que el sistema es estable y con una buena capacidad amortiguadora. La temperatura del agua incrementó de 13 grados centígrados, que es la temperatura con la que entra el agua al sistema, hasta alcanzar 26 grados centígrados en el seno del líquido. Cabe recordar que se contó con un sistema de recirculación durante el cual la línea de conducción del agua se hacía pasar a través del sistema de un termostato que mantenía la temperatura del agua alrededor de 26 grados centígrados. De esta forma, por fenómenos de transferencia, se logró incrementar la temperatura del agua en los reactores experimentales.

DQO total y soluble-2º ciclo. En el caso del ciclo correspondiente al segundo intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d, el comportamiento fue diferente (Figura 4.32-A). La DQO total de entrada incrementó ligeramente durante la media hora de llenado de 95 a 99 mg/L. Esta variación (menor al 10 por ciento) puede considerarse no significativa pero para términos del análisis esto encuentra explicación en la presencia de compuestos residuales que hayan permanecido adheridos a los medios de soporte aún después del retrolavado, principalmente pensando en residuos de biopelícula y sólidos suspendidos, pues la DQO soluble no mostró este comportamiento. Una vez activado el sistema de recirculación la DQO total comienza a decrecer hasta un valor alrededor de 75 mg/L al final de la fase anaerobia, lo que representa un decremento del 21% con respecto al valor de entrada. Durante la fase aerobia la DQO total continúa disminuyendo paulatinamente hasta alcanzar un valor de 29 mg/L en el efluente, lo que representa un porcentaje de remoción total del 69 por ciento.

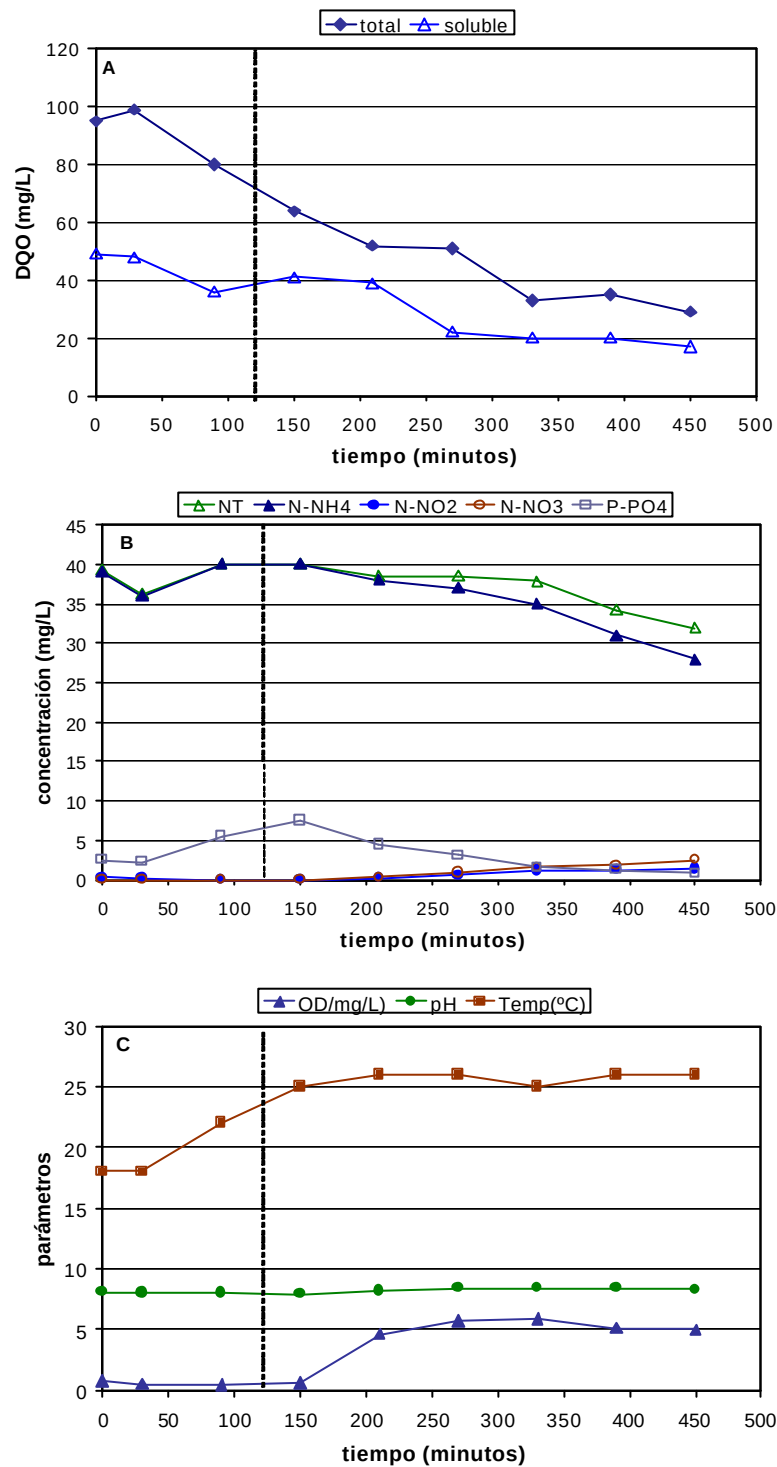


Figura 4.32. Reactor empacado con esferas Liapor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas. Intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0g DQO/m²-d.

Por lo que respecta a la DQO soluble, no se tiene cambio significativo durante el llenado del reactor, con valores de entrada de 49 mg/L y al término del llenado de 48 mg/L. Una

vez iniciada la recirculación se nota un decremento en los valores de DQO soluble, alcanzando un valor cercano a los 36 mg/L al término de la fase anaerobia (minuto 120) lo que representa un decremento del 26% con respecto al valor de entrada. Al final del ciclo se obtuvo una remoción total del 82 por ciento.

Compuestos nitrogenados-2º ciclo. La Figura 4.32-B muestra el análisis de los compuestos nitrogenados y fosforados para este ciclo. En el caso del segundo ciclo bajo análisis correspondiente al día experimental 352 y un intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d, el reactor empacado con las esferas Liapor presentó un comportamiento similar en la transformación del nitrógeno amoniacal al del reactor empacado con los anillos Kaldnes.

El amonio de entrada fue de 39 mgN-NH₄/L. La concentración de amonio en el seno líquido decrece durante la media hora de llenado a un valor de 36 mg/L. Posteriormente, una vez iniciada la recirculación, incrementa la concentración de amonio en el seno del líquido hasta alcanzar un valor de 40 mg/L al término de la fase anaerobia. La explicación a este comportamiento es la misma que se tiene para el análisis de los compuestos nitrogenados durante el segundo ciclo de operación con el reactor empacado con el lecho Kaldnes.

La transformación de amonio presenta un desfase de una hora a partir de que inicia la reacción aerobia en el minuto 120. Este desfase que se observa durante la reacción aerobia puede atribuirse al tiempo que tarda en penetrar el oxígeno a través de la biopelícula, lo que provoca que las bacterias nitrificantes que se encuentran en las capas subsiguientes a la capa de la superficie, no realicen la transformación del nitrógeno amoniacal hasta que no se encuentran abastecidas de oxígeno molecular. La transformación de amonio se retarda hasta el minuto 210 debido a que el consumo de oxígeno dentro del sistema fue bastante fuerte durante la primera hora de aireación.

Es a partir del minuto 150 que comienza a decrecer paulatinamente la concentración de amonio hasta un valor de 28 mg/L al término del ciclo de operación, lo que representa un porcentaje de remoción del 28 por ciento. En el Apartado 4.2.5 que corresponde a las observaciones en el microscopio, se habló de la poca resistencia mecánica que ofrece la biopelícula desarrollada sobre las esferas Liapor para evitar su desprendimiento ante la influencia de las fuerzas cortantes en el seno del líquido durante el segundo intervalo de carga orgánica. Se atribuye a este fenómeno, la poca actividad de las bacterias nitrificantes, pues al estar lavando continuamente a los microorganismos junto con el retrolavado, no se tuvieron las condiciones adecuadas en el tiempo de retención celular para la reproducción de este tipo de bacterias.

En el caso del nitrógeno de nitrito y nitrato, no es sino hasta el minuto 210 (hora y media después de que inició la aireación) que se tienen los primeros valores de estos compuestos en el seno del líquido con concentraciones por abajo de 0.5 mg/L. Las concentraciones de ambos compuestos incrementan paulatinamente en el tiempo subsiguiente pero presentan valores bajos. La concentración de nitritos alcanzó al final del ciclo un valor de 1.4 mgN-NO₂/L y la de los nitratos de 2.5 N-NO₃/L.

Si se compara el valor de nitrógeno inorgánico a la entrada del sistema de 49 mg/L con la suma del amonio remanente en el efluente más la de los nitratos y nitritos, se tiene un

déficit de 17.1 mg/L. La explicación de este fenómeno se atribuye a la incorporación como material celular y a los procesos de desnitrificación que se llevan a cabo de manera simultánea en las capas internas de la biopelícula.

$$N-NH_4 \text{ influente} = (N-NH_4 + N-NO_2 + N-NO_3)_{\text{efluente}}$$

$$49\text{mgN-NH}_4/\text{L} = 28 \text{ mgN-NH}_4/\text{L} + 1.4 \text{ mgN-NO}_2/\text{L} + 2.5 \text{ mgN-NO}_3/\text{L}$$

$$49\text{mg/L} = 31.9 \text{ mg/L} + \alpha$$

donde α = error

Orto-fosfatos-2º ciclo. En cuanto al segundo intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d en el seno líquido el comportamiento de los orto-fosfatos durante la fase anaerobia es similar al mostrado con el reactor con anillos Kaldnes. Durante la media hora de llenado no se aprecian cambios significativos, pero una vez que inicia la recirculación del agua y permitir con ello que el agua residual se encuentra homogéneamente mezclada, los microorganismos entran en contacto con los contaminantes y continúan con su metabolismo. Al final de la fase anaerobia la concentración de orto-fosfatos en el seno del líquido incrementó en un 160 por ciento con valores de 6.5 mgP-PO₄/L (Figura 4.32-B).

Sin embargo, una vez que inicia la fase aerobia continúa durante la primera media hora de aireación la liberación de orto-fosfatos hasta llegar a una concentración de 7.5 mgP-PO₄/L. Este fenómeno se atribuye al tiempo que tarda en difundirse el oxígeno disuelto del seno líquido hacia las capas profundas de la biopelícula (Castillo *et al.*, 1999). Con el aumento de carga orgánica se incrementan los espesores de la biopelícula. Así, en las capas internas, el fenómeno de acumulación de fósforo comenzará lentamente, a medida que el oxígeno penetre la biopelícula.

Además en la Figura 4.32-C se puede observar que la concentración de oxígeno disuelto fue baja durante la primera media hora de la fase aerobia, por lo que las bacterias acumuladoras de fósforo, al no tener las condiciones apropiadas para un metabolismo aerobio, continuaban liberando orto-fosfatos como ruta alternativa en la obtención de energía. A partir del minuto 150 los valores en la concentración de orto-fosfatos decrecen paulatinamente hasta terminar el ciclo con un valor de 0.8 mgP-PO₄/L para una eliminación biológica de orto-fosfato del 68 por ciento. Continuando con el análisis de la Figura 4.32-C, no es sino hasta el final del minuto 150 que la concentración de oxígeno disuelto se dispara hasta un valor de 4.6 mg/L y posteriormente decrece paulatinamente hasta terminar el ciclo con un valor de 5 mg/L. El pH nuevamente presentó valores sin mucha fluctuación y se mantuvo alrededor de un valor de 8. La temperatura logró incrementarse de 16 hasta mantenerse en 24 grados centígrados.

4.2.6.3 Cubos Linpor

DQO total y soluble-1er ciclo. La Figura 4.33-A muestra el comportamiento de la DQO durante el ciclo correspondiente al día experimental 241 que cae dentro del intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d. La DQO total de entrada con un valor de 109 mg/L (tiempo cero) decreció a un valor de 49 mg/L al término de la fase anaerobia (minuto 120).

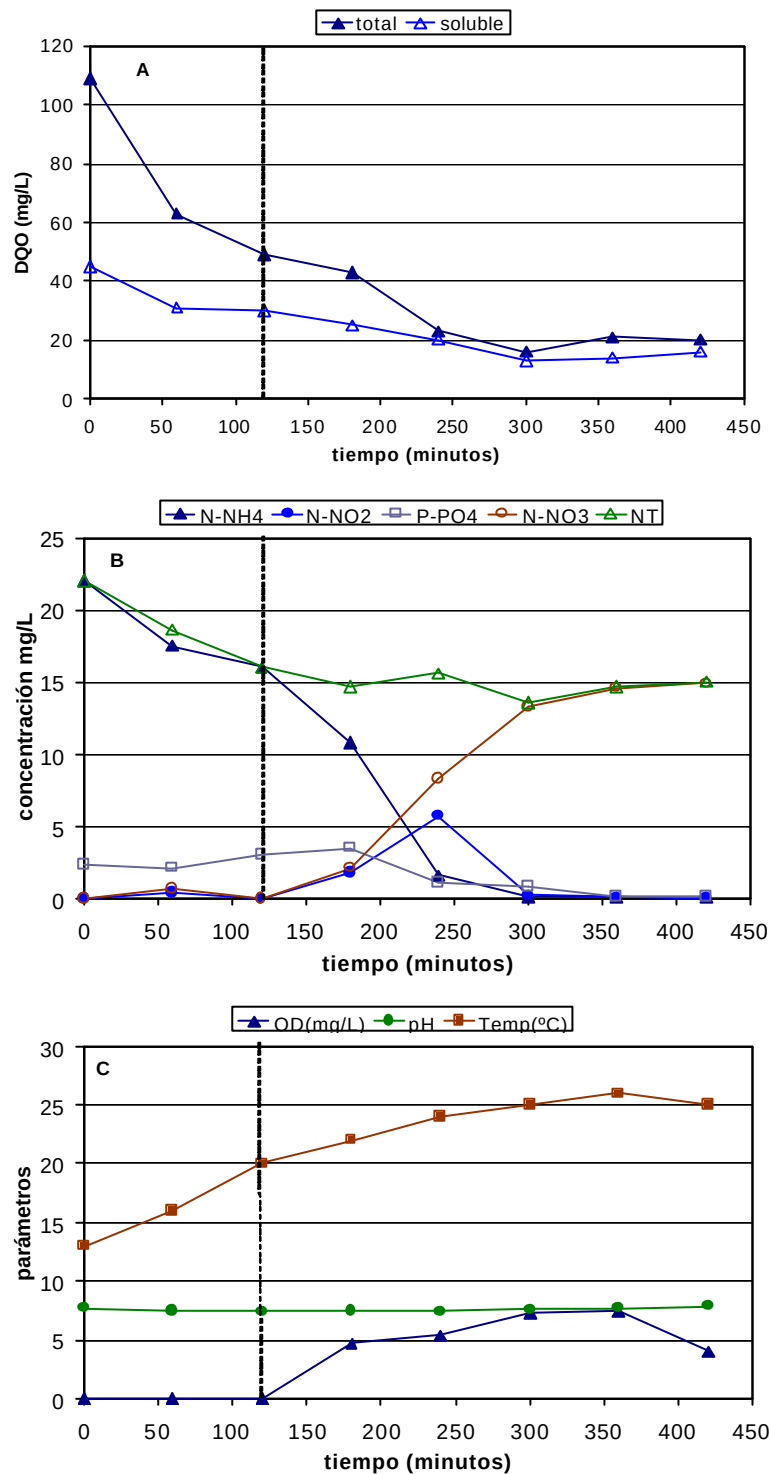


Figura 4.33. Reactor empacado con cubos Linpor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas.
Intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5g DQO/m²·d

Esto significa el 55 por ciento de decremento por efecto de reacciones sin la presencia de oxígeno y por efectos de adsorción de sólidos suspendidos a la superficie del material de

soporte con biomasa. Una vez que inicia la fase aerobia los valores de DQO en el seno del líquido continúan decreciendo hasta el minuto 300 para mantenerse alrededor de 20 mgDQOtotal/L hasta el final del ciclo. Se tiene entonces, al final del ciclo, una remoción de DQO total del 82 por ciento. La DQO soluble entró con un valor de 45 mg/L y disminuyó hasta 30 mg/L durante las dos primeras horas de reacción de la fase anaerobia (33%). Al igual que la DQO total la DQO soluble continúa decreciendo durante las siguientes 3 horas de reacción (minuto 300) de la fase aerobia hasta un valor alrededor de 16 mg/L para mantenerse así hasta el final del ciclo para una remoción total del 64 por ciento.

Compuestos nitrogenados-1er ciclo. En la Figura 4.33-B se puede ver el comportamiento de los compuestos nitrogenados y fosforados para el ciclo bajo estudio que representa al primer intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d. En esa ocasión el amonio entró con una concentración de 22 mgN-NH₄/L y después de dos horas que dura la fase anaerobia la concentración de amonio bajó a 16 mg/L (27 por ciento). El efecto del abastecimiento de aire es inmediato. Al momento que se inyecta aire para dar inicio a la fase aerobia la concentración de amonio baja abruptamente y después de dos horas de aireación (minuto 240) se tiene un valor de 1.6 mgN-NH₄/L. A partir del minuto 300 la concentración de amonio se encuentra por abajo de 0.1 mgN-NH₄/L para una remoción total de amonio cercana al 100 por ciento. Esto habla de una fuerte actividad por parte de las bacterias nitrificantes. Así lo demuestra la presencia de nitrato en el seno del líquido, la cual se presenta en forma creciente conforme transcurre el tiempo y al final del ciclo el efluente presentó una concentración de 15 mgN-NO₃/L. Se detectaron concentraciones de nitrito durante las dos primeras horas de aireación, 1.7 y 5.8 mgN-NO₂/L, respectivamente. A partir del minuto 300 la concentración de nitrito es apenas detectable. Si se considera la concentración de amonio al inicio de la fase aerobia de 22 mgN-NH₄/L, que es cuando inicia la actividad de las bacterias nitrificantes, se tiene un déficit en la transformación de amonio.

$$N-NH_4 \text{ influente} = (N-NH_4 + N-NO_2 + N-NO_3)_{\text{efluente}}$$

$$22\text{mgN-NH}_4/\text{L} = 0.1 \text{ mgN-NH}_4/\text{L} + 0.0 \text{ mgN-NO}_2/\text{L} + 14.9 \text{ mgN-NO}_3/\text{L}$$

$$22\text{mg/L} = 15.0 \text{ mg/L} + \alpha;$$

$$\alpha = \text{error}$$

Para explicar la baja producción de nitrito y nitrato en comparación con el amonio transformado en el seno del líquido se propone que, en el interior de la biopelícula formada sobre los cubos Linpor, se llevó a cabo una desnitrificación simultánea. Estudios previos permiten asumir que el nitrógeno de nitrato liberado en la región superficial de la biopelícula se difunde hacia las regiones profundas de la biopelícula que presentan una concentración menor de este compuesto. Algunas de estas regiones presentan condiciones anaerobias y, por consiguiente, las condiciones apropiadas para que se lleve a cabo una desnitrificación (Gieseke *et al.*, 1999, 2000; Arnz *et al.*, 2001).

Orto-fosfatos-1er ciclo. En la Figura 4.33-B, en el primer ciclo bajo análisis (carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d), la concentración de orto-fosfatos cuantificada en el agua

residual influente es de 2.3 mgP-PO₄/L. Al término de la fase anaerobia la concentración de este compuesto en el seno líquido incrementa hasta 3.0 mgP-PO₄/L (30%).

La liberación de orto-fosfatos continúa incluso durante la primera hora después de que inició la aireación alcanzando valores de 3.5 mgP-PO₄/L. Este fenómeno se describe líneas arriba en la explicación correspondiente al segundo ciclo del reactor empacado con las esferas Liapor. Después del minuto 180, la concentración de orto-fosfatos disminuye abruptamente hasta llegar a una concentración de 0.1 mgP-PO₄/L en el minuto 360 y, continúa así hasta el final del ciclo, para una remoción final del 96 por ciento.

Si se observa la Figura 4.33-C se puede apreciar que los niveles de oxígeno durante la fase aerobia se mantuvieron por arriba de un valor de 4 mgO₂/L, así que no hubo mayor problema para la actividad de las bacterias con metabolismo aerobio. La curva del oxígeno muestra cómo llegaron las concentraciones hasta 7 mg/L para terminar con un valor de 4 mg/L como consecuencia del consumo de oxígeno por parte de los microorganismos presentes en la biopelícula. El pH se mantuvo sin fluctuaciones considerables a lo largo del ciclo con valores entre 7.5 y 7.9. Al minuto cero, que representa la medición en el influente, el pH fue de 7.7. Durante la fase anaerobia se acidifica ligeramente y el pH baja hasta 7.4 para después subir durante la fase aerobia hasta un valor de 7.9 al final del ciclo. La temperatura del agua incrementó de 16 (influyente) a 24-26 grados centígrados.

DQO total y soluble -2º ciclo. En la Figura 4.34-A se puede apreciar el comportamiento la DQO durante el segundo ciclo bajo estudio correspondiente al día experimental 352 (intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²-d). En este caso se hizo la medición de los parámetros al final de la fase de llenado del reactor (minuto 30) pudiendo observar que de entrada la DQO total disminuye su valor en un 16 por ciento (de 95 a 80 mg/L). Esta disminución de los valores de DQO total durante el llenado se atribuye principalmente a procesos de adsorción de partículas suspendidas a la superficie de los cubos de hule espuma, siendo mayor en este caso que para los anillos Kaldnes y las esferas Liapor. Durante el siguiente tiempo de reacción anaerobia, la DQO total disminuye hasta alcanzar un valor de 60 mg/L, lo que representa un decremento del 37 por ciento con respecto al valor del agua residual a la entrada del reactor. Durante la fase aerobia continúa decreciendo el valor de la DQO total hasta alcanzar una remoción del 77 por ciento con valores de 22 mg/L en el efluente.

La DQO soluble incrementa ligeramente durante la fase de llenado de 44 a 48 mg/L. (Figura 4.34-A). Lo cual se atribuye a la presencia de compuestos residuales solubles que hayan quedado atrapados dentro de los cubos y que por fenómenos de gradientes de difusión son liberados al seno del líquido. Durante la siguiente hora de la fase anaerobia (minuto 90) se llevan acabo reacciones por parte de los metabolismos anaerobios del consorcio microbiano presente en la biomasa. Disminuye la DQO soluble en el seno del líquido hasta un valor de 31 mg/L (29 por ciento con respecto al valor de entrada). Sin embargo, después del minuto 90 comienza a incrementar el valor de la DQO soluble hasta alcanzar un valor de 31 mg/L en el minuto 150 (30 minutos después de que inició la aireación). Esto encuentra explicación en una fuerte actividad de los metabolismos anaerobios, contribuyendo con sus productos de desecho en el valor de la DQO soluble y que, posteriormente, serán aprovechados por los microorganismos de metabolismos aerobios. Al término del ciclo, la DQO soluble presentó un valor de 14 mg/L para una remoción total del 68 por ciento.

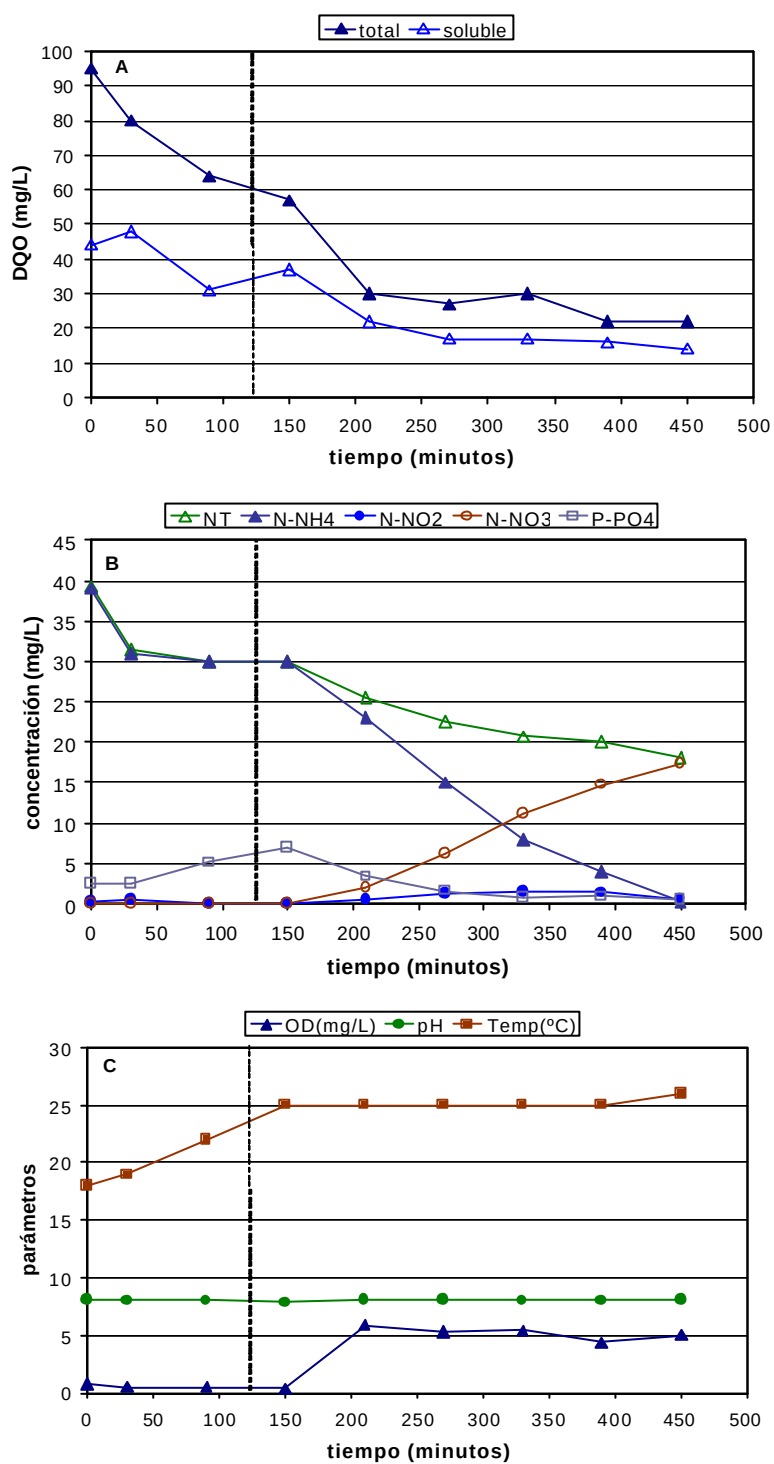


Figura 4.34. Reactor empacado con cubos Linpor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas. Intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0g DQO/m²-d.

Compuestos nitrogenados-2º ciclo. El comportamiento de amonio es similar en el análisis que se presenta para el segundo ciclo bajo estudio correspondiente al intervalo de

carga orgánica 3.0-8.0 gDQO/m²·d. La Figura 4.34-B muestra el comportamiento de compuestos nitrogenados y fosforados para dicho ciclo. La concentración de amonio a la entrada del sistema fue de 39 mgN-NH₄/L. Durante los 30 minutos que dura el llenado del reactor la concentración de amonio en el seno del líquido baja a 31 mgN-NH₄/L (20 por ciento) y se mantiene prácticamente sin cambios durante el resto de la fase anaerobia. En el caso del reactor con lecho Linpor, se tiene un desfase de 30 minutos en la transformación del nitrógeno amoniacal, igual y como sucedió con los reactores empacados con los anillos Kaldnes y las esferas Liapor.

A partir del minuto 150 la concentración de amonio en el seno del líquido comienza a disminuir hasta alcanzar una transformación completa al final de la fase aerobia con concentraciones inferiores a 1 mgN-NH₄/ para una remoción total del 99 por ciento.

Por lo que respecta al nitrógeno de nitrito y de nitrato, no es sino hasta después de media hora de aireación que se tienen las primeras mediciones detectables. A partir del minuto 210 la concentración de nitratos en el seno del líquido aumenta considerablemente hasta alcanzar un valor de 17.3 mgN-NO₃/L al final del ciclo.

$$\begin{aligned} \text{N-NH}_4 \text{ influente} &= (\text{N-NH}_4 + \text{N-NO}_2 + \text{N-NO}_3)_{\text{efluente}} \\ 39\text{mgN-NH}_4/\text{L} &= 0.2 \text{ mgN-NH}_4/\text{L} + 0.6 \text{ mgN-NO}_2/\text{L} + 17.3 \text{ mgN-NO}_3/\text{L} \\ 39\text{mg/L} &= 18.1 \text{ mg/L} + \alpha \\ \text{donde } \alpha &= \text{error} \end{aligned}$$

En esta ocasión, el déficit que resulta del balance de nitrógeno inorgánico indica que, la actividad por parte de las bacterias que desnitrifican, fue mayor que en los casos anteriores, con 20.9 mgNT/L transformados por esta vía.

Orto-fosfatos-2º ciclo. En el segundo ciclo bajo análisis (carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d) los orto-fosfatos entraron al sistema con una concentración de 2.5 mgP-PO₄/L. Después de los 30 minutos que tarda el llenado del reactor la concentración no cambia (figura 4.34-B). Una vez que inicia la recirculación del agua la concentración de orto-fosfatos incrementa hasta alcanzar un valor cercano a 6 mg/L, lo que representa un incremento del 140% con respecto al valor de entrada. Al igual como ocurrió con los reactores empacados con los anillos Kaldnes y las esferas Liapor, los cubos Linpor presentan 30 minutos de desfase en la transformación de los orto-fosfatos una vez que inicia la reacción aerobia. Es así como durante los primeros 30 minutos de aireación, los orto-fosfatos continúan incrementando hasta alcanzar una concentración de 6.9 mg/L. A partir del minuto 150 empieza a decrecer dicha concentración hasta un valor de 0.5 mg/L al término de la fase aerobia, lo que significa un porcentaje de remoción del 80 por ciento.

El comportamiento de los parámetros determinados en el seno líquido se presenta en la figura 4.34-C. La concentración de oxígeno disuelto muestra cambios después de los primeros 30 minutos de aireación. Al minuto 210 la concentración de oxígeno disuelto se dispara hasta un valor de 5.9 mgO₂/L y fluctuar en el tiempo subsiguiente alrededor de 5 mgO₂/L. El valor de pH a la entrada fue de 8.1 y se mantuvo sin cambios de consideración a lo largo del ciclo de operación. La temperatura del agua incrementó de 16 grados centígrados en el influente a 25 grados centígrados en el seno del líquido.

4.2.7 Análisis comparativo

4.2.7.1 Remoción específica de materia orgánica medida como DQO total

Si se considera la tasa de remoción de DQO, cada uno de los tres reactores bajo estudio presenta diferentes ventajas (Figura 4.35).

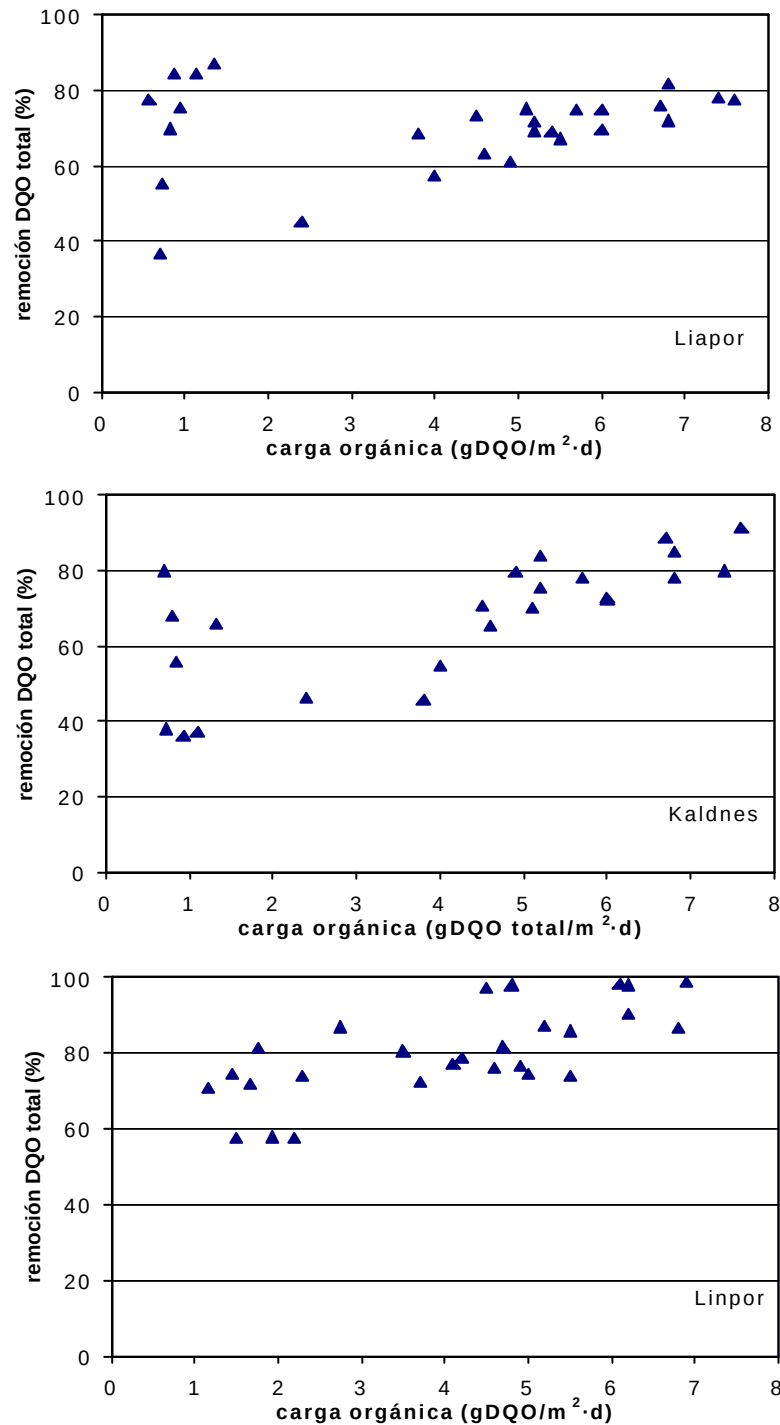


Figura 4.35. Remoción de materia orgánica versus carga orgánica inicial

El reactor empacado con las esferas Liapor remueve mejor la DQO con cargas orgánicas bajas y el reactor empacado con los cubos Linpor con altas. La remoción con el reactor empacado con los anillos Kaldnes se encuentra en un punto intermedio entre los otros dos medios. Los tres reactores presentan una operación más estable con cargas orgánicas con valores inferiores a 2.5 gDQO/m²·d. En esta misma figura es posible observar que, a cargas orgánicas bajas, Liapor y Kaldnes muestran las mayores variaciones con remociones desde 35 hasta 88%. En general, para los tres sistemas, al aumentar la carga orgánica aumentan los valores de la remoción de DQO total y se reduce la dispersión. A cargas orgánicas entre 7 y 8 gDQO/m²·d todos los valores son superiores al 75%. Para cargas orgánicas entre 0.5 y 2.5 gDQO/m²·d, el reactor empacado con los cubos Linpor se mantiene con remociones de DQO total entre 55 y 85% y, para cargas orgánicas entre 3.0 y 8.0 gDQO/m²·d, aumenta la remoción a valores entre 71 y 98%. En general, el reactor con lecho Linpor presenta las mayores remociones de DQO total dentro del intervalo de cargas orgánicas analizadas.

La Figura 4.36 muestra las tasas específicas de remoción con respecto a la carga orgánica. Los tres medios de soporte presentaron un factor de correlación similar alrededor de 0.96.

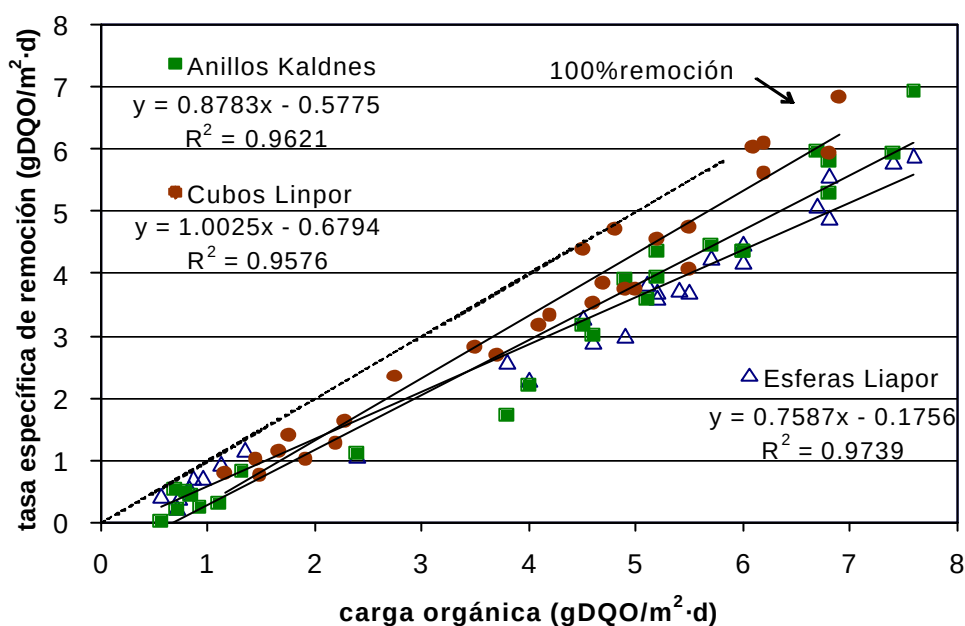


Figura 4.36. Tasa específica de remoción *versus* carga orgánica inicial

Los valores del reactor con lecho Linpor forman una línea con una pendiente promedio de 1.0. Esto no significa que se lleve a cabo una remoción completa pero si indica que los puntos forman una línea paralela a la línea del 100 % de remoción (línea punteada). El reactor empacado con los cubos Linpor presenta las tasas específicas de remoción más altas de los tres reactores. El ajuste de líneas indica que este reactor funciona mejor con cargas orgánicas altas. Comparado con el reactor de lecho Linpor, el reactor empacado con las esferas Liapor muestra un mejor funcionamiento con cargas orgánicas bajas. El lecho Liapor presenta el factor de correlación más alto de los tres medios, lo que indica un comportamiento más predecible. Para cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d el lecho Linpor presenta los valores de remoción más altos y el lecho Liapor los más bajos.

El reactor empacado con los anillos Kaldnes se encuentra en un punto intermedio entre ambos.

4.2.7.2 Remoción específica de materia orgánica medida como DQO soluble

Los reactores empacados con las esferas Liapor y los anillos Kaldnes presentan un comportamiento similar en la tasa de remoción de materia orgánica disuelta determinada como DQO soluble (Figura 4.37).

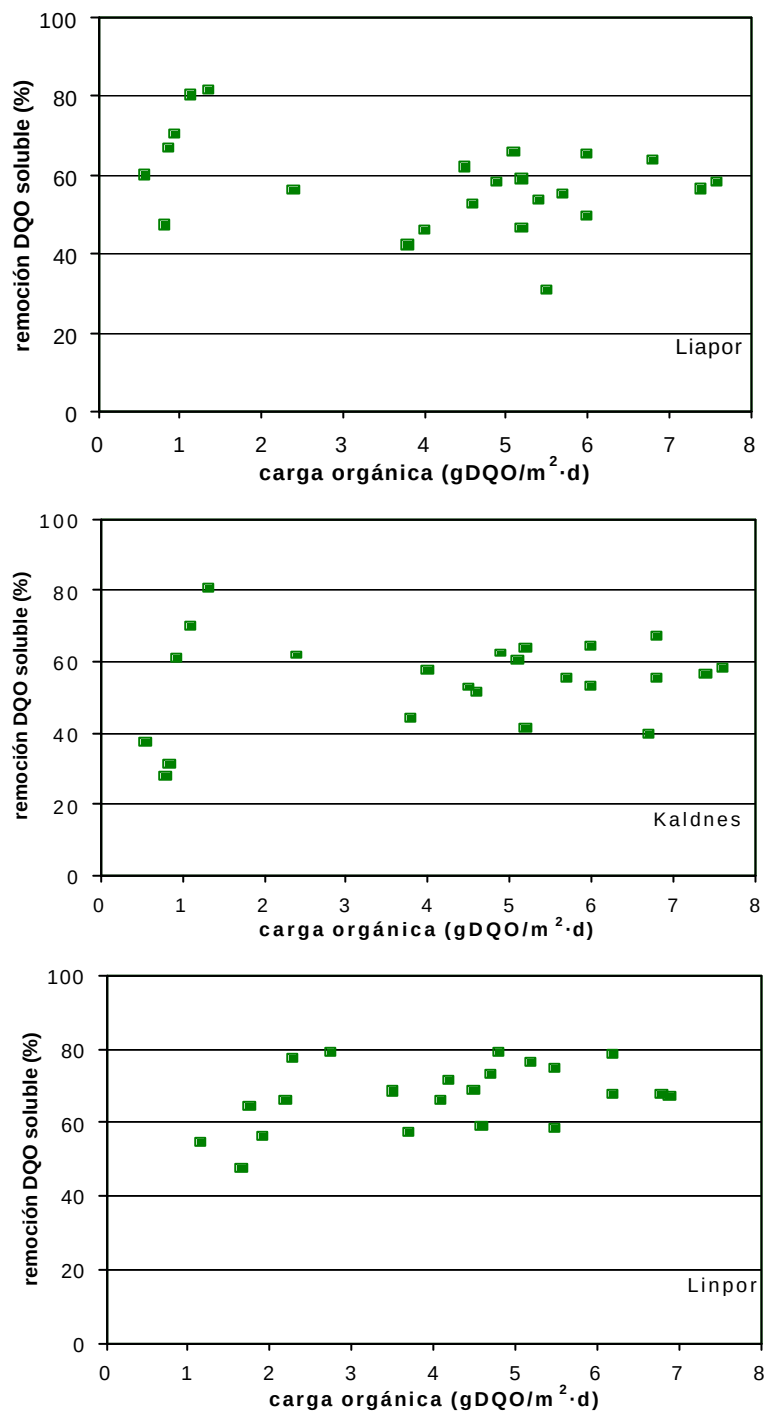


Figura 4.37. Remoción de materia orgánica disuelta *versus* carga orgánica inicial

Ambos reactores alcanzan las mayores tasas de remoción con cargas orgánicas bajas aunque presentan valores dispersos. Las esferas Liapor con cargas orgánicas inferiores a 2.5 gDQO/m²·d presentan tasas de remoción en un intervalo de 47 y 81 por ciento. Con cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d el lecho Liapor, aunque disminuye la dispersión de sus valores, tiene un decremento en la tasa de remoción con valores en un intervalo de 42 a 66 por ciento. Los anillos Kaldnes con cargas orgánicas inferiores a 2.5 gDQO/m²·d presentan tasas de remoción en un intervalo de 28 a 80 por ciento.

Con cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d el lecho Kaldnes también presenta un decremento en la tasa de remoción pero con un conjunto de datos más compacto en un intervalo de 40 a 67 por ciento. En la misma figura 4.36 se puede apreciar que el lecho Linpor presenta una operación más estable durante todo el experimento con tasas de remoción inferiores al 79 por ciento y superiores al 47 por ciento con cargas orgánicas inferiores a 2.5 gDQO/m²·d y superiores al 57 por ciento con cargas orgánicas arriba de 3.0 gDQO/m²·d.

La Figura 4.38 muestra las tasas específicas de remoción de materia orgánica disuelta determinada como DQO soluble con respecto a la carga orgánica considerando la DQO soluble. Los reactores empacados con las esferas Liapor y los anillos Kaldnes presentan comportamientos similares con una pendiente de 0.57, lo que indica una remoción promedio de materia orgánica dsuelta de 57 por ciento. El ajuste de líneas indica que ambos reactores alcanzan mayores tasas de remoción con cargas orgánicas bajas. Por el contrario, el reactor empacado con los cubos Linpor alcanza mayores tasas de remoción que los otros dos reactores con cargas orgánicas altas. El reactor empacado con los anillos Kaldnes presenta el factor de correlación más alto de los tres lechos.

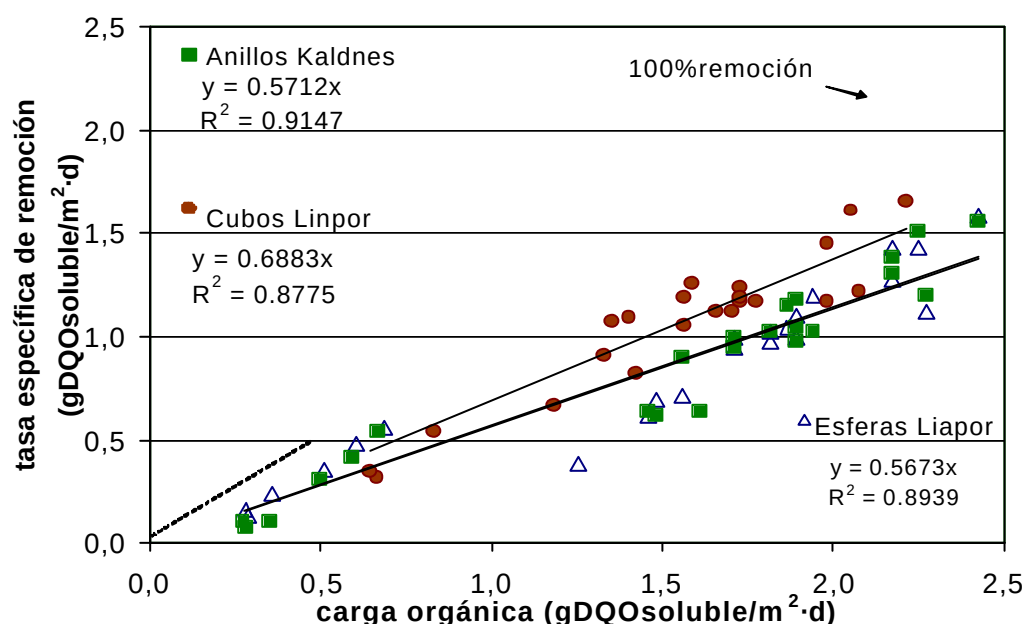


Figura 4.38. Tasa específica de remoción de materia orgánica disuelta medida como DQO soluble *versus* carga orgánica inicial

4.2.7.3 Compuestos nitrogenados

La Figura 4.39 muestra la remoción de amonio con respecto a la carga orgánica aplicada. Los tres reactores presentan una mejor remoción de amonio con cargas orgánicas bajas.

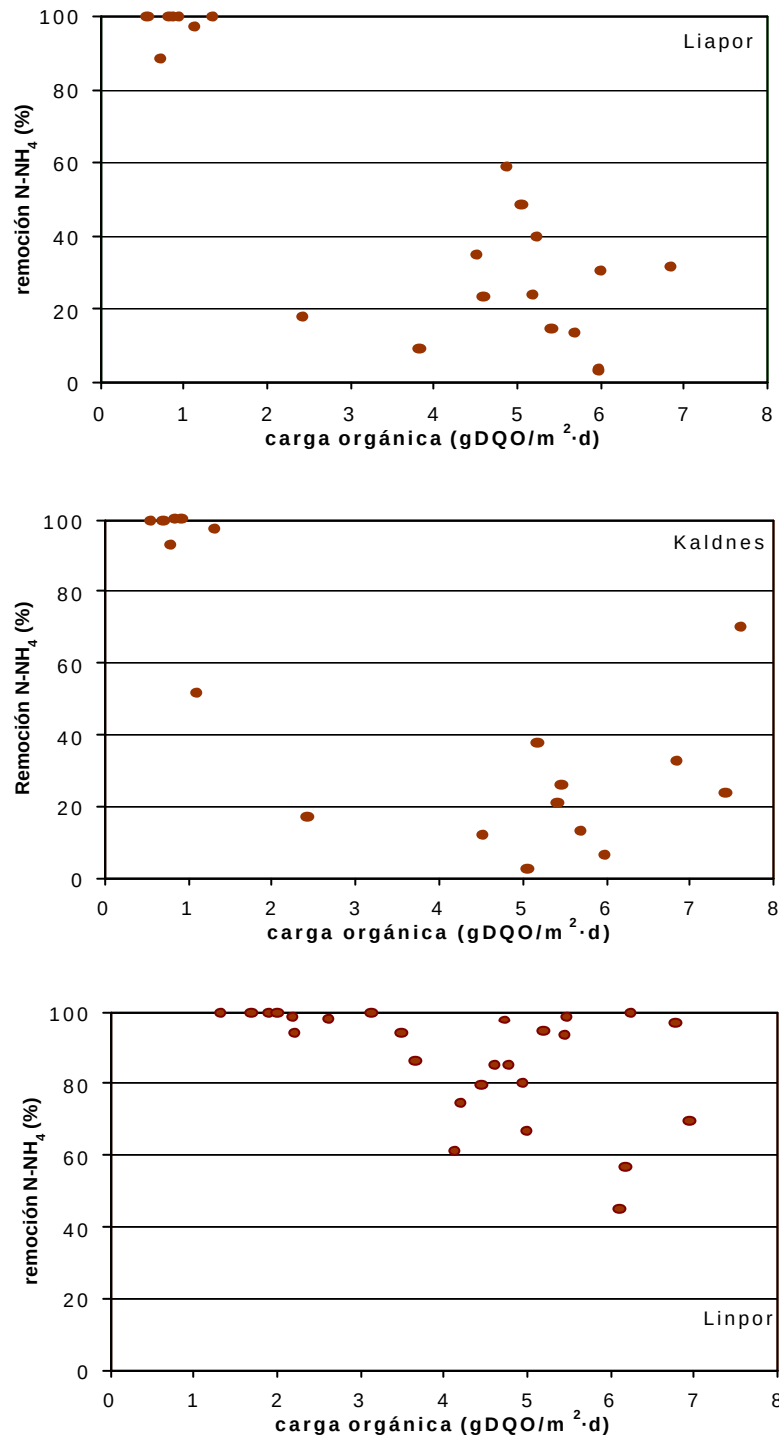


Figura 4.39. Remoción de N-NH₄ *versus* carga orgánica inicial

El reactor empacado con los cubos Linpor presenta un funcionamiento más estable y con los mejores porcentajes de remoción a lo largo de todo el estudio. En 95 por ciento de los análisis experimentales el lecho Linpor alcanzó valores superiores al 50 por ciento de remoción (Figura 4.39). Contrario a este comportamiento, la remoción de amonio con el reactor empacado con las esferas Liapor fue pobre para altas cargas, con valores consistentemente inferiores al 60 por ciento.

El reactor empacado con los anillos Kaldnes presenta dos grupos experimentales de resultados: con cargas orgánicas inferiores a 2.5 gDQO/m²·d el lecho Kaldnes alcanzó altas tasas de nitrificación; con cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d las tasas de remoción permanecieron en su mayoría abajo de 40 por ciento sin mostrar alguna tendencia. El lecho Liapor muestra un comportamiento similar al del lecho Kaldnes con cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d.

La figura 4.40 muestra la remoción de amonio con respecto a la carga de amonio inicial. Se puede apreciar un comportamiento similar al de la figura 4.39. Con cargas de amonio bajas los tres reactores presentan remociones cercanas al 100 por ciento. El reactor empacado con el lecho Kaldnes con cargas de amonio superiores a los 0.20 gN-NH₄/m²·d, presenta remociones por abajo del 70 por ciento. Las esferas Liapor con cargas de amonio superiores a los 0.60 gN-NH₄/m²·d presenta remociones inferiores al 60 por ciento. Para cargas de amonio por arriba de 0.60 gN-NH₄/m²·d, los cubos Linpor presenta porcentajes de remoción superiores al 40 por ciento.

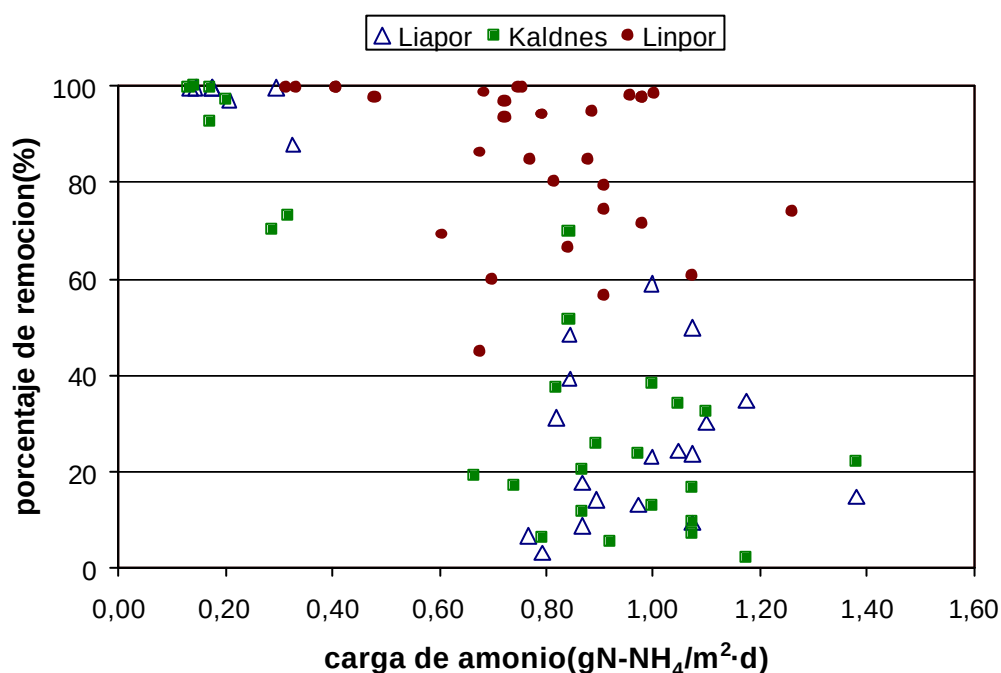


Figura 4.40. Porcentaje de remoción de amonio con respecto a la carga de amonio inicial

Los cubos Linpor alcanzaron las concentraciones más altas de NNO₃ durante todo el experimento alcanzando valores hasta de 23 mg/L (Figura 4.41). Con cargas orgánicas

bajas los reactores empacados con los cubos Linpor y las esferas Liapor presentan valores similares de N-NO₃ cercanas al 100%.

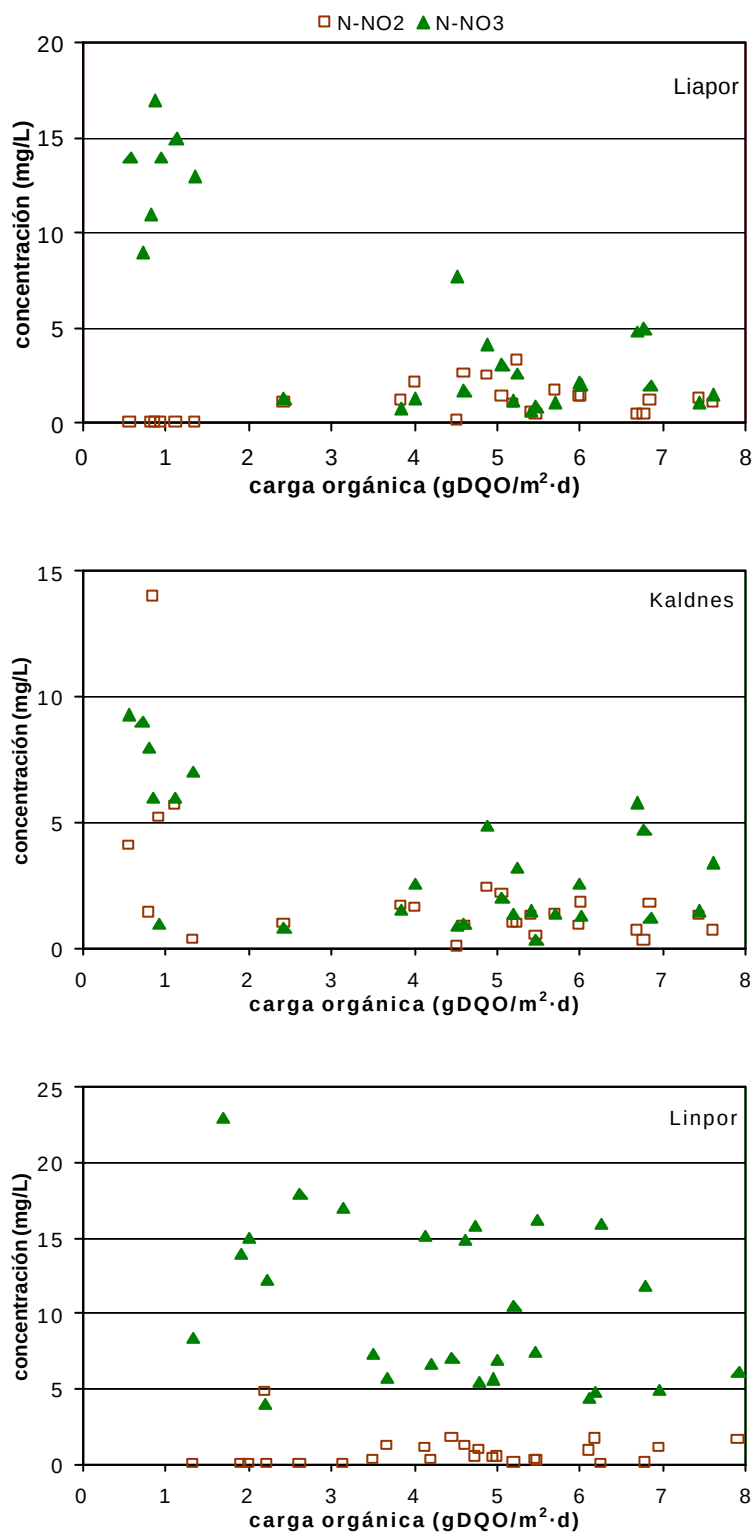


Figura 4.41. Concentración de N-NO₂ y N-NO₃ en el efluente *versus* carga orgánica inicial

El reactor empacado con los anillos Kaldnes presenta los valores más bajos en la concentración de N-NO_3 durante todo el experimento con concentraciones abajo de 8 mg/L. Las concentraciones de N-NO_3 fueron decreciendo en los reactores empacados con las esferas Liapor y los anillos Kaldnes conforme incrementa la carga orgánica. En la Figura 4.41 también se puede apreciar que la concentración de N-NO_2 incrementa conforme incrementa la carga orgánica. Los anillos Kaldnes presentan concentraciones cercanas a 5 mg/L con cargas orgánicas bajas.

Se esperaba obtener concentraciones más altas de N-NO_3 en comparación con el amonio removido. La explicación que se da para entender porque en los tres sistemas existe una diferencia entre los valores de nitrógeno amoniacal removido y la generación de nitrógeno de nitrato y nitrito, es una desnitrificación simultánea llevada a cabo en las zonas profundas de las biopelículas desarrolladas sobre los tres medios de soporte. Cabe retomar el balance de nitrógeno presentado en el capítulo de la metodología. En dicho balance se conoce la cuantificación de nitrógeno total medido como nitrógeno orgánico más el medido como nitrógeno inorgánico, este último contempla el nitrógeno en su forma de nitrógeno amoniacal (N-NH_4), nitritos (N-NO_2) y nitratos (N-NO_3). Las mediciones se realizaron en el influente, efluente y agua de retrolavado, resultando el nitrógeno molecular la incógnita. Se tiene entonces la ecuación:

$$(Q \times NT)_{\text{influyente}} - (Q \times NT)_{\text{efluente}} = (Q \times NT)_{\text{retrolavado}} + N_2 \uparrow$$

El material nitrogenado que hubiera podido utilizarse en crecimiento celular ya está contemplado en el exceso de biomasa que se desprendió durante el retrolavado. Por consiguiente, el nitrógeno molecular (N_2) representa la cantidad de nitrógeno total que se transforma por medio de la desnitrificación.

$$N_2 \uparrow = (Q \times NT)_{\text{influyente}} - [(Q \times NT)_{\text{efluente}} + (Q \times NT)_{\text{retrolavado}}]$$

Para una carga orgánica de $2.4 \text{ gDQO/m}^2 \cdot \text{d}$ se obtiene en el reactor empacado con anillos Kaldnes una desnitrificación de 0.6 gNT/d mientras que para una carga orgánica de $6 \text{ gDQO/m}^2 \cdot \text{d}$ fue de 1.9 gNT/d (Tabla 4.7). El proceso de desnitrificación incrementó en un 216 por ciento con respecto a una carga orgánica de $2.4 \text{ gDQO/m}^2 \cdot \text{d}$.

Tabla 4.7 Balance de nitrógeno total (NT). Anillos Kaldnes

Carga orgánica ($\text{gDQO/m}^2 \cdot \text{d}$)	NT influyente (g/m^3)	NT efluente (g/m^3)	NT retro (g/m^3)	$\text{N}_2 \uparrow$ (g/ciclo)	NT^D biomasa (g/kg)	NT^A biomasa (g/kg)	?biomasa g/kg
2.4	51	44	10.4	0.6	4.5	7.5	3
6.0	50	31	22.4	1.9	14.6	19.1	4.5

NT^D , medición después de retrolavar ; NT^A , medición antes de retrolavar;

Caudal de influente y efluente = $0.138 \text{ m}^3/\text{ciclo}$; caudal del agua de retrolavado (cada 48h)= $0.032 \text{ m}^3/\text{ciclo}$;

?biomasa = $(\text{NT}^A - \text{NT}^D)$; g/kg, gramos de NT por kg de masa seca

Las mediciones que se hicieron de NT en muestras de los anillos Kaldnes con biomasa después y antes del retrolavado indicaron que el material celular incrementó en un 67 por

ciento durante la operación del reactor para una carga orgánica de 2.4gDQO/m²·d y en un 31 por ciento para una carga orgánica de 6gDQO/m²·d. Para una carga orgánica de 6gDQO/m²·d la cantidad de biomasa medida como NT incrementó en un 224 por ciento con respecto a una carga orgánica de 2.4gDQO/m²·d.

La Tabla 4.8 presenta el balance de NT para el reactor empacado con esferas Liapor. De los datos presentados se desprende que para una carga orgánica de 2.4 gDQO/m²·d se transformaron 0.9 gNT/d de compuestos nitrogenados por vía de la desnitrificación. Este valor incrementó en un 55 por ciento para una carga orgánica mayor, es este caso de 6 gDQO/m²·d, con 1.4 gNT/d transformados por procesos de desnitrificación.

Tabla 4.8 Balance de nitrógeno total (NT). Esferas Liapor

Carga orgánica (gDQO/m ² ·d)	NT influente (g/m ³)	NT efluente (g/m ³)	NT retro (g/m ³)	N ₂ ↑ (g/ciclo)	NT ^D biomasa (g/kg)	NT ^A biomasa (g/kg)	?biomasa g/kg
2.4	51	36	38	0.9	5.65	6.28	0.6
6.0	50	30.7	38,6	1.4	1.08	1.25	0.2

NT^D, medición después de retrolavar ; NT^A, medición antes de retrolavar;
Caudal de influente y efluente = 0.138 m³/ciclo; caudal del agua de retrolavado (cada 48h)= 0.032 m³/ciclo;
?biomasa = (NT^A - NT^D); g/kg, gramos de NT por kg de masa seca

En la misma Tabla 4.8 se presentan las determinaciones de NT medidas directamente en muestras de esferas Liapor con biomasa inmediatamente después de retrolavar y antes de llenar el reactor, y de esferas con biomasa antes de retrolavar y después de vaciar el reactor al final del tercer ciclo de un día de operación. Para la primera carga orgánica que se presenta, se tuvo un incremento de biomasa medida como NT del 11 por ciento, mientras que para la segunda carga orgánica fue del 18 por ciento.

Lo que es de llamar la atención es la presencia de mayor cantidad de biomasa con una carga orgánica más baja que con una carga orgánica alta, cuando se esperaba lo contrario. Se infiere que fue mayor el desprendimiento de la biomasa durante el retrolavado para cargas orgánicas superiores a 3.0 gDQO/m²·d. Con cargas orgánicas bajas, la biopelícula en la parte profunda es más densa (Okabe *et al.*, 1998), lo que le confiere una mayor rigidez y estabilidad mecánica, por lo que se tiene una mayor resistencia al desprendimiento de la biopelícula (Rasmusen y Lewandowski, 1998).

En el balance de nitrógeno total que se presenta en la Tabla 4.9, se puede ver que en el reactor empacado con los cubos Linpor se obtuvieron valores homogéneos en la determinación de NT que se transforma por procesos de desnitrificación y en la cuantificación de biomasa. Se logró una mejor transformación del nitrógeno de amonio por vía de la desnitrificación con una carga orgánica de 2.2 gDQO/m²·d (4.1 gNT/d) que con una carga orgánica de 5.5 gDQO/m²·d (3.5 gNT/d). Sin embargo, la diferencia no es significativa, por lo que se consideran valores similares. El valor de NT determinado en el agua de retrolavado y el incremento de biomasa es similar para los dos casos lo que indica un crecimiento estable y homogéneo de la biomasa.

Tabla 4.9 Balance de nitrógeno total (NT). Cubos Linpor

Carga orgánica (gDQO/m ² ·d)	NT influente (g/m ³)	NT efluente (g/m ³)	NT retro (g/m ³)	N ₂ ↑ (g/ciclo)	NT ^D biomasa (g/kg)	NT ^A biomasa (g/kg)	?biomasa g/kg
2.2	51	15.2	14.4	4.1	5.65	6.14	0.5
5.5	50	18.6	14.9	3.5	5.61	6.22	0.6

NT^D, medición después de retrolavar; NT^A, medición antes de retrolavar;
Caudal de influente y efluente = 0.126 m³/ciclo; caudal del agua de retrolavado (cada 48h)= 0.032 m³/ciclo;
?biomasa = (NT^A - NT^D); g/kg, gramos de NT por kg de masa seca

4.2.7.4 Orto-fosfatos (P-PO₄)

Los porcentajes de remoción de P-PO₄ con respecto a la carga orgánica durante todo el experimento se presentan en la Figura 4.41. El análisis global para los tres reactores muestra bajos porcentajes de remoción y sin ningún patrón característico. Sin embargo, con bajas cargas orgánicas los tres reactores presentan tasas de remoción por arriba del 50 por ciento.

Con cargas orgánicas por arriba de 4 gDQO/m²·d presentan porcentajes de remoción por debajo del 60 por ciento. El reactor empacado con los cubos Linpor presenta en promedio los valores más altos de remoción pero también los más dispersos. Debido a que el agua residual que se utilizó durante el estudio presentó una baja relación DQO/N de 6.6, se asume que la DQO biodegradable fue utilizada por bacterias que pueden desnitrificar y que tienen la facultad de degradar el nitrato remanente de los ciclos precedentes.

Los organismos acumuladores de fosfato son capaces de desnitrificar (Falkentoft, 2000; Falkentoft *et al.*, 2001). Cuando las condiciones de los reactores cambian de una operación aerobia a una anaerobia los microorganismos pueden utilizar el nitrito o nitrato remanente como aceptor externo de electrones y, por consiguiente, no liberar gran cantidad de fósforo (Park y Chang, 2000; Arnz *et al.*, 2001).

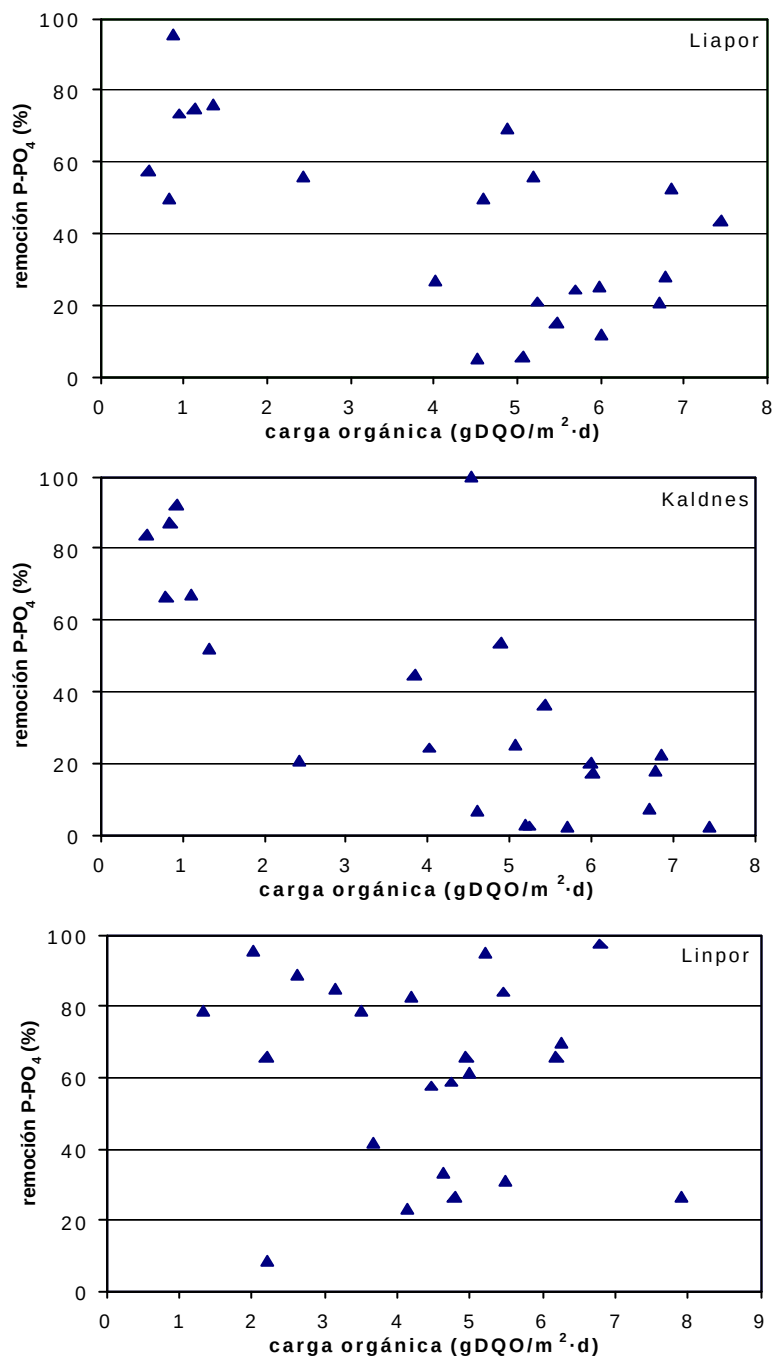


Figura 4.40. Remoción de P-PO₄ *versus* carga orgánica inicial

4.2.7.5 Modelo unidimensional de transporte de masa en la biopelícula

El número de Reynolds para un flujo a través de un lecho empacado (adaptado de Iwai y Kitao, 1994 y de Nicolella *et al.*, 2000), de la página 44, es:

$$Re = \frac{dUd}{\mu e}(E) \quad (3-7)$$

La Tabla 4.10 presenta los valores calculados del número de Reynolds. Prácticamente los tres reactores presentaron valores del número de Reynolds superiores a 2000, por lo que se considera que los reactores operaron bajo condiciones de flujo turbulento. El caso de los cubos Linpor, durante el primer intervalo de carga orgánica, obtuvo un valor de 1773 en el número de Reynolds, este valor se considera en las inmediaciones de los límites para decidir que tipo de flujo se tiene. Para fines prácticos, se considera turbulento.

Tabla 4.10. Valores obtenidos en la determinación del número de Reynolds para el líquido a través de los diferentes medios de soporte en estudio

	Medio de soporte		
	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor
$d, \text{g/cm}^3$	0.9972	0.9972	0.9972
$\mu, \text{g/cm}\cdot\text{s}$	0.0095	0.0095	0.0095
d, cm	0.7	1.0	1.5
e	0.38	0.44	0.58
Carga orgánica 0.5-2.5 gDQO/m ² ·d			
$U, \text{cm/s}$	0.56	0.45	0.34
E	19.48	19.48	19.48
Re	2084	2084	1773
flujo	turbulento	turbulento	Laminar
Carga orgánica 3.0-8.0 gDQO/m ² ·d			
$U, \text{cm/s}$	0.47	0.39	0.31
E	29.18	29.18	29.18
Re	2626	2714	2451
flujo	turbulento	turbulento	Turbulento

Con base en los resultados obtenidos del número de Reynolds se adoptó el modelo unidimensional de transporte de masa en la biopelícula para calcular el parámetro adimensional de penetración (β) y así determinar si las biopelículas bajo estudio están parcial o totalmente penetradas. En el Subcapítulo 2.5 se plantean las cuatro suposiciones principales en las que se basa el modelo unidimensional y que son retomadas en una breve explicación para comprender el análisis de transporte de masa en las biopelículas desarrolladas sobre los tres medios de soporte bajo estudio:

1. Se supone que la biopelícula presenta condiciones homogéneas física y biológicamente.
2. Se considera la presencia de un sustrato limitante (C_S).
3. Se supone que la concentración de dicho sustrato en el seno del líquido es la misma que existe justo en la capa líquida que se encuentra en contacto inmediato con la superficie de la biopelícula. Por lo tanto, se supone que la difusión de sustrato a través de la capa líquida no tiene efecto alguno sobre el proceso.
4. El transporte de sustrato dentro de la biopelícula se realiza por difusión molecular considerando el coeficiente de difusión D .

El parámetro adimensional de penetración fue definido por Harremöes en 1978 (página 22):

$$b = \sqrt{\frac{2 \cdot D \cdot C_s}{k_0 \cdot L^2}} \quad (2-8)$$

donde

β	parámetro de penetración	adimensional
C_s	concentración de sustrato en el seno líquido	mg/L
D	coeficiente de difusión del sustrato	m ² /d
k_0	tasa de reacción de orden cero	g/m ³ ·d
L	espesor de la biopelícula	m

- $C_s = C_{\text{interfase}}$
- D , para el valor correspondiente al sustrato se ve en tablas (Williamson y McCarty, 1976; Harremöes y Henze, 1997)
- L espesor de la biopelícula
 - a. Liapor: se midió el espesor de las biopelículas directamente en muestras de las esferas con el microscopio confocal láser de barrido
 - b. Kaldnes: se considera la distancia de la superficie del espacio axial hacia la mitad interna del espacio axial, esto es 3.5 mm de espesor.
 - c. Liapor: se tiene una distancia de la superficie hacia el centro de 7 mm de espesor.
- k_0 se determina experimentalmente con la corrida de ciclos de representativos de operación de ocho horas.

Si $\beta > 1$ la biopelícula está totalmente penetrada.

Si $\beta < 1$ la biopelícula está parcialmente penetrada.

La Tabla 4.11 presenta los valores de los parámetros de penetración (β) obtenidos en los tres reactores para cuatro corridas experimentales. En el apéndice 3 se dan detalles sobre la determinación de β .

Las esferas Liapor presentan para todos los casos, condiciones de una biopelícula totalmente penetrada (Tabla 4.13). Las esferas presentaron un espesor promedio de biopelícula de 135 y 425 μm para un intervalo de carga orgánica de 0.5-2 y 2-8 gDQO/m²·d, respectivamente. Tyagi y Vembu (1990) reportan una profundidad de penetración en las biopelículas de entre 50 y 200 micrómetros.

Continuando con los resultados presentados en la Tabla 4.13 se puede apreciar que los anillos Kaldnes presentan valores de β superiores a la unidad determinados para la biomasa desarrollada sobre el espacio axial, lo que indica condiciones de penetración total en lo que se refiere a la difusión de materia orgánica (DQO) y nitrógeno amoniacal (N-NH₄) a través de la biopelícula. Los valores de β calculados para los nitratos (N-NO₃) indican que para el primer intervalo de carga orgánica el nitrato no penetró en su totalidad a la biopelícula desarrollada sobre el espacio axial de los anillos Kaldnes. En el caso de los valores obtenidos del parámetro de penetración para el oxígeno molecular se tuvieron

dos condiciones en la biopelícula formada sobre el espacio axial. Para el primer intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d se obtuvieron valores de β superiores a la unidad, de lo que se concluye que el oxígeno molecular penetró totalmente la biopelícula hasta las capas profundas.

Tabla 4.11. Valores determinados del parámetro adimensional de penetración (β) para varios compuestos en los tres reactores

medio	Carga orgánica (gDQO/m ² ·d)	?			
		DQO	N-NH ₄	N-NO ₃	Oxígeno disuelto
Esferas Liapor	0.9	19.5	57.7	24.5	7,800.3
	1.1	34.6	42.7	26.8	11,444.7
	2.4	13.2	40.7	9.5	393.6
	6.8	10.9	59.2	9.5	481.1
Anillos Kaldnes (espacio axial)	0.8	0.9	2.8	0.9	2.5
	1.1	1.5	3.2	0.9	6.0
	2.4	1.2	7.0	1.1	0.2
	6.8	1.3	7.4	1.0	0.4
Anillos Kaldnes (aletas externas)	0.8	2.5	7.5	2.5	3.1
	1.1	4.2	8.6	2.5	3.0
	2.4	9.3	54.4	8.9	10.8
	6.8	10.0	57.2	7.8	20.9
Cubos Linpor	2.0	0.4	0.8	0.5	1.7
	2.6	0.5	0.7	0.5	1.6
	2.2	0.6	0.9	0.5	1.9
	6.3	0.4	0.7	0.5	2.3

Para el segundo intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d los valores de β fueron inferiores a la unidad con lo que se tienen condiciones de una biopelícula parcialmente penetrada por el oxígeno, lo que indica que se tenían condiciones anaerobias en las capas profundas. Si se recurre a las imágenes que se captaron con el microscopio estereoscópico de las muestras de los anillos Kaldnes correspondientes al segundo intervalo de carga orgánica (Apartado 4.2.5.1), se aprecia una coloración grisácea en la parte central del espacio axial de este medio de soporte, lo que permite suponer que esta coloración se debe a la falta de oxígeno en dicha zona. Esto se confirma con los valores de β obtenidos. En los dos intervalos de carga orgánica el crecimiento bacteriano que se desarrolló sobre las aletas longitudinales externas de este medio de soporte presentó

condiciones de una biopelícula totalmente penetrada con valores de β superiores a la unidad.

En el Apartado 4.2.5.1 se menciona también la presencia de bacterias nitrificantes en las capas profundas en los anillos Kaldnes detectadas con el método de hibridación fluorescente *in situ* de Vermicon. La presencia de nitrificantes en la zona profunda se explica nuevamente con las imágenes de los anillos Kaldnes. En dichas imágenes se puede ver que antes de retrolavar el espacio axial de este medio se encuentra totalmente ocupado por biomasa, condición que se consideró en la determinación de β . Después del retrolavado se desprende, en algunos casos, parte de la biomasa de la zona axial quedando expuesta la zona profunda de la biopelícula. De esta forma las bacterias nitrificantes que se encuentran en dicha zona quedan expuestas nuevamente a la presencia de oxígeno molecular necesario para su metabolismo. Si se correlacionan los valores de β con los porcentajes de remoción de amonio se puede explicar la razón por la cual Kaldnes removió menos amonio en el segundo intervalo de carga orgánica, debiéndose principalmente a la limitación de oxígeno a través de la biopelícula hacia las zonas profundas en las cuales se observa una ligera coloración gris que indica la presencia de sulfuros producidos por condiciones anaerobias.

La biomasa desarrollada sobre las aletas externas presentó condiciones de penetración total para los cuatro sustratos bajo estudio.

Con base en los valores calculados de β para los cubos Linpor (Tabla 4.13) se tiene que, para el caso de la materia orgánica y compuestos nitrogenados, la biopelícula desarrollada sobre este medio de soporte presenta condiciones de una película parcialmente penetrada con valores de β inferiores a la unidad. Sin embargo, el valor de β obtenido para el oxígeno disuelto indica que la biopelícula estuvo totalmente penetrada por este compuesto. Este último rubro concuerda con las imágenes obtenidas con el microscopio estereoscópico de la apariencia física de la biomasa y que se presentan en el Subcapítulo 4.2 Apartado 4.2.5.3, en donde no se notan cambios aparentes en la consistencia y coloración entre la biomasa presente de las capas superficiales y la de las capas profundas de Linpor. Las capas profundas no indicaban indicios de condiciones anaerobias, básicamente no se observaron coloraciones grisáceas, lo que hacía suponer que el oxígeno molecular se difundía hasta las capas profundas del medio. De igual manera, la detección con el método hibridación fluorescente *in situ* de Vermicon de las bacterias nitrificantes en las capas profundas confirma la presencia de oxígeno en estas zonas (Subcapítulo 4.2, Apartado 4.2.5.3).

4.2.7.6 Método estadístico

En el apéndice 4 se presentan los valores de las mediciones de los parámetros de respuesta obtenidos para los tres reactores durante todo el periodo experimental.

Porcentaje de remoción de DQO total

La estadística de Brown y Forsythe (STATA, 2001) (prueba de Levene centrada en la mediana; Winer, 1971), $W = 3.97$ con 2 grados de libertad en el numerador y 90 en el

denominador, indicó que la desviación estándar del porcentaje de remoción de DQO total no es igual para todos los reactores ($p = 0.022$). Además, los coeficientes de correlación presentados en la Tabla 4.12 indican que solo en los reactores empacados con los anillos Kaldnes y los cubos Linpor existe una asociación lineal moderada entre la carga orgánica y el porcentaje de remoción de DQO total. Por lo tanto, las condiciones para ajustar un modelo de análisis de covarianza no se cumplen cabalmente.

La alternativa es buscar una transformación del porcentaje de remoción de DQO total que produzca una varianza similar para todos los reactores y que esté linealmente relacionada con la carga orgánica. En caso de existir esta transformación los resultados tendrían el inconveniente de que serían difíciles de interpretar. Por esta razón en el análisis se decidió ignorar la carga orgánica y comparar el porcentaje de remoción de DQO total de los reactores mediante la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Winer, 1971). La estadística de prueba fue igual a 14.15 con 2 grados de libertad y un nivel significativo de 0.0008. Es decir, se rechaza la hipótesis de que el porcentaje de remoción de DQO total es igual para todos los reactores. La Tabla 4.12 muestra que dicho porcentaje es similar en los reactores empacados con las esferas Liapor y los anillos Kaldnes e inferior al porcentaje obtenido para el reactor empacado con los cubos Linpor.

Tabla 4.12. Porcentaje de remoción de DQO total

Reactor	Núm obs.	Promedio	Des. Est.	Coef. Corr.
Esferas Liapor	32	70.91	11.06	0.22
Anillos Kaldnes	29	68.52	19.50	0.76
Cubos Linpor	32	82.47	12.40	0.73

Porcentaje de remoción de DQO soluble

La estadística de Brown y Forsythe (STATA, versión 7) (prueba de Levene centrada en la mediana; Winer, 1971)), $W = 1.78$ con 2 grados de libertad en el numerador y 84 en el denominador, indicó que la varianza del porcentaje de remoción de DQO soluble es homogénea para los tres reactores ($p = 0.175$). Los coeficientes de correlación presentados en la Tabla 4.13 indican que la relación lineal entre la carga orgánica y el porcentaje de remoción de DQO soluble es: nula en el reactor empacado con las esferas Liapor y débil en los otros dos reactores.

Por lo tanto, se omitió del análisis estadístico la carga orgánica y se comparó el porcentaje promedio de remoción de DQO soluble de los reactores mediante un modelo de análisis de varianza con un criterio de clasificación. La estadística de prueba que se obtuvo fue $F = 6.92$ con 2 y 84 grados de libertad en el numerador y en el denominador respectivamente. El nivel significativo es $p = 0.0017$ por lo que se rechaza la hipótesis de que los tres porcentajes promedio son iguales. El método de comparaciones múltiples de Scheffé (Winer, 1971) indicó que los porcentajes promedio de remoción de DQO soluble de los reactores empacados con las esferas Liapor y los anillos Kaldnes son estadísticamente iguales ($p = 0.809$) y que el porcentaje promedio del reactor empacado con los cubos Linpor es mayor al de los reactores empacados con las esferas Liapor ($p = 0.023$) y los anillos Kaldnes ($p = 0.003$).

Tabla 4.13. Porcentaje de remoción de DQO soluble

Reactor	Núm obs.	Promedio	Des. Est.	Coef. Corr.
Esferas Liapor	28	58.07	12.83	-0.0811
Anillos Kaldnes	30	55.8	16.02	0.3948
Cubos Linpor	29	67.93	10.11	0.4916

Porcentaje de remoción de N-NH₄

La Tabla 4.14 muestra la media y la desviación estándar del porcentaje de remoción de N-NH₄ para cada reactor. Para los reactores empacados con las esferas Liapor y los anillos Kaldnes dichas estadísticas son similares. En cambio, para el reactor empacado con los cubos Linpor se obtuvo una media mayor y una desviación estándar menor a la de los otros dos reactores. Al aplicar la prueba de Levene (Winer, 1971) centrada en la mediana se concluyó que no existe homogeneidad de varianzas ($W = 5.08$ con 2 grados de libertad en el numerador y 83 en el denominador, $p = 0.008$).

Por otra parte, los coeficientes de correlación indican que existe una asociación lineal entre débil y moderada entre el porcentaje de remoción de N-NH₄ y la carga orgánica. En la Figura 5.57 se puede observar que dicha asociación es inducida por aproximadamente veinte datos con una carga orgánica menor a dos. Sin embargo, en términos generales se puede afirmar que no existe relación alguna entre el porcentaje de remoción de N-NH₄ y la carga orgánica. Por esta razón, en el análisis estadístico se ignoró la carga orgánica. Además, debido a que no existe homogeneidad de varianzas se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Winer, 1971). La estadística de prueba obtenida es 22.88 con 2 grados de libertad y un nivel de significancia de $p = 0.0001$. Esto significa que el porcentaje de remoción de N-NH₄ no es igual para los tres reactores como se mencionó al principio del párrafo.

Tabla 4.14. Porcentaje de remoción de N-NH₄

Reactor	Núm obs.	Promedio	Des. Est.	Coef. Corr.
Esferas Liapor	28	40.71	37.05	-0.6701
Anillos Kaldnes	27	40.74	33.89	-0.7056
Cubos Linpor	31	85.64	15.90	-0.3465

Biomasa

Con respecto a la biomasa, únicamente se cuenta con 4 observaciones por reactor, razón por la que no se pudo investigar si existe alguna relación entre la biomasa y la carga orgánica aplicada (Tabla 4.15). Esta variable se ignoró en el análisis estadístico. Las desviaciones estándar varían entre 2.58, para el reactor con cubos Linpor, y 8.22, para el reactor con esferas Liapor. La prueba de Levene centrada en la mediana indicó que existe homogeneidad de varianzas ($W = 2.89$ con 2 grados de libertad en el numerador y 9 en el denominador, $p = 0.107$) por lo que la biomasa promedio de los reactores se comparó mediante un modelo de análisis de varianza con un criterio de clasificación. La estadística de prueba fue igual a 52.30 con 2 y 9 grados de libertad en el numerador y denominador

respectivamente. El nivel de significancia obtenido es $p < 0.001$ lo que implica que se rechaza la hipótesis de que la biomasa promedio de los tres reactores es idéntica. El método de comparaciones múltiples de Scheffé (Winer, 1971) indicó que los reactores con esferas Liapor y anillos Kaldnes tienen la misma biomasa promedio ($p = 0.191$). En cambio, el reactor con cubos Linpor tiene una biomasa mayor al del reactor con esferas Liapor ($p < 0.001$) y al del reactor con anillos Kaldnes ($p < 0.001$).

Tabla 4.15. Biomasa seca (ST/m²)

Reactor	Núm obs.	Promedio	Des. Est.
Esferas Liapor	4	15.50	8.22
Anillos Kaldnes	4	23.25	3.95
Cubos Linpor	4	53.00	2.,58

5. CONCLUSIONES

Se concluye que la hipótesis planteada en el presente estudio no se cumple. En los tres casos, decrecen los porcentajes de remoción de material carbonoso y nitrogenado cuando las biopelículas desarrollan un mayor espesor. Todo indica que un material que permita retener una mayor cantidad y variedad de biomasa, junto con un tiempo de retención celular alto, presenta mayores beneficios para soportar variaciones de carga orgánica y remover contaminantes.

Evaluación de los tres reactores

Los tres reactores presentaron una operación más estable con cargas orgánicas bajas (abajo de $2.5 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$) que con cargas orgánicas altas. El reactor empacado con los cubos Linpor alcanzó las tasas de remoción de materia orgánica (medida como DQO) más altas de los tres reactores con cargas orgánicas altas. El reactor con material Liapor mostró mejores tasas de remoción de materia orgánica con cargas orgánicas bajas.

En 95 por ciento de los experimentos, el reactor empacado con los cubos Linpor alcanzó valores de remoción de N-NH_4 superiores al 50 por ciento. Para cargas orgánicas inferiores a $2.5 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$ los reactores empacados con las esferas Liapor y los anillos Kaldnes alcanzaron tasas de nitrificación cercanas al 100 por ciento. Para cargas orgánicas superiores a $3.0 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$ las tasas de remoción de N-NH_4 se mantuvieron en su mayoría abajo del 40 por ciento sin mostrar ninguna tendencia.

Con ello se puede asegurar que si se requiere el tratamiento de aguas residuales de origen municipal para remover materia orgánica y nitrificar, la formación de una biopelícula delgada es ideal para conseguirlo, como lo muestran los resultados obtenidos con el reactor empacado con las esferas Liapor. Es importante notar que para ello se deben manejar cargas orgánicas menores a $2.5 \text{ gDQO/m}^2\cdot\text{d}$ y evitar los picos de carga orgánica

que pudieran suscitarse durante la operación de los reactores. Bajo estas condiciones se acepta lo que reporta la literatura del beneficio de favorecer el desarrollo de biopelículas delgadas y totalmente penetradas por oxígeno molecular, en donde las bacterias nitrificantes tienen las condiciones ideales para su desarrollo y no compiten ni por el espacio ni por el oxígeno molecular disponible con el desarrollo en exceso de microorganismos heterótrofos quienes presentan tasas de reproducción más altas.

Tomando en cuenta los balances de materia para el nitrógeno, las diferencias entre la remoción de nitrógeno amoniacal y la generación de nitritos y nitratos se debe a una desnitrificación simultánea llevada a cabo en las zonas profundas de las biopelículas.

Con cargas orgánicas bajas los procesos de desnitrificación fueron mínimos, comprendiendo que se contaba con biopelículas delgadas y totalmente penetradas por oxígeno molecular, es razonable pensar que este tipo de microorganismos no contaban con microzonas anóxicas que permitieran su desarrollo, además de que la cantidad de materia orgánica disponible bajo esas condiciones no es el óptimo para su desarrollo.

El reactor con cubos Linpor alcanzó las mayores concentraciones de N-NO_3 con valores hasta de 23 mg/l. Con cargas orgánicas bajas los reactores con cubos Linpor y esferas Liapor presentaron concentraciones de N-NO_3 promedio similares con valores de 14.2 ± 1 y 14.0 ± 6 mg/l. El reactor empacado con los anillos Kaldnes presentó las concentraciones más bajas a lo largo de todo el estudio con valores por debajo de 8 mgN- NO_3 /l. Las concentraciones de N-NO_3 fueron decreciendo en Liapor y Kaldnes conforme incrementa la carga orgánica.

Medios de soporte y estructura de las biopelículas

La estructura que presentan las biopelículas desarrolladas sobre los medios de soporte, estructura influenciada por la configuración del medio de soporte y las condiciones de operación, es la principal causa de la respuesta de reacción de los tres reactores bajo estudio.

Esferas Liapor. Para un intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d este material presentó el desarrollo de una biopelícula con crecimiento filamentosos homogéneo sobre su superficie, con espesor promedio de 134 μm y totalmente penetrada por materia orgánica (DQO), nitrógeno amoniacal y oxígeno disuelto. Para un intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d el desarrollo de la biopelícula fue heterogénea con formas de mechones abultados, con espesor promedio de 425 μm y totalmente penetrada por material orgánico (DQO), nitrógeno amoniacal y oxígeno disuelto. El bajo rendimiento del reactor empacado con las esferas Liapor con cargas orgánicas arriba de 3.0 gDQO/m²·d se atribuye a la baja resistencia al desprendimiento de la biomasa que presenta este material durante la operación y el retrolavado lo que repercute en un bajo tiempo de retención celular bajo de 5.4 días en promedio. La cantidad de biomasa en las esferas Liapor fue en promedio de 15 ± 8 gST/m².

Anillos Kaldnes. Por su configuración, este material presenta dos tipos de crecimiento de biopelícula: 1) el espacio axial con el que cuenta la configuración de este material fue ocupado en su totalidad por densa biomasa por lo que se considera un espesor de la biopelícula alrededor de 3 mm; 2) las aletas longitudinales fueron ocupadas por

crecimiento filamentoso con espesores variables. La biopelícula de la zona axial presentó una apariencia más compacta con cargas orgánicas altas que con bajas. Para un intervalo de carga orgánica de 0.5-2.5 gDQO/m²·d el crecimiento de la zona axial presentó una biopelícula totalmente penetrada por material orgánico (DQO), nitrógeno amoniacal y oxígeno disuelto. El crecimiento de las aletas longitudinales presentó crecimiento heterogéneo con un espesor promedio de 1,296 µm y totalmente penetrada por los tres sustratos en cuestión. Para un intervalo de carga orgánica de 3.0-8.0 gDQO/m²·d el crecimiento de la zona axial presentó una biopelícula totalmente penetrada por material orgánico y nitrógeno amoniacal, y parcialmente penetrada por oxígeno disuelto. El crecimiento de biopelícula sobre las aletas longitudinales fue homogéneo con un espesor promedio de 450 µm y totalmente penetrada por los tres sustratos bajo análisis.

Es importante resaltar que este material está configurado especialmente para operar en reactores de lecho móvil, lo cual influye en el desempeño del reactor que utilizó los anillos Kaldnes. Al utilizar los anillos como lecho fijo, pierde este material su principal atributo, que es favorecer la difusión del oxígeno y de nutrientes a través de la biopelícula formada sobre su superficie gracias al constante movimiento de este material dentro del reactor. Aunado a esto, como consecuencia del constante movimiento del material, se somete a una mayor exposición a las fuerzas cortantes, regulando el espesor de la biopelícula y manteniéndola delgada. Esta situación es clara durante la operación del reactor con cargas orgánicas altas, en donde el oxígeno molecular no penetró a las capas internas de la biopelícula con la consiguiente actividad baja por parte de las bacterias nitrificantes. Los anillos Kaldnes presentaron un promedio de tiempo de retención celular de 10 días y un promedio de 23±4 gST/m² en la cantidad de biomasa.

Cubos Linpor. presentó una biopelícula parcialmente penetrada por material orgánico (DQO) y nitrógeno amoniacal y totalmente penetrada por oxígeno disuelto en los dos intervalos de carga orgánica. En ambos casos los poros internos y externos de este material fueron ocupados en su totalidad por biomasa por lo que se considera un espesor alrededor de 7 mm. Aparentemente la densidad de población fue menor y con coloraciones marrón más claras con cargas orgánicas bajas. La particularidad y ventaja de este material es que aloja una gran cantidad de material celular dentro de sus poros presentando un promedio de biomasa de 53±2.6 gST/m². Aunado a esto, los microorganismos quedan al resguardo de las fuerzas cortantes dentro de los poros, ofreciendo una mayor resistencia al desprendimiento de biomasa durante la operación del reactor y el retrolavado, como consecuencia se tiene un tiempo de retención celular alto con un valor promedio de 22.9 días. Este material es recomendable para cuando se tienen aguas residuales municipales con variaciones de carga orgánica como lo demuestran los resultados obtenidos durante el presente trabajo.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abwassertechnik (1985). Abwassertechnischen Vereinigung e.V. Biologisch-chemische und weitergehende Abwasserreinigung. Tercera edición. Wilhelm Ernst & Sons. Berlín, RFA, 279-284.
- Aleem, M.I.H., Hock, G.E., Vanner, J.E. (1965). Water as the source of oxydant and reductant in bacterial chemosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. EEUUA*. 54(3), 864-869.
- Amman, R. (1995). *In situ* identification of micro-organisms by whole cell hybridization with rRNA-targeted nucleic acid probes. *Molecular Microbial Ecology Manual*. Klawer Academic Publishers. Holanda, pp 15.
- Amman, R., Ludwig, W., Schleifer, K.H. (1995). Phylogenetic identification and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological Reviews*. American Society for Microbiology, 143-169.
- APHA, AWWA, WPCT (1995). Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales. Diaz de Santos (Ed.). España.
- Arnold, E., Böhm, B., Wilderer, P.A. (1999). Application of activated sludge and biofilm SBR technology to treat reject water from sludge dewatering systems: A comparison. En 4th Conference on Small Wastewater Treatment Plants. Stratford-upon-Avon, Reino Unido.
- Arnz, P., Esterl, S., Nerger, C., Delgado, A., Wilderer, P.A. (2000). Simultaneous bading and draining as a means to enhance efficacy of sequencing batch biofilm reactors. *Wat. Res.* 34(5), 1763-1766.
- Arnz, P. (2001). Biological nutrient removal from municipal wastewater in sequencing batch biofilm reactors. *Berichte aus Wassergüte- und Abfallwirtschaft*. Technische Universität München, no. 164. Munich, RFA.
- Arnz, P., Arnold, E., Wilderer, P.A. (2001). Enhanced biological phosphorus removal in a semi full-scale SBBR. *Wat. Sci. Tech.* 43(3), 167-174.
- Barker, P.S., Dold, P.L. (1996). Denitrification behaviour in biological excess phosphorus removal activated sludge systems. *Wat. Res.* 30(4), 769-780.

- Barnes D., Bliss P. (1983). Biological control of nitrogen in wastewater treatment. Capítulo 4. University Press, Cambridge, GB.
- Beyenal H., Lewandowski Z. (2000) Combined effect of substrate concentration and flow velocity on effective diffusivity in biofilms. *Wat. Res.* 34-2, 528-538.
- Bishop, P.L., Rittmann, B.E. (1995). Modelling heterogeneity in biofilms: Report of the discussion session. *Wat. Sci. Tech.* 32 (8), 263-265.
- Bishop, P. L. (1997) Biofilm structure and kinetics. *Wat. Sci. Tech.* 36(1)87-294.
- Boller, M., Gujer W., Nyhuis G. (1986). Nitrification in tertiary trickling filters followed by deep bed filters. *Wat Res.* 20, 1363.
- Bonomo, L., Pastorelli, G., Quinto, E. (2000a). Simplified and Monod kinetics in one-dimensional biofilm reactor modelling: A comparison. *Wat.Sci.Tech.* 43(1), 295-302.
- Bonomo, L., Pastorelli, G., Quinto, E., Rinaldi, G. (2000b). Tertiary nitrification in pure oxygen moving bed biofilm reactors. *Wat. Sci. Tech.* 41(4-5), 361-368.
- Bouwer, E.J. (1987). Theoretical investigation of particle deposition in biofilm systems. *Wat. Res.* 21(12), 1489-1498.
- Broch-Due, A., Andersen, R., Kristoffersen, O. (1994). Pilot plant experience with an aerobic moving bed biofilm reactor for treatment of NSSC wastewater. *Wat. Sci. Tech.* 29(5-6), 283-294.
- Caldwell, D.E., Korber, D.R., Lawrence, J.R. (1993). Analysis of biofilm formation using 2D vs 3D digital imaging. *Journal of Applied Bacteriology Supplement* ,74, 52S-66S.
- Cassey, E., Glennon B., Hamer G. (2000). Biofilm development in a membrane-aerated biofilm reactor: Effect of flow velocity on performance. *Biotechnol. Bioeng.* 64-4, 476-486.
- Castillo, P.A., González-Martínez, S., Tejero, I. (1999). Biological phosphorus removal using a biofilm membrana reactor: Operation at high organic loading rates. *Wat. Sci. Tech.* 40(4-5), 321-329.
- CEPIS, Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente (1978). *Filtración lenta en arena para abastecimiento público de agua en países en desarrollo*. Centro Internacional de Referencia para Abastecimiento Público de Agua de la OMS. Manual de Diseño y Construcción. P. 22. La Haya, Países Bajos.
- Comett-Ambriz, I., González-Martínez, S., Wilderer, P. (2003). Comparison of the performance of MBBR and SBR systems for the treatment of anaerobic reactor treating biowaste effluents. *Wat. Sci. Tech.* 47(12), 155-161.
- Costerton, J.W., Lewandowski, Z., de Beer, D., Caldwell, D.E., Korber, D.R., James, G. (1994). Biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.* 176(8), 2137-2142.
- Cuevas-Rodríguez, G., González Barceló, O., González Martínez, S. (1998). Wastewater fermentation and nutrient removal in sequencing batch reactors. *Wat. Sci. Tech.* 38(1), 255-264.
- Characklis W. G., Marshall K. C. (1990). *Biofilms*. Ed. Wiley-Interscience Publication, John Wiley and Sons, Inc. Pp. 796. EEUUA.
- Daims, H., Purkhold, U., Bjerrum, L., Arnold, E., Wilderer, P.A., Wagner, M. (2001). Nitrification in sequencing biofilm batch reactors: Lessons from molecular approaches. *Wat. Sci. Tech.* 43(3): 9-18.

- de Beer, D., Stoodley P., Roe F., Lewandowsky, Z. (1994). Effects of biofilm structure of oxygen distribution and mass transport. *Biotechnol. Bioeng.* 43, 1131-1138.
- Deutsche Einheitsverfahren (1983). Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-Abwasser- und Schlammuntersuchung. Verlag Chemie. Weinheim, RFA.
- Dollerer, J., Wilderer, P.A. (1996). Biological treatment of leachates from hazardous waste landfills using SBBR technology. *Wat.Sci.Tech.* 34 (7-8), 437-444.
- Eisenmann, H., Letsiou, I., Feuchtinger, A., Beisker, W., Mannweiler, E., Hutzler, P., Arnz, P. (2001). Interception of small particules by flocculent structures, sessile ciliates, and the basic layer of a wastewater biofilm. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 4286-4292.
- Falkentoft, C. (2000). Simultaneous removal of nitrate and phosphorus in a biofilm reactor. Aspectos de difusión. Tesis para obtener el grado de doctor. Universidad Técnica de Dinamarca. Lyngby, Dinamarca.
- Falkentoft, C., Harremoës, P., Mosbaek, H., Wilderer, P. (2001). Stability of a lab-scale biofilm for simultaneous removal of phosphorus and nitrate. *Wat. Sci. Tech.* 43(1), 335-342.
- Flemming, H.C., Wingender (2001). Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)- Part I: Structural and ecological aspects. *Wat. Sci. Tech.* 43(6): 1-8.
- Focht, D.D., Verstraete, W. (1977). Biochemical ecology of nitrification. *Adv. Microb. Ecol.* (1), pp. 135-214.
- Fuchs, U. (1987) Linpor-N® trägergebundene Ammoniumentfernung ohne freien Belebtschlamm. *Abwassertechnik*, 6.
- Garzón-Zúñiga, M., González-Martínez, S. (1996). Biological phosphate and nitrogen removal in a biofilm sequencing batch reactor. *Wat. Sci. Tech.* 34, (1-2), 293-301.
- Gieseke, A., Arnz, P., Schramm, A., Amman, R., Wilderer, P.A. (1999). Nutrient removal with a sequencing batch biofilm reactor. Process parameters and microscale investigations. *En 4th IAWQ Conference on Biofilm Systems*. Nueva York, EEUUA.
- Gieseke, A., Arnz, P., Amann, R., Schramm, A. (2002). Simultaneous P and N removal in a sequencing batch biofilm reactor: Insights from reactor- and microscale investigations. *Water Research*, 36, 501-509.
- Gjaltema, A., Griebe, T. (1995). Laboratory biofilm reactors and on-line monitoring: report of the discussion session. *Wat. Sci. Tech.* 32(8), 257-261.
- González-Martínez, S., Wilderer, P.A. (1991). Phosphate removal in a biofilm reactor. *Wat.Sci.Tech.* 23(7-9), 1405-1415.
- González-Martínez, S. (1998). Biopelículas aerobias en tratamiento de aguas residuales. IV Simposio Internacional sobre Control de Polución de Aguas por Procesos Biológicos. Valencia, Venezuela.
- González-Martínez, S., Lippert-Heredia, E., Hernández-Esparza, M., Doria-Serrano, C. (2000). Reactor kinetics for submerged aerobic biofilms. *Bioprocess Eng.* 23, 57-61.
- Harremoës, P. (1978). Biofilm kinetics. *En Water pollution microbiology*. R. Mitchel (ed.). John Wiley & Sons, Nueva York, EEUUA:

- Harremöes, P., Henze, M. (1997). Biofilters. *En Wastewater treatment. Biological and Chemical processes*. Henze, M., Harremöes, P., Jansen, J., Arvin, E. (ed.). Segunda edición. Springer, Berlin, RFA.
- Helmer C., Kunst S. (1997). Simultaneous nitrification/denitrification in an aerobic biofilm system, *Second International Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Process*. Ed. O. Jenkins, S.W. Hermanowicz. Berkeley, California, EEUUA.
- Helness, H., Ødegaard, H. (1999). Biological phosphorus removal in a sequencing batch moving bed biofilm reactor. *Wat. Sci. Tech.* 40(4-5), 161-168.
- Henze, M., Harremöes, P., Jansen, J., Arvin, E. (1997). Wastewater treatment. Biological and chemical processes. Segunda edición. Springer. Berlin, RFA.
- Hoshi, K., Deguchi, H. (2001). The characteristics of the biofilm fixed inside porous medium by sequencing batch reactor. *En 3rd IWA Internacional specialised Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm processes*. Roma, Italia.
- Iwai S. y Kitao T. (1994). Wastewater treatment with microbial films. *Technomic Publishing Company, Inc.* EEUUA, 184 pp.
- ISO 11905-1 H36. (1999).
- Kaballo, H.P. (1997). Shockloading management with the sequencing batch biofilm reactor technology. *Wat. Sci. Tech.* 35(1), 35-40.
- Kawauchi, T., Deguchi, H. (2001). The affection of C_M/N ratio on performance of kinetic experiment using biofilm fixed inside porous medium. *En 3rd IWA Internacional specialised Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm processes*. Roma, Italia.
- Kayser, R. (1971). Beitrag zur Berechnung des Überschußschlammanfalles beim Belebungsverfahren. *Zeitschrift Österreichische Abwasserrundschau* 16, Folge 5, 73-78. *En Abwassertechnik* (1985) Abwassertechnischen Vereinigung e.V. Biologisch-chemische und weitergehende Abwasserreinigung. Tercera edición. Wilhelm Ernst & Sons. Berlín, RFA. 279-284.
- Kern-Jespersen, J.P., Henze, M. (1993). Biological phosphorus uptake under anoxic and aerobic conditions. *Wat. Res.* 27(4), 617-624.
- Khlebnikov, A., Péringer, P. (1996). Biodegradation of p-Toluenesulphonic acid by *Comamonas testosteroni* in an Aerobic Counter-Current Structured Packing Biofilm Reactor. *En 18th IAWQ Biennial International Conference & Exhibition*. Pp 128-135. Singapore.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M.C., Heijnen, J.J. (1996a). Effect of cyclic oxygen exposure on the activity of denitrifying phosphorus removing bacteria. *Wat. Sci. Tech.* 34 (1-2), 33-40.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M.C., Heijnen, J.J. (1996b). Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in a two-sludge system. *Wat. Res.* 30(7), 1702-1710.
- Kuba, T., van Loosdrecht, M.C., Branse, F.A., Heijnen, J.J. (1997). Ocurrance of denitrifying phosphorus removing bacteria in modified UCT-type wastewater treatment plants. *Wat. Res.* 31(4), 777-786.
- Kunst, P. (2005). Comunicación personal. *Segunda Exposición Internacional sobre Tecnologías de Procesos AchemAmerica*. Ciudad de México.

- Larsen T. A., Harremoës P. (1994). Degradation mechanism of colloidal organic matter in biofilm reactors. *Wat. Res.* 28-6, 1443-1452.
- Lawrence, J. R., Korber D. R., Hoyle B. D., Costerton J. W., Caldwell D. E. (1991). Optical sectioning of microbial biofilms. *J. Bacteriol.* 173, 6558-6567.
- Lazarova, V., Manem J. (1994). Advances in biofilms aerobic reactors ensuring effective biofilm activity control. *Wat. Sci. Tech.* 29-10/11, 319-327.
- Lazarova, V., Manem, J. (1995). Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater Treatment. *Wat. Res.* 29(10), 2227-2245.
- Loukidou, M.X., Zouboulis, A.I. (2001). Comparison of two biological treatment processes using attached –growth biomass for sanitary landfill leachate treatment. *Environmental Pollution.* 111, 273-281.
- Melo, L. F., Vieira M. J. (1999). Physical stability and biological activity of biofilms under turbulent flow and low substrate concentration. *Bioprocess Engineering.* 20, 363-368.
- Metcalf & Eddy (Editores). (1991). Wastewater engineering treatment disposal, reuse. Tercera edición. McGraw-Hill International Editions. Singapur.
- Mitchel, R. (1974). Introduction to environmental microbiology. Prentice-Hall Intenational, Inc. Englewood Cliffs, N.J. EEUUA.
- Moreau, M., Liu, Y., Capdeville, B., Audic J., Calvez, L. (1994). Kinetic behaviour of heterotrophic and autotrophic biofilms in wastewater treatment processes. *Wat. Sci. Tech.* 29(10/11), 385-391.
- Morgenroth, E. (1998). Enhanced biological phosphorus removal in biofilm reactors. *Berichte aus Wassergüte– und Abfallwirtschaft.* Technische Universität München, no. 145. Munich, RFA.
- Morgenroth, E., Wilderer, P.A. (1998). Modelling of enhanced biological phosphorus removal in a sequencing batch biofilm reactor. *Wat. Sci Tech.* 37(4-5), 583-587.
- Morper M., Wildmoser A. (1990). Improvement of existing wastewater treatment plants efficiencies without enlargement of tankage by application of the Linpor-Process – Case studies. *Wat. Sci. Tech.* 22(7/8), 207-215.
- Morper, M.R. (1994). Upgrading of activated sludge systems for nitrogen removal by application of the Linpor®-CN process. *Wat. Sci. Tech.* 29(12), 167-176.
- Muñoz-Colunga, A, González-Martínez, S. (1996). Effects of population displacements on biological phosphorus removal in a biofilm SBR. *Wat. Sci. Tech.* 34(1-2), 303-313.
- Nicolella, C., van Loosdrecht, M. C. M., Heijnen J. J. (2000). Wastewater treatment with particulate biofilm reactors. *J. Biotechnol.* 80, 1-33.
- Nielsen, P.H., Harremoës, P. (1995). Solids: report of the discussion session. *Wat. Sci. Tech.*, 32(8), 273-275.
- Nielsen, P.H. (1996). Adsorption of ammonium to activated sludge. *Wat. Res.*, 30(3), 762-764.
- Nijhof, M., Klapwijk, A. (1995). Diffusion transport mechanisms and biofilm nitrification characteristics influencing nitrite levels in nitrifying trickling filter effluents. *Wat. Res.* 29(10), 2287-2292.
- Nikolavcic, B., Schweighofer, H., Kroiss, H. (1999). COD balance and nitrogen removal in a biofilter pilot plant. *En 4th IAWQ Conference on Biofilm Systems.* Nueva York, EEUUA.

- Nikov I., Nikolov V. y Dimitrov D. (1999). Biodegradation of aniline using light carriers with optimised surface in TPIFB. *Bioprocess Bioeng.* 21, 547-552.
- Ødegaard, H., Rusten, B., Badin, H. (1994). A new bed biofilm reactor-applications and results. *Wat. Sci. Tech.* 29(10/11), 157-165.
- Ødegaard, H., Gisvold, B., Strickland, J. (1999). The influence of carrier size and shape in the moving bed biofilm process. *En 4th IAWQ Conference on Biofilm Systems*. Nueva York, EEUUA.
- Okabe, S., Kuroda H., Watanabe Y. (1998). Significance of biofilm structure on transport of inert particulates into biofilms. *Wat. Sci. Tech.* 38-8/9, 163-170.
- Okabe, S., Watanabe, Y. (2000). Structure and function of nitrifying biofilms as determined by *in situ* hybridization and the use of microelectrodes. *Wat. Sci. Tech.* 42(12): 21-32.
- Ouyang, C. F., Chiou, R.J., Lin, C.T. (2000). The characteristics of nitrogen removal by the biofilter system. *Wat. Sci. Tech.* 42(12): 137-147.
- Park, D., Chang, W. (2000). Simultaneous removal of nitrogen and phosphorus in a two-biofilter system. *Wat. Sci. Tech.* 41(12): 101-106.
- Pasinetti, E., Emondi, V. (2003). Moving bed biofilm reactor: A novel methodological approach for biomass and population dynamic assesment from several pilot and full scale reactors. *En 5th Biofilm System Conference IWA*. Ciudad del Cabo, Sudáfrica.
- Pastorelli, G., Andreottola, G., Canziani, R. (1997). Pilot plant experiments with moving bed biofilm reactors. *Wat. Sci. Tech.* 36(1), 43-50.
- Picioreanu C., van Loosdrecht M. C. M., Heijnen J. J. (2000). Effect of diffusive and convective substrate transport on biofilm structure formation: a two-dimensional modeling study. *Biotechnol. Bioeng.* 69-5, 504-515.
- Randall, C.W.; Barnard, J.L., Stensel, D.H. (1992). Design and retrofit of wastewater treatment plants for biological nutrient removal. Volumen 5. Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, EEUUA.
- Rasmussen K., Lewandowski, Z. (1998). Microelectrode measurements of local mass transport rates in heterogeneous biofilms. *Biotechnol. Bioeng.* 59-3, 302-309.
- Rees, M., Nason, A. (1965). Incorporation of atmospheric oxygen into nitrite formed during ammonia oxydation by *Nitrosomonas europea*. *Biochim. Biophys. Acta.* 113, pp. 398.
- Renz, G. (1985). Sanierung der Restabwasserkläranlage mit dem Linpor®-Verfahren. *Wochenblatt für Papierfabrikation.* 113(21), 805-808
- Rheinheimer, G., Hegemann, W., Raff, J., Sekoulov, Y . Editores (1988). Stickstoff-kreislauf im Wasser. Editorial Oldenbourg, Munich, RFA.
- Rusten B., Eliassen H. (1993). Sequencing batch reactors for nutrient removal at small wastewater treatment plants. *Wat. Sci. Tech.* 28-10, 233-242.
- Rusten B., Siljudalen J.G. y Nordeidet B. (1994). Upgrading to nitrogen removal with the KMT moving bed biofilm process; *Wat. Sci. Tech.* 29-12, 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., McCoy, M., Proctor, R., Siljudalen, J.G. (1998). The innovative moving bed biofilm reactor/solids contact reaeration process for

- secondary treatment of municipal wastewater. *Water Environmental Research*. 5(70), 1083-1089.
- Schlegel, H.G. (1997). Microbiología general. Ediciones Omega. Barcelona, España. 389-393
- Schramm, A. (1998). *In situ* structure and function analysis of nitrifying/denitrifying biofilms. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Universidad de Bremen, RFA.
- Schramm, A., de Beer, D., van den Heuvel, H., Ottengraf, S., Amman, R. (1998). *In situ* structure/function studies in wastewater treatment systems. *Wat. Sci. Tech.* 37, 413-416.
- STATA (2001). Statistics with STATA. Versión 7. StataCorp LP. Texas, EEUUA.
- Stoodley P., Lewandowski Z., Boyle J. D., Lappin-Scott H. (1999). Structural deformations of bacterial biofilms caused by short-term fluctuations in fluid shear: An *in situ* investigation of biofilm rheology. *Biotech. Bioeng.* 65-1, 83-92.
- Stover, E.L., Kincannon, D.F. (1982). Rotating biological contactor scale-up and design. En Proc. First Intl. Conf. Fixed-Film Biol. Processes. Wu, Y.C., Smith, E.D., Miller, R.D., Opatken, E.J.. Eds. Vol. III. Universidad de Pittsburg, P 1667. EEUUA
- Surampalli R. Y., Tyagi R. D., Scheible O.K., Heidman J. A. (1997). Nitrification, denitrification, and phosphorus removal in sequential batch reactors. *Bioresource Technol.* 67, 151-157.
- Tyagi R. D., Vembu K. (1990). Wastewater treatment by immobilized cells. CRC Press, Inc. Florida, EEUUA.
- Vermicon AG.(2001). Nitri-VIT determinación de bacterias nitrificantes. Dachauer Str. 148. 80992 Munich, RFA. www.vermicon.com
- van Loosdrecht, M.C.M., Eikelboom, D., Gjaltema, A., Mulder, A., Tjihuis, L., Heijnen, J.J. (1995). Biofilm structures. *Wat. Sci. Tech.* 32(8), 35-43.
- van Loosdrecht, M.C.M., van Benthum, W.A.J., Heijnen, J.J. (1999). Integration of nitrification and denitrification in biofilm airlift suspension reactors. En 4th IAWQ Conference on Biofilm Systems. Nueva York, EEUUA.
- Vieira M., Melo L. y Pinheiro M. (1993). Biofilm formation: Hydrodynamic effects on internal diffusion and structure. *Biofouling*. 7, 67-80.
- Wagner, M., Hutzler, P., Amman, R. (1998). Three-dimensional analysis of complex microbial communities by combining confocal laser scanning microscopy and fluorescence *in situ* hybridization. *Digital image analysis of microbes: Morphometry, fluorometry, and motility techniques and applications*. M.H.F. Wilkinson, F. Schut (Eds.). John Wiley & Sons. Pp 467-483
- Wäsche S., Horn Harald, Hempel D. C. (1999). Mass transfer phenomena in biofilm systems. En 4th IAWQ Conference on Biofilm Systems. Nueva York, EEUUA.
- Weber, W. (1979). *Control de la calidad del agua*. Procesos fisicoquímicos. John Wiley & Sons. Pp 170-172. Barcelona, España.
- WEF (1992). Design of Municipal Wastewater Treatment Plants. Manual of Practice No. 8. Water Environment Federation and the American Society of Civil Engineers. Pp 1016-1019, 1026-1035. Alexandria, EEUUA.
- Wett, B., Rauch, W. (2003). The role of inorganic carbon limitation in biological nitrogen removal of extremely ammonia concentrated wastewater. *Wat. Res.*, 37, 1100-1110.

- Wijeyekoon, S., Mino, T., Satoh, H., Matsuo T. (1999). Growth and novel structural features of tubular biofilms produced under different hydrodynamic conditions. *En 4th IAWQ Conference on Biofilm Systems*. Nueva York, EEUUA.
- Wilderer, P.A. (1976) Reaktionskinetik in der biologischen Abwasseranalyse. *Kaslsruher Berichte*. Universidad de Karlsruhe, RFA. Pp 43-46.
- Wilderer, P.A. (1992). Sequencing batch biofilm reactor technology. *Harnessing Biotechnology for the 21st century*. American Chemical Society. Pp 475-479. Londres, GB.
- Wilderer, P.A., Cunningham, A., Schindler, U. (1995). Hydrodynamics and shear stress: report from the discussion session. *Wat. Sci. Tech.*, 32(8), 271-272.
- Wilderer, P.A., Irvine, R., Goronszy, M. (2001). Sequencing batch reactor technology. *Scientific and technical report IWA*. (10), 26-31.
- Wilderer, P.A., Bungartz, H., Lemmer, H., Wagner, M., Keller, J., Wuertz, S. (2002). Modern scientific methods and their potential in wastewater science and technology. *Wat. Res.*, 36, 370-393.
- Williamson, K., McCarty, P.L. (1990). *En Biofilms*. Characklis W. G., Marshall K. C. (Eds.). Wiley-interscience publication John Wiley and sons, Inc. pp. 796. EEUUA.
- Wilson, F., Lee, W.M. (1997). Rotating biological contactors for wastewater treatment in an equatorial climate. *Wat. Sci. Tech.* 35 (8), 177-184.
- Winer, B.J. (1971). Statistical principles in experimental design. Segunda edición. McGraw-Hill. Nueva York, EEUUA.
- Wood, B. D., Whitaker, S. (1999). Cellular growth in biofilms. *Biotech. Bioeng.* 64-6, 656-670.
- Woolard, C.R. (1997). The advantages of periodically operated biofilm reactors for the treatment of highly variable wastewater. *Wat. Sci. Tech.* 35(1), 199-206.
- Xavier, J.B., Malhó, R., Reis, A.M., Almeida, J.S. (2000). Description of biofilm formation by determination of developmental axis. *Wat.Sci.Tech.* 41(4-5), 121-127.
- Zhang, T.C., Bishop, P. (1994). Density, porosity, and pore structure of biofilms. *Wat. Res.* 28, 2267-2277.
- Zhang, T.C., Fu, Y.C., Bishop, P. (1994). Competition in biofilms. *Wat. Sci. Tech.* 29(10-11), 263-270.
- Zwerger, B., Arnold, E., Wilderer, P.A. (1999). Nutrient balances for combined nitrification and denitrification in biofilters. *En 4th IAWQ Conference on Biofilm Systems*. Nueva York, EEUUA.

APÉNDICE 1

Determinación del área superficial específica
de los medios de soporte utilizados en este trabajo

Determinación del área superficial específica de los medios de soporte

1. Esferas de arcilla (Liapor)

La Figura 1 muestra un ejemplar de este tipo de material. Se determinaron cinco diámetros de esferas y se cuantificaron cuántas esferas existen para cada diámetro en un volumen de 960 mL.



Figura 1. Esferas de arcilla (Liapor)

Tabla 1. Área determinada por tamaño de partícula

Características	Diámetro de las esferas				
	4 mm	5 mm	6 mm	7 mm	8 mm
Número de partículas	4733	1253	683	194	392
Área por partícula (m ²)	5.026 E ⁻⁵	7.854 E ⁻⁵	1.131 E ⁻⁴	1.539 E ⁻⁴	2.011 E ⁻⁴
Área de la suma de partículas por tamaño (m ²)	0.2379	0.0984	0.0772	0.0299	0.0788
Área total = 0.5222 m ²					

Por lo tanto, se tienen 0.5222 m²/0.960 litros,

$$\text{Área superficial específica} = \frac{0.5222 \text{ m}^2}{0.960 \text{ litros}} \times \frac{1000 \text{ litros}}{1 \text{ m}^3} = 543.98 \approx 544 \text{ m}^2 / \text{m}^3$$

La literatura reporta para este tipo de material un área superficial entre 500 y 550 m²/m³ (Morgenroth, 1998; Falkentoft, 2000; Arnz, 2001). Con base en el hecho de que el lote de material fabricado puede variar en el porcentaje de tamaños en cada caso y no sabiendo los criterios que utilizaron cada uno de los autores, se decidió trabajar con el valor determinado en este trabajo de 544 m²/m³.

2. Anillos (Kaldnes)

En una probeta de 1000 mL caben 1050 piezas de material Kaldnes en un arreglo al azar. En la Figura 2 se puede apreciar la configuración de este tipo de material. Para el caso de los “macarrones noruegos”, es estudios previos utilizando este tipo de material como lecho fijo, se observó que la parte axial que ofrece este material es ocupada en su totalidad por la biopelícula (Gieseke *et al.*, 2002). Por lo tanto, se considera el área de una circunferencia como el área expuesta.

a) Área 1. Área del espacio axial. Se considera como la circunferencia, en este caso se tiene la base inferior y superior de un cilindro circular recto (Figura 2, vista frontal).

$$a = p * r^2 = p (4.5mm)^2 = 63.62mm^2 = 6.36E^{-5}m^2 (2caras) = 1.27E^{-4}m^2$$

a = área de un círculo

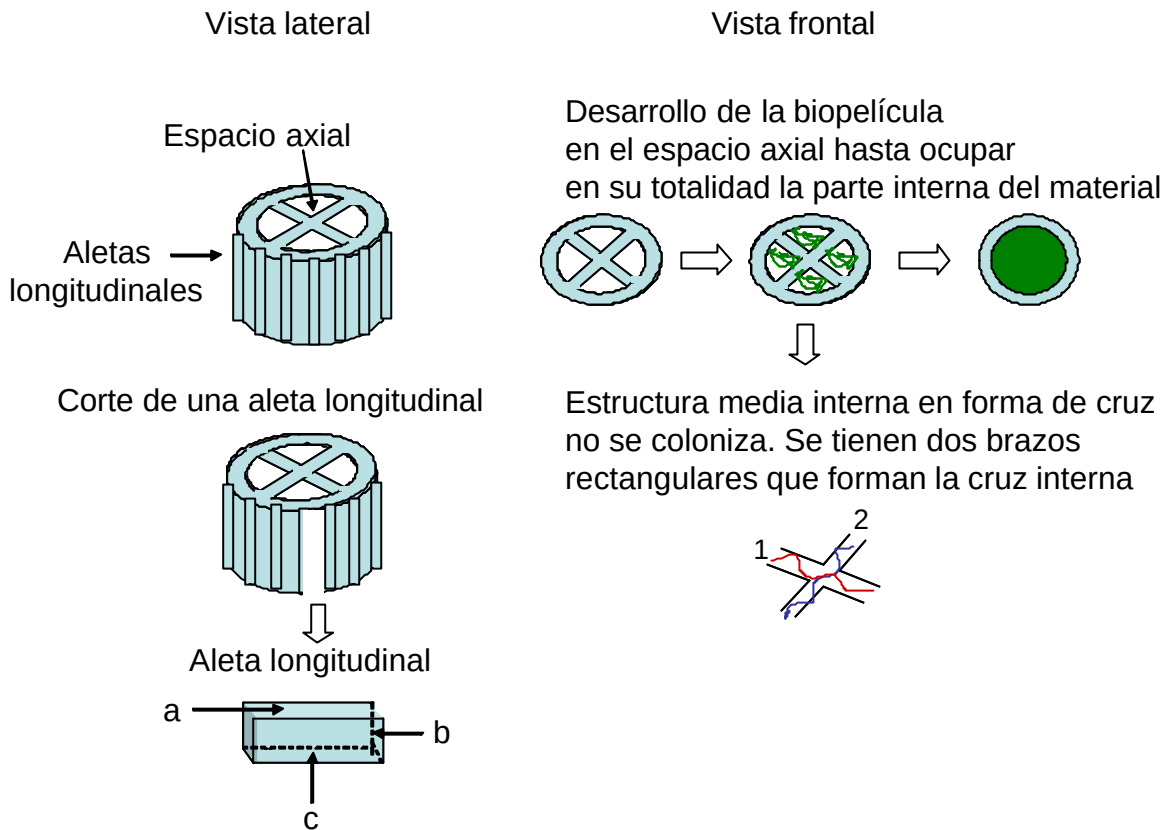


Figura 2. Esquema del medio de soporte en forma de anillos marca Kaldnes

b) Área 2. Estructura en forma de cruz. El área de la estructura en forma de cruz que da soporte a la estructura de este material, se considera cada brazo como un rectángulo. Considerando la base inferior y superior se tiene entonces cuatro brazos.

$$a_1 = b * h = (7.88mm)(0.45mm) = 3.51mm^2 (4brazos) = 14.04mm^2 = 1.40E^{-5}m^2$$

a_1 = área de un rectángulo

En el área de la cruz se considera que no hay crecimiento de bacterias, por lo que se resta del área calculada para la circunferencia de la base inferior y superior.

$$a_2 = 1.27E^{-4} - 1.40E^{-5} = 1.13E^{-4}m^2$$

a_2 = área total cubierta por biomasa en la base superior e inferior de Kaldnes.

c) Por último, se calculó el área de las aletas longitudinales externas considerando que cada aleta está formada por tres rectángulos a-b-c (ver figura 2, aleta longitudinal). En total se tienen 18 canales por cada partícula de material de soporte.

$$\text{Área de un rectángulo} = a = ba$$

$$\text{Área a} = (7 \text{ mm})(2 \text{ mm}) = 14 \text{ mm}^2$$

$$\text{Área b+c} = (7 \text{ mm})(0.4 \text{ mm}) = 2.8 \text{ mm}^2 \text{ (2 lados)} = 5.6 \text{ mm}^2$$

$$\text{Área total de un canal} = 14 \text{ mm}^2 * 5.6 \text{ mm}^2 = 19.6 \text{ mm}^2$$

$$\text{Área total de 18 aletas longitudinales} = 19.6 \text{ mm}^2 (18 \text{ aletas}) = 352.8 \text{ mm}^2 = 3.528 \times 10^{-4} \text{ m}^2$$

Sumando este valor con el valor obtenido para el área de la base inferior y superior del cilindro se tiene el área total de un anillo:

$$\text{Área total de un anillo} = 1.13 \times 10^{-4} \text{ m}^2 + 3.528 \times 10^{-4} \text{ m}^2 = 4.66 \times 10^{-4} \text{ m}^2$$

Este valor se multiplicó por 1050 piezas que corresponden a un volumen de un litro, para luego extrapolar este valor en metros cúbicos y así obtener el área superficial específica:

$$\text{Área superficial específica} = 4.66 \times 10^{-4} \text{ m}^2 * 1050 \text{ piezas} = 0.489 \text{ m}^2/\text{L} = 489 \text{ m}^2/\text{m}^3$$

Este valor comparado con lo que reporta la literatura de $480 \text{ m}^2/\text{m}^3$ no presenta diferencias significativas, por lo que se considerará el valor reportado por la literatura para el presente trabajo.

3. Cubos de hule espuma (Linpor)

En un recipiente de 10 litros se colocaron al azar partículas de material Linpor. En total correspondieron a ese volumen una cantidad de 1980 piezas de material. La Figura 3 presenta una fotografía de los cubos de hule espuma.

Para calcular la densidad de área en este material, se considera que el área expuesta que ofrece este material para el desarrollo de una biopelícula es el área que ofrecen las seis caras de la forma hexaédrica de este tipo de material. Por lo tanto, se calcula el área superficial de una partícula considerando la fórmula para un hexaedro

$$a = 6a^2 = 6(0.015 \text{ m})^2 = 1.35 \times 10^{-3} \text{ m}^2 \text{ (1980 piezas)} = 2.67 \text{ m}^2/0.010 \text{ m}^3$$

$a = \text{área de un hexaedro perfecto (cubo)}$

$$\text{Área superficial específica} = \frac{2.67 \text{ m}^2}{10 \text{ L}} \times \frac{1000 \text{ L}}{1 \text{ m}^3} = 267 \text{ m}^2 / \text{m}^3$$

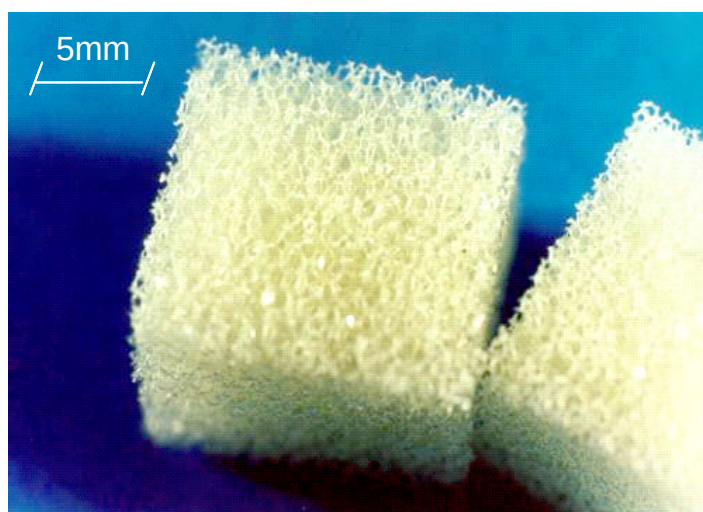


Figura 3. Cubo de hule espuma (Linpor)

Tabla 2. Precio comercial de los medios de soporte. En México no existe distribuidor por lo que debe ordenarse directamente a las compañías. Los gastos por envío no están considerados en esta tabla

Medio de soporte	Compañía	Precio (Saco de 50L)
Anillos Kaldnes	Kaldnes Miljøteknologi AS http://www.kmt.no/adr.htm	55 Euros
	Nishikigoi International http://koimag.com/store/misc/kladnes.html	55 Euros
	Mystic Coi and Water Gardens http://www.pondpetsusa.com/filter_media/kaldnes.html	79 Dólar americano
Esferas Liapor	http://www.liapor.com/de/start.php	25 Euros
Cubos Linpor	http://www.linde.de	5 Euros

APÉNDICE 2

Toma de muestras para su análisis
en el microscopio estereoscópico y confocal láser de barrido

Toma de muestras

- Las muestras de medio de soporte con biopelícula se colectan en húmedo directamente de los reactores (10-15 partículas), siempre del mismo lugar y tratando de tomar partículas de la parte interna del lecho evitando tomar las primeras partículas que están en contacto con las paredes del reactor o del punto de muestreo.
- Se debe tener listo algún recipiente con una solución amortiguadora de fosfatos (SAF) (Tabla 1), colocando en dicho recipiente la muestra a analizar.

Tabla 1. Composición para un litro de solución SAF

Compuesto	Cantidad (g)
NaCl	8.0
KCl	0.2
Na ₂ HPO ₄	1.44
NaH ₂ PO ₄	0.2

- Sacar del refrigerador el colorante de isotiocianato de fluoresceína (FITC, por sus siglas en inglés fluorescein isothiocyanate) al 0.01% (Tabla 2).

Tabla 2. Características de la composición del colorante FITC (en polvo)

Colorante	isotiocianato de fluoresceína
Fórmula	C ₂₁ H ₁₁ NO ₅ S
Composición	Ligado a una proteína
Temperatura ambiente	2-8°C

- Con la ayuda de pinzas, colocar las partículas a analizar en el colorante durante 15 minutos.
- Al cabo de los 15 minutos lavar tres veces las partículas con SAF.
- Colocar las muestras a observar en algún recipiente especial con SAF. Tener a la mano la solución amortiguadora de fosfatos y, para que sirvan como portaobjetos, cajas Petri adaptadas. En este punto se da el arreglo final de la muestra a analizar de acuerdo a la configuración de cada tipo de material de soporte utilizado.
- Las muestras pueden ser almacenadas a -20°C.

Arreglo final

- a) Esferas de arcilla (Llapor). La Figura 1 esquematiza la forma de proceder para obtener la muestra de la superficie de la esfera. Se debe sostener con pinzas la esfera de cerámica con biomasa. Con ayuda de una navaja fina y filosa colocada sobre la parte superior media del material, dar un golpe con martillo sobre la navaja de modo que corte la esfera de cerámica por la mitad. De esta forma se obtienen dos semiesferas. Sólo se debe tomar una de las dos semiesferas por muestra y desechar la otra. Se deben colectar varias muestras (8-10 semiesferas de material). Se coloca la semiesfera sobre la caja Petri adaptada para observar al microscopio.

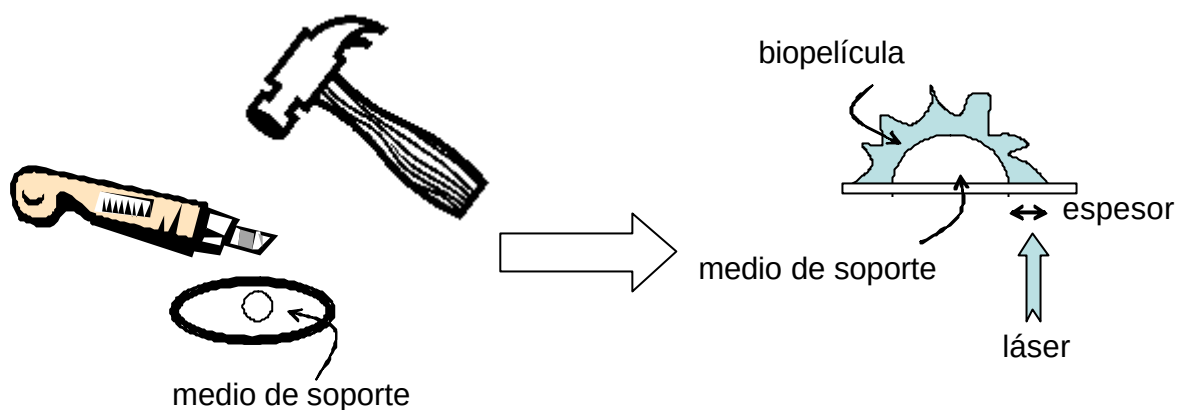


Figura 1. Arreglo de las semiesferas de arcilla para observar la biopelícula en el microscopio confocal láser de barrido

- b) Anillos (Kaldnes). Observar el material sólo por su parte externa (canales externos).
- c) Cubos de hule espuma (Linpor). Realizar cuidadosamente cortes de los cubos de hule espuma y observar al microscopio.

Análisis por hibridación fluorescente *in situ* (FISH, por sus siglas en inglés)

I. Colecta de muestras

a) Esferas de arcilla (Liapor). Se colectan 30 mL de material de soporte con biomasa. En un frasco con tapa se deposita el material con solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 0.01 por ciento. Se somete el material a una agitación manual para desprender la biomasa adherida a las partículas esféricas de cerámica.

b) Anillos (Kaldnes). De las muestras tomadas de los “macarrones” noruegos se hicieron raspados con aguja de disección de tres diferentes zonas de cada partícula de material. Se raspó la biomasa atrapada sobre los canales externos con los que cuenta este material. Se raspó la biomasa superficial que se encontraba en la parte axial. Se realizaron cortes longitudinales con navajas de afeitar de la sección acanalada. De esta forma quedaba expuesta la biomasa atrapada internamente. Se trató de raspar la biomasa que se encontraba en la parte media de la parte axial. De esta forma se analizó la presencia de bacterias nitrificantes en los canales externos, en la superficie y en el interior de la parte axial del material de soporte.

c) Cubos de hule espuma (Linpor). Se realizaron diferentes cortes de la parte externa hacia la parte interna con la ayuda de navajas de afeitar. De forma que se contaban con diferentes hojas siguiendo la secuencia de afuera hacia adentro del material de hule espuma. Se tomaron las hojas por secciones y se lavaron con solución de hidróxido de sodio al 0.01%. Con este procedimiento se identificó la presencia de bacterias nitrificantes en diferentes secciones tanto de la parte externa como la interna del material de soporte.

II. Preparación de las muestras

1. Se colocan 250 mL de muestra en un tubo Eppendorf. Se le agregan 750 mL de solución de paraformaldehído (PFA) al 4%.
2. Centrifugar a 14,000 rpm durante 3 minutos.
3. Tomar del sobrenadante 800 mL y colocarlos en otro tubo Eppendorf.
4. Agregar 800 mL de solución amortiguadora de fosfatos.
5. Centrifugar a 14,000 rpm durante 3 minutos.
6. Tomar 800 mL del sobrenadante y colocarlos en otro tubo Eppendorf.
7. Agregar 400 mL de solución amortiguadora de fosfatos y agregar 400 mL de etanol frío.
8. Almacenar a -20°C.

A cada una de las muestras se les aplicó el método FISH de Vermicon Ag (2001). Vermicon ha desarrollado un estuche comercial para determinar bacterias nitrificantes (nitri-VIT) en una forma rápida y sencilla. Este estuche contiene las soluciones preparadas utilizadas durante la determinación y trae consigo el procedimiento a seguir. No trae especificaciones sobre la formulación de cada una de las soluciones.

APÉNDICE 3

Determinación del parámetro adimensional
de penetración (β)

Determinación del parámetro adimensional de penetración (β)

$$b = \sqrt{\frac{2 \cdot D \cdot C_{S,0}}{k_0 \cdot L_F^2}}$$

β	parámetro de penetración	adimensional
$C_{S,0}$	concentración de sustrato	mg/L
D	coeficiente de difusión del sustrato	m ² /d
k_0	tasa de reacción de orden cero	g/m ³ ·d
L_F	espesor de la biopelícula	m

Coeficientes de difusión molecular dentro de la biopelícula

compuesto	D, m ² /d	fuerce
Oxígeno	1.7-2.1 E ⁻⁴	Harremöes y Henze, 1997
	1.9 E ⁻⁴	Williamson y McCarty, 1976
DQO	0.3-0.6 E ⁻⁴	Harremöes y Henze, 1997
NH ₄ ⁺	1.2 E ⁻⁴	Williamson y McCarty, 1976
NO ₃ ⁻	1.3 E ⁻⁴	Williamson y McCarty, 1976

Anillos (Kaldnes)

Determinación de β en el espacio axial

Substrato: materia orgánica medida como DQO total

D(DQO)m ² /d	C(DQO),g/m ³	k, g/m ³ ·d	L ² ,m ²	β
4.00E-05	109	839.33	1.23E-05	0.92092407
4.00E-05	142	383.69	1.23E-05	1.55464374
4.00E-05	95	432.0	1.23E-05	1.19838642
4.00E-05	69	272.0	1.23E-05	1.28711408

Substrato: N-NH₄

D(NH ₄)m ² /d	C(N-NH ₄), g/m ³	k, g/m ³ ·d	L ² ,m ²	β
1.20E-04	19.0	47.96	1.23E-05	2.78595944
1.20E-04	25.0	47.96	1.23E-05	3.19571465
1.20E-04	40.0	16.0	1.23E-05	6.99854212
1.20E-04	17.7	6.4	1.23E-05	7.36095602

Substrato: N-NO₃

D(NO ₃)m ² /d	C(N-NO ₃), g/m ³	k, g/m ³ ·d	L ² ,m ²	?
1.30E-04	0.3	7.19	1.23E-05	0.94105458
1.30E-04	0.3	7.19	1.23E-05	0.94105458
1.30E-04	0.1	1.6	1.23E-05	1.15175111
1.30E-04	0.1	2.112	1.23E-05	1.00247066

Substrato: Oxígeno disuelto

$D(O_2)m^2/d$	$C(O_2), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	β
1.90E-04	4.4	55.16	1.23E-05	2.47
1.90E-04	4.2	21.58	1.23E-05	6.04
1.90E-04	0.4	54.4	1.23E-05	0.23
1.90E-04	1.5	108.8	1.23E-05	0.43

Determinación de β en las aletas longitudinales

Substrato: materia orgánica medida como DQO total

$D(DQO)m^2/d$	$C(DQO), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	β
4.00E-05	109	839.33	1.69E-06	2.47941096
4.00E-05	142	383.69	1.69E-06	4.18557929
4.00E-05	95	432.0	2.03E-07	9.30929738
4.00E-05	69	272.0	2.03E-07	9.99855104

Substrato: N-NH₄

$D(NH_4)m^2/d$	$C(N-NH_4), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	?
1.20E-04	19.0	47.96	1.69E-06	7.50066004
1.20E-04	25.0	47.96	1.69E-06	8.60384714
1.20E-04	40.0	16.0	2.03E-07	54.3660282
1.20E-04	17.7	6.4	2.03E-07	57.1813294

Substrato: N-NO₃

$D(NO_3)m^2/d$	$C(N-NO_3), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	?
1.30E-04	0.3	7.19	1.69E-06	2.53360848
1.30E-04	0.3	7.19	1.69E-06	2.53360848
1.30E-04	0.1	1.6	2.03E-07	8.94702526
1.30E-04	0.1	2.112	2.03E-07	7.78738593

Substrato: Oxígeno disuelto

$D(O_2)m^2/d$	$C(O_2), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	β
1.90E-04	4.4	105.52	1.69E-06	3.06201556
1.90E-04	4.2	105.52	1.69E-06	2.99161498
1.90E-04	0.4	6.4	2.03E-07	10.8164261
1.90E-04	1.5	6.4	2.03E-07	20.9459191

Cubos de hule espuma (Linpor)

Substrato: materia orgánica medida como DQO total

D(DQO)m ² /d	C(DQO),g/m ³	k, g/m ³ ·d	L ² ,m ²	β
4.00E-05	109	1103.12	4.90E-5	0.40165097
4.00E-05	142	911.27	4.90E-5	0.5043913
4.00E-05	95	496.0	4.90E-5	0.55920097
4.00E-05	69	624.0	4.90E-5	0.42489264

Substrato: N-NH₄

D(NH ₄)m ² /d	C(N-NH ₄), g/m ³	k, g/m ³ ·d	L ² ,m ²	β
1.20E-04	16.0	124.7	4.90E-5	0.79274652
1.20E-04	15.0	167.86	4.90E-5	0.66157579
1.20E-04	30.0	167.87	4.90E-5	0.93558158
1.20E-04	10.8	103.12	4.90E-5	0.71622258

Substrato: N-NO₃

D(NO ₃)m ² /d	C(N-NO ₃), g/m ³	k, g/m ³ ·d	L ² ,m ²	β
1.30E-04	2.1	50.36	4.90E-5	0.47038712
1.30E-04	3.9	93.52	4.90E-5	0.47040149
1.30E-04	2.0	47.96	4.90E-5	0.47039646
1.30E-04	4.5	108.15	4.90E-5	0.46987423

Substrato: Oxígeno disuelto

D(O ₂)m ² /d	C(O ₂), g/m ³	k, g/m ³ ·d	L ² ,m ²	β
1.90E-04	6.2	16.79	4.90E-5	1.69
1.90E-04	5.5	16.79	4.90E-5	1.59
1.90E-04	4.6	9.6	4.90E-5	1.93
1.90E-04	7.8	11.2	4.90E-5	2.32

Esferas de arcilla (Liapor)

Substrato: materia orgánica medida como DQO total

$D(DQO)m^2/d$	$C(DQO), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	β
4.00E-05	109	1270.98	1.80E-08	19.5232732
4.00E-05	142	528.0	1.80E-08	34.5729113
4.00E-05	95	240.0	1.81E-07	13.2270163
4.00E-05	69	256.0	1.81E-07	10.9146614

Substrato: N-NH₄

$D(NH_4)m^2/d$	$C(N-NH_4), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	β
1.20E-04	18.0	71.94	1.80E-08	57.7590982
1.20E-04	23.0	167.87	1.80E-08	42.7412029
1.20E-04	40.0	32.0	1.81E-07	40.7118971
1.20E-04	16.9	6.4	1.81E-07	59.1724701

Substrato: N-NO₃

$D(NO_3)m^2/d$	$C(N-NO_3), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	β
1.30E-04	2.0	47.96	1.80E-08	24.5428974
1.30E-04	2.6	52.35	1.80E-08	26.7842045
1.30E-04	0.3	4.8	1.81E-07	9.47517839
1.30E-04	4.51	72.16	1.81E-07	9.47517839

Substrato: Oxígeno disuelto

$D(O_2)m^2/d$	$C(O_2), g/m^3$	$k, g/m^3 \cdot d$	L^2, m^2	β
1.90E-04	6.2	16.78	1.80E-08	7800.29135
1.90E-04	6.5	11.99	1.80E-08	11444.7225
1.90E-04	0.6	3.2	1.81E-07	393.646409
1.90E-04	1.1	4.8	1.81E-07	481.123389

APÉNDICE 4

Valores de las mediciones en influente y efluente de:

DQO total y soluble, N-NH₄, N-NO₂, N-NO₃, P-PO₄

Valores de DQO total y soluble, en influente y efluente, durante todo el experimento

Fecha	día experimental	carga orgánica gDQO/m ² ·d	DQO total, mg/L				DQO soluble, mg/L			
			Influente	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor	Influente	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor
28.06.2000	1	0.3-0.4	178	33	39	-	50	27	25	-
14.07.2000	16	SD	SD	33	24	-	SD	29	19	-
20.07.2000	22	0.5	258	39	43	-	154	33	29	-
24.07.2000	26	1.4-1.5	730	74	SD	-	99	59	47	-
10.08.2000	43	1.1-1.2	571	SD	SD	-	126	SD	SD	-
18.08.2000	51	0.3	132	49	50	-	40	42	33	-
23.08.2000	56	0.9-1.0	468	SD	SD	-	127	SD	SD	-
25.08.2000	58	0.4	211	29	31	-	81	24	22	-
30.08.2000	63	0.1	66	33	42	-	53	25	26	-
08.09.2000	72	0.2	108	50	52	-	72	32	32	-
13.09.2000	77	0.9	445	34	46	-	100	25	29	-
21.09.2000	85	0.5	248	28	38	-	75	26	27	-
27.09.2000	91	0.8-0.9	412	54	53	-	143	25	32	-
04.10.2000	98	0.3-0.4	174	31	50	-	56	24	24	-
19.10.2000	113	0.2-0.3	126	27	33	-	50	21	25	-
25.10.2000	119	0.5	250	SD	SD	-	87	SD	SD	-
22.11.2000	147	0.7	342	50	39	-	84	25	25	-
29.11.2000	154	0.8	405	32	36	-	84	18	18	-
07.12.2000	162	0.2	105	19	22	-	59	15	20	-
13.12.2000	168	0.3-0.4	171	16	22	-	80	16	21	-
21.03.2001	221	0.7-1.7	90	57	18	23	SD	SD	SD	SD
23.03.2001	223	0.7-1.7	92	41	57	39	SD	SD	SD	SD
28.03.2001	228	0.8-1.9	103	31	33	29	36	19	26	19
10.04.2001	241	0.8-2.0	109	17	48	20	45	15	31	16
30.04.2001	264	0.9-2.2	119	29	76	50	64	19	25	28
08.05.2001	267	0.6-1.3	72	16	60	21	35	14	22	16
29.05.2001	288	1.3-3.1	170	22	58	22	86	16	17	18
30.05.2001	290	1.1-2.6	142	22	89	37	76	15	23	17
13.07.2001	334	5.1-4.6	198	49	59	47	85	29	34	35
25.07.2001	345	4.1-4.5	177	47	52	40	76	29	36	26

SD, sin determinar

Linpor se integró al experimento a partir del 21.03.2001 (ver estudios preliminares, subcapítulo 4.1)

Valores de DQO total y soluble, en influente y efluente, durante todo el experimento
(Cont.)

Fecha	día experimental	carga orgánica gDQO/m ² -d	DQO total, mg/L				DQO soluble, mg/L			
			Influente	Esferas Liapor	Efluentes Anillos Kaldnes	Cubos Linpor	Influente	Esferas Liapor	Efluentes Anillos Kaldnes	Cubos Linpor
01.08.2001	352	2.2-2.4	95	52	51	40	73	32	28	25
08.08.2001	359	4.7-5.2	203	62	50	37	85	35	31	23
12.09.2001	394	6.3-6.8	268	48	59	25	88	32	29	19
14.09.2001	396	5.5-6.0	235	71	64	33	95	33	34	24
31.10.2001	443	8.4-9.1	358	53	SD	40	154	42	35	28
21.11.2001	464	5.0-5.5	214	70	SD	54	49	34	35	27
05.12.2001	478	4.9-5.4	212	65	SD	49	71	33	32	23
07.12.2001	480	3.5-3.8	150	47	81	29	57	33	32	18
12.12.2001	485	7.9-8.7	339	88	71	58	65	42	40	23
14.12.2001	487	3.7-4.0	157	67	71	43	61	33	26	26
19.12.2001	492	5.5-6.0	234	59	65	61	89	45	42	37
16.01.2002	500	6.8-7.4	291	63	58	38	71	31	31	23
18.01.2002	502	5.2-5.7	223	56	49	28	67	30	30	16
23.01.2002	507	4.2-4.6	180	66	62	38	74	35	36	21
27.02.2002	542	8.2-8.9	350	84	42	4.4	84	48	42	27
08.03.2002	551	6.1-6.7	262	63	29	3.9	63	SD	38	SD
15.03.2002	558	6.2-6.8	265	74	39	5	74	SD	33	24
22.03.2002	565	8.2-9.0	353	134	30	4.8	134	35	32	24
10.04.2002	584	7.0-7.6	298	67	26	3.8	67	28	28	22
31.05.2002	635	4.8-5.2	205	58	33	3.8	58	31	34	12
06.06.2002	641	11.5-12.5	491	130	42	4.6	130	32	SD	22
07.07.2002	673	4.5-4.9	191	74	39	5.2	74	31	28	23
18.07.2002	684	6.5-7.1	196	94	SD	58	84	47	49	37
20.07.2002	689	6.9-7.6	152	63	68	47	63	35	40	37
21.07.2002	691	7.1-7.8	147	55	61	45	47	28	31	25
24.07.2002	696	9.1-10	139	61	61	41	60	35	36	28
25.07.2002	698	11.5-12.6	246	60	74	49	62	35	38	31

SD, sin determinar

Los datos no son considerados en el análisis de resultados a partir del día experimental 684
debido a la operación irregular de los reactores experimentales durante este período

Valores de nitrógeno amoniacal (N-NH₄) y ortofosfatos (P-PO₄), en influente y efluente, durante todo el experimento

Fecha	día experiemental	carga orgánica gDQO/m ² ·d	N-NH ₄ , mg/L		P-PO ₄ , mg/L				
			Influente	Efluentes	Influente	Efluentes	Cubos Linpor		
				Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor
28.06.2000	1	0.3-0.4	38.0	3.0	0.4	-	3.9	3.3	-
14.07.2000	16	SD	2.0	0.4	2.1	-	SD	SD	-
20.07.2000	22	0.5	48.0	18.0	34.0	-	9.1	5.4	7.7
24.07.2000	26	1.4-1.5	30.0	2.9	3.5	-	4.0	3.5	3.5
10.08.2000	43	1.1-1.2	37.0	1.0	7.9	-	3.9	4.4	4.7
18.08.2000	51	0.3	19.0	0.4	11.1	-	3.5	4.0	4.1
23.08.2000	56	0.9-1.0	40.0	SD	SD	-	4.9	SD	SD
25.08.2000	58	0.4	27.0	0.9	0.4	-	2.9	3.4	3.8
30.08.2000	63	0.1	31.0	0.3	4.8	-	4.3	3.6	4.1
08.09.2000	72	0.2	46.0	1.9	1.1	-	3.4	3.6	4.1
13.09.2000	77	0.9	37.0	0.2	4.6	-	3.1	5.2	4.7
21.09.2000	85	0.5	16.0	0.02	0.5	-	2.3	3.8	3.9
27.09.2000	91	0.8-0.9	37.0	0.3	2.0	-	4.6	3.7	4.3
04.10.2000	98	0.3-0.4	42.0	0.8	1.0	-	2.7	3.0	3.3
19.10.2000	113	0.2-0.3	32.0	0.4	0.4	-	2.5	3.3	3.3
25.10.2000	119	0.5	77.0	1.2	1.1	-	1.7	3.2	3.4
22.11.2000	147	0.7	49.0	11.0	12.0	-	3.6	3.1	3.6
29.11.2000	154	0.8	33.0	1.0	2.0	-	4.4	3.3	3.6
07.12.2000	162	0.2	23.0	0.09	0.3	-	2.7	3.4	3.6
13.12.2000	168	0.3-0.4	33.0	0.3	0.6	-	3.4	3.7	4.0
21.03.2001	221	0.7-1.7	SD	SD	SD	SD	SD	SD	SD
23.03.2001	223	0.7-1.7	41.0	SD	SD	0.1	SD	SD	SD
28.03.2001	228	0.8-1.9	17.0	0.07	0.06	0.05	1.8	0.9	0.6
10.04.2001	241	0.8-2.0	22.0	0.06	2.0	0.07	2.3	0.1	0.3
30.04.2001	264	0.9-2.2	37.0	0.1	SD	0.5	2.6	0.7	0.2
08.05.2001	267	0.6-1.3	18.0	0.06	0.07	0.05	1.9	0.8	0.3
29.05.2001	288	1.3-3.1	22.0	0.07	0.06	0.05	3.3	0.8	1.6
30.05.2001	290	1.1-2.6	26.0	0.8	0.7	0.6	3.6	0.9	1.2
13.07.2001	334	5.1-4.6	33.0	17.0	16.0	5.0	3.6	3.4	2.7
25.07.2001	345	4.1-4.5	46.0	30.0	45.0	18.0	3.9	3.7	SD

SD, sin determinar

Linpor se integró al experimento a partir del 21.03.2001

(ver estudios preliminares, subcapítulo 4.1)

Valores de nitrógeno amoniacal (N-NH₄) y ortofosfatos (P-PO₄), en influente y efluente, durante todo el experimento (Cont.)

Fecha	día experimental	carga orgánica gDQO/m ² ·d	N-NH ₄ , mg/L			P-PO ₄ , mg/L				
			Influente	Esferas Liapor	Efluentes Anillos Kaldnes	Cubos Linpor	Influente	Esferas Liapor	Efluentes Anillos Kaldnes	Cubos Linpor
01.08.2001	352	2.2-2.4	34.0	28.0	30.0	2.0	3.4	1.5	2.7	3.1
08.08.2001	359	4.7-5.2	42.0	32.0	35.0	1.0	3.4	1.5	3.3	1.4
12.09.2001	394	6.3-6.8	32.0	22.0	20.0	0.1	4.0	1.9	3.1	1.2
14.09.2001	396	5.5-6.0	43.0	30.0	29.0	0.7	4.2	3.7	5.1	2.9
31.10.2001	443	8.4-9.1	41.0	31.0	27.0	0.8	4.7	5.3	2.4	2.4
21.11.2001	464	5.0-5.5	36.0	36.0	34.0	12.0	3.9	3.3	SD	1.5
05.12.2001	478	4.9-5.4	35.0	30.0	26.0	7.0	4.1	4.2	2.6	1.4
07.12.2001	480	3.5-3.8	34.0	31.0	27.0	2.0	3.8	3.8	2.1	0.8
12.12.2001	485	7.9-8.7	54.0	46.0	42.0	14.0	4.5	5.6	5.0	3.3
14.12.2001	487	3.7-4.0	29.0	29.0	24.0	4.0	4.1	3.0	3.1	2.4
19.12.2001	492	5.5-6.0	31.0	30.0	31.0	2.0	4.4	3.3	5.5	0.7
16.01.2002	500	6.8-7.4	31.0	32.0	29.0	1.0	4.1	2.3	4.0	0.1
18.01.2002	502	5.2-5.7	38.0	33.0	29.0	2.0	4.1	3.1	4.0	0.2
23.01.2002	507	4.2-4.6	39.0	30.0	34.0	10.0	4.0	2.0	4.3	0.7
27.02.2002	542	8.2-8.9	42.0	38.0	39.0	12.0	4.4	3.4	4.9	1.4
08.03.2002	551	6.1-6.7	29.0	35.0	37.0	16.0	3.9	3.1	4.2	4.6
15.03.2002	558	6.2-6.8	39.0	43.0	43.0	17.0	5.0	3.6	4.1	1.7
22.03.2002	565	8.2-9.0	30.0	28.0	31.0	12.0	4.8	2.1	2.8	1.7
10.04.2002	584	7.0-7.6	26.0	26.0	21.0	8.0	3.8	2.6	3.6	SD
31.05.2002	635	4.8-5.2	33.0	20.0	10.0	5.0	3.8	3.0	3.7	2.8
06.06.2002	641	11.5-12.5	42.0	21.0	38.0	1.0	4.6	1.9	3.2	2.6
07.07.2002	673	4.5-4.9	39.0	16.0	24.0	8.0	5.2	1.6	2.4	2.2
18.07.2002	684	6.5-7.1	38.0	29.0	31.0	27.0	4.5	3.1	3.6	5.0
20.07.2002	689	6.9-7.6	34.0	23.0	21.0	15.0	4.3	3.8	3.7	4.2
21.07.2002	691	7.1-7.8	23.0	15.0	17.0	10.0	2.9	1.4	2.2	1.7
24.07.2002	696	9.1-10	23.0	16.0	16.0	9.0	3.6	3.3	4.2	3.9
25.07.2002	698	11.5-12.6	41.0	18.0	22.0	16.0	3.9	2.1	3.2	2.7

SD, sin determinar

Los datos no son considerados en el análisis de resultados a partir del día experimental 684 debido a la operación irregular de los reactores experimentales durante este período

Valores de N-NO₂ y N-NO₃, en influente y efluente, durante todo el experimento

Fecha	día experimental	carga orgánica	N-NO ₂ , mg/L			N-NO ₃ , mg/L		
			Efluentes			Efluentes		
		gDQO/m ² ·d	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor
28.06.2000	1	0.3-0.4	SD	SD	-	30.0	51.0	-
14.07.2000	16	SD	SD	SD	-	22.0	21.0	-
20.07.2000	22	0.5	SD	SD	-	12.0	13.0	-
24.07.2000	26	1.4-1.5	SD	SD	-	24.0	25.0	-
10.08.2000	43	1.1-1.2	SD	SD	-	24.0	12.0	-
18.08.2000	51	0.3	SD	SD	-	27.0	15.0	-
23.08.2000	56	0.9-1.0	SD	SD	-	SD	SD	-
25.08.2000	58	0.4	SD	SD	-	21.0	19.0	-
30.08.2000	63	0.1	SD	SD	-	27.0	21.0	-
08.09.2000	72	0.2	SD	SD	-	22.0	26.0	-
13.09.2000	77	0.9	SD	SD	-	35.0	37.0	-
21.09.2000	85	0.5	SD	SD	-	18.0	25.0	-
27.09.2000	91	0.8-0.9	SD	SD	-	30.0	34.0	-
04.10.2000	98	0.3-0.4	SD	SD	-	27.0	28.0	-
19.10.2000	113	0.2-0.3	SD	SD	-	30.0	29.0	-
25.10.2000	119	0.5	SD	SD	-	49.0	38.0	-
22.11.2000	147	0.7	SD	SD	-	14.0	14.0	-
29.11.2000	154	0.8	SD	SD	-	27.0	17.0	-
07.12.2000	162	0.2	SD	SD	-	21.0	21.0	-
13.12.2000	168	0.3-0.4	SD	SD	-	22.0	23.0	-
21.03.2001	221	0.7-1.7	SD	SD	-	SD	SD	SD
23.03.2001	223	0.7-1.7	SD	SD	-	9.0	9.0	23.0
28.03.2001	228	0.8-1.9	0.02	1.4	0.08	11.0	8.0	14.0
10.04.2001	241	0.8-2.0	0.02	14.0	0.04	17.0	6.0	15.0
30.04.2001	264	0.9-2.2	0.03	5.2	4.8	14.0	1.0	4.0
08.05.2001	267	0.6-1.3	0.1	4.1	0.04	14.0	9.3	8.4
29.05.2001	288	1.3-3.1	0	0.3	0	13.0	7.0	17.0
30.05.2001	290	1.1-2.6	0	5.7	0	15.0	6.0	18.0
13.07.2001	334	5.1-4.6	1.4	2.2	1.2	3.1	2.0	14.9
25.07.2001	345	4.1-4.5	0.136	0.062	1.07	7.7	0.9	15.2

SD, sin determinar

Linpor se integró al experimento a partir del 21.03.2001

(ver estudios preliminares, subcapítulo 4.1)

Valores de N-NO₂ y N-NO₃, en influente y efluente, durante todo el experimento (Cont.)

Fecha	día experimental	carga orgánica gDQO/m ² ·d	N-NO ₂ , mg/L			N-NO ₃ , mg/L		
			Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor	Esferas Liapor	Anillos Kaldnes	Cubos Linpor
01.08.2001	352	2.2-2.4	1.1	1.0	0.02	1.3	0.8	12.2
08.08.2001	359	4.7-5.2	1.0	1.0	0.5	1.2	1.4	15.8
12.09.2001	394	6.3-6.8	1.2	1.8	0.04	1.9	1.2	16.0
14.09.2001	396	5.5-6.0	1.4	1.8	0.2	2.0	1.3	16.2
31.10.2001	443	8.4-9.1	0.2	0.7	0.6	3.1	1.8	5.6
21.11.2001	464	5.0-5.5	0.4	0.5	0.5	0.8	0.4	6.9
05.12.2001	478	4.9-5.4	0.5	1.3	0.4	0.6	1.5	5.7
07.12.2001	480	3.5-3.8	1.2	1.7	0.3	0.8	1.5	7.3
12.12.2001	485	7.9-8.7	1.2	1.6	1.6	0.9	1.9	6.2
14.12.2001	487	3.7-4.0	2.1	1.6	1.2	1.3	2.6	5.7
19.12.2001	492	5.5-6.0	1.4	0.9	0.3	2.1	2.6	7.5
16.01.2002	500	6.8-7.4	1.3	1.3	0.1	1.1	1.5	11.8
18.01.2002	502	5.2-5.7	1.7	1.4	0.1	1.1	1.4	10.5
23.01.2002	507	4.2-4.6	2.6	0.9	0.3	1.7	1.0	6.7
27.02.2002	542	8.2-8.9	0.3	1.7	1.2	4.3	3.0	5.4
08.03.2002	551	6.1-6.7	0.4	0.7	0.9	4.8	5.8	4.4
15.03.2002	558	6.2-6.8	0.4	0.3	1.7	5.0	4.7	4.8
22.03.2002	565	8.2-9.0	0.5	0.2	1.0	2.8	3.1	1.0
10.04.2002	584	7.0-7.6	1.0	0.7	1.1	1.5	3.4	5.0
31.05.2002	635	4.8-5.2	3.3	1.0	1.0	2.6	3.2	5.5
06.06.2002	641	11.5-12.5	1.9	2.0	1.5	0.6	1.1	3.6
07.07.2002	673	4.5-4.9	2.5	2.4	1.8	4.1	4.9	7.1
18.07.2002	684	6.5-7.1	SD	SD	SD	5.0	6.0	5.0
20.07.2002	689	6.9-7.6	SD	SD	SD	7.0	9.0	11.0
21.07.2002	691	7.1-7.8	SD	SD	SD	5.0	5.0	8.0
24.07.2002	696	9.1-10	SD	SD	SD	6.0	8.0	12.0
25.07.2002	698	11.5-12.6	SD	SD	SD	5.0	6.0	9.0

SD, sin determinar

Los datos no son considerados en el análisis de resultados a partir del día experimental 684 debido a la operación irregular de los reactores experimentales durante este período

APÉNDICE 5

Ciclos de operación de 8 horas

Ciclo 1**Fecha: 10.04.2001****Día experimental: 241****Intervalo de carga orgánica: 0.5-2.5 gDQO/m²·d**

Los valores de los parámetros del agua residual cruda en esta fecha fueron: DQO total 109 mg/L, DQO soluble 45 mg/L, N-NH₄ 22 mg/L; P-PO₄ 2.35 mg/L, pH:7.7 y temperatura de 13 °C. Este ciclo se eligió como representativo de este intervalo de carga orgánica porque los reactores presentaban condiciones estables de operación, mostrando el comportamiento típico que presentaron los tres reactores a lo largo de este periodo en la transformación de material carbonoso, nitrogenado y fosforado. El comportamiento de cada uno de los reactores se analiza en el capítulo 8 del texto.

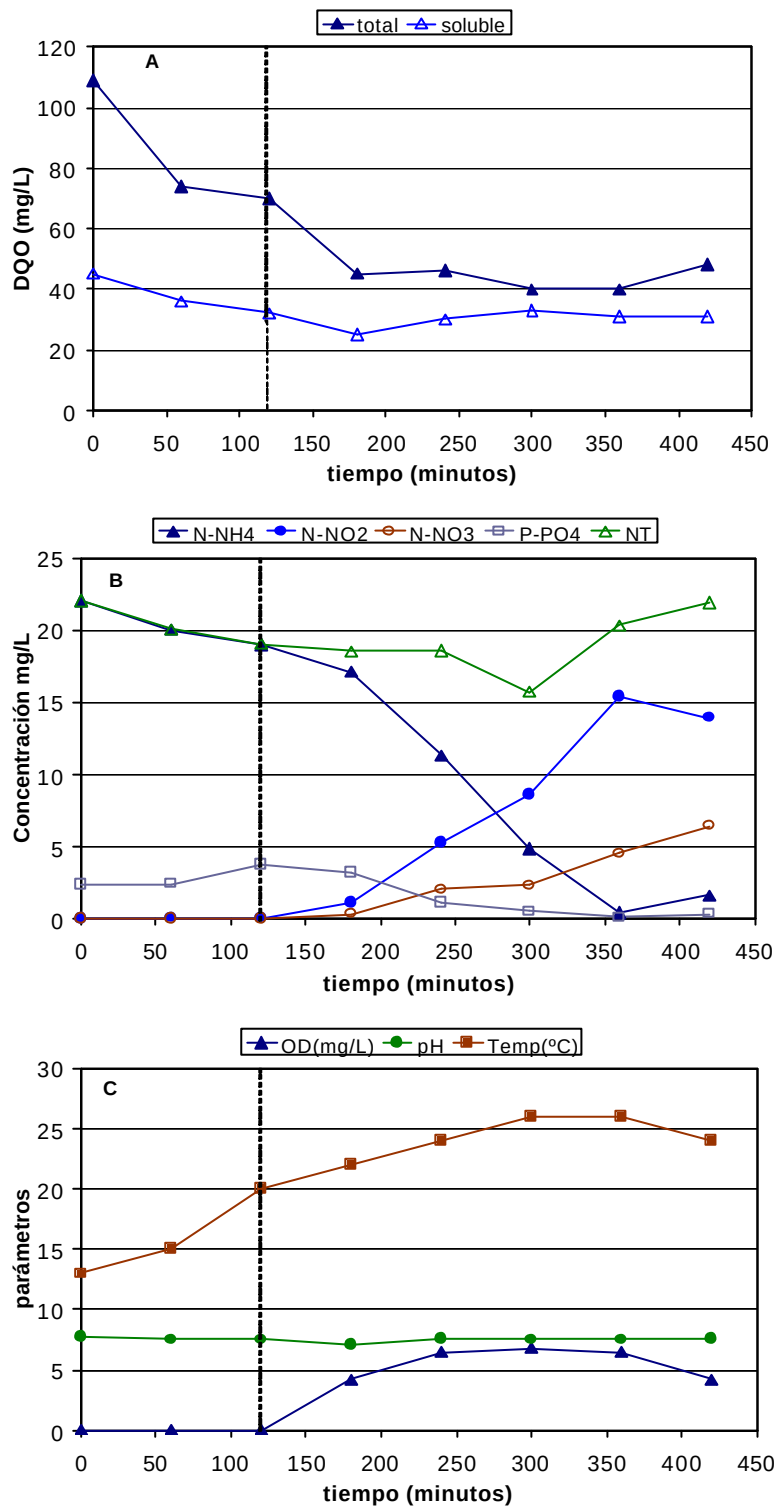


Figura 1. Reactor empacado con anillos Kaldnes. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

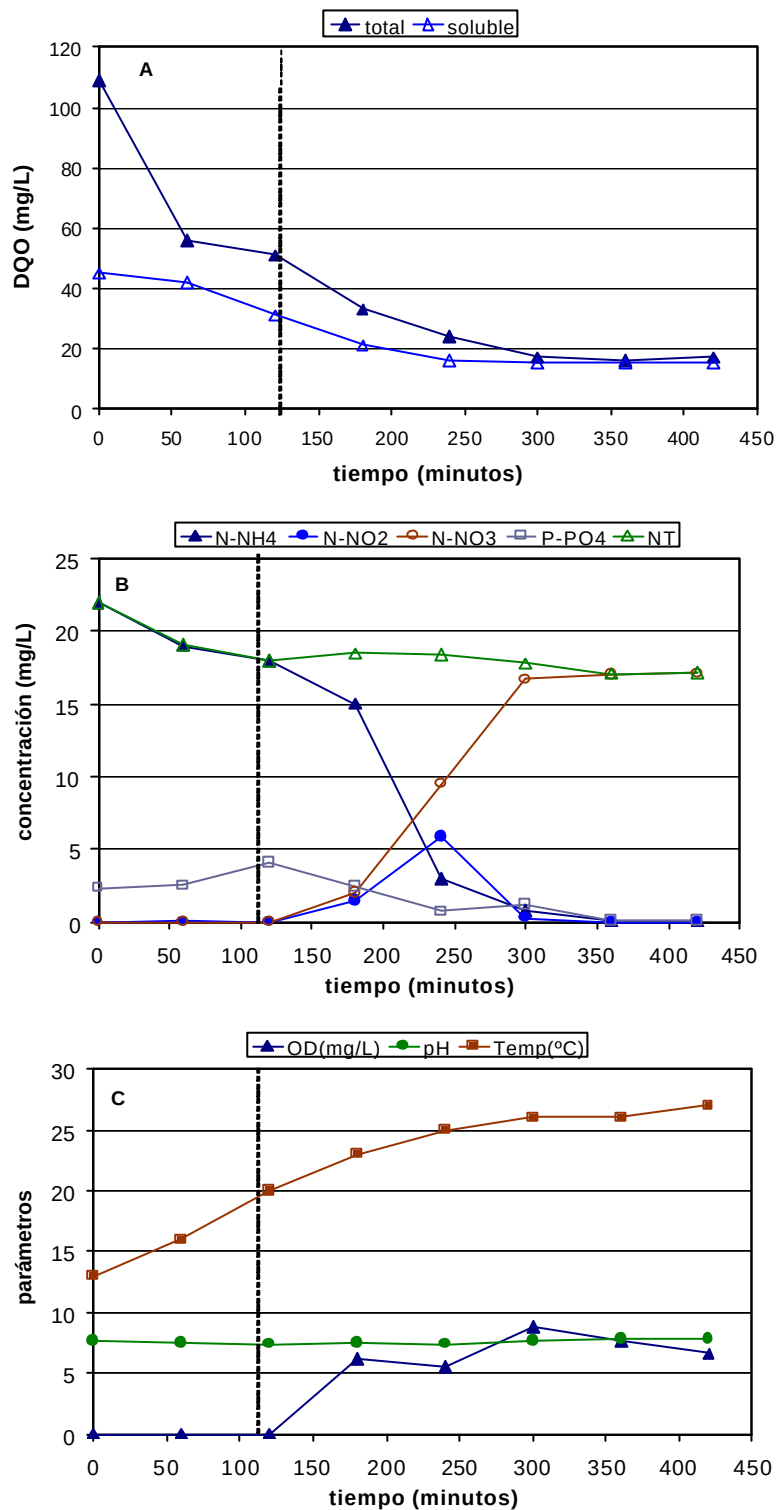


Figura 2. Reactor empacado con esferas Liapor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

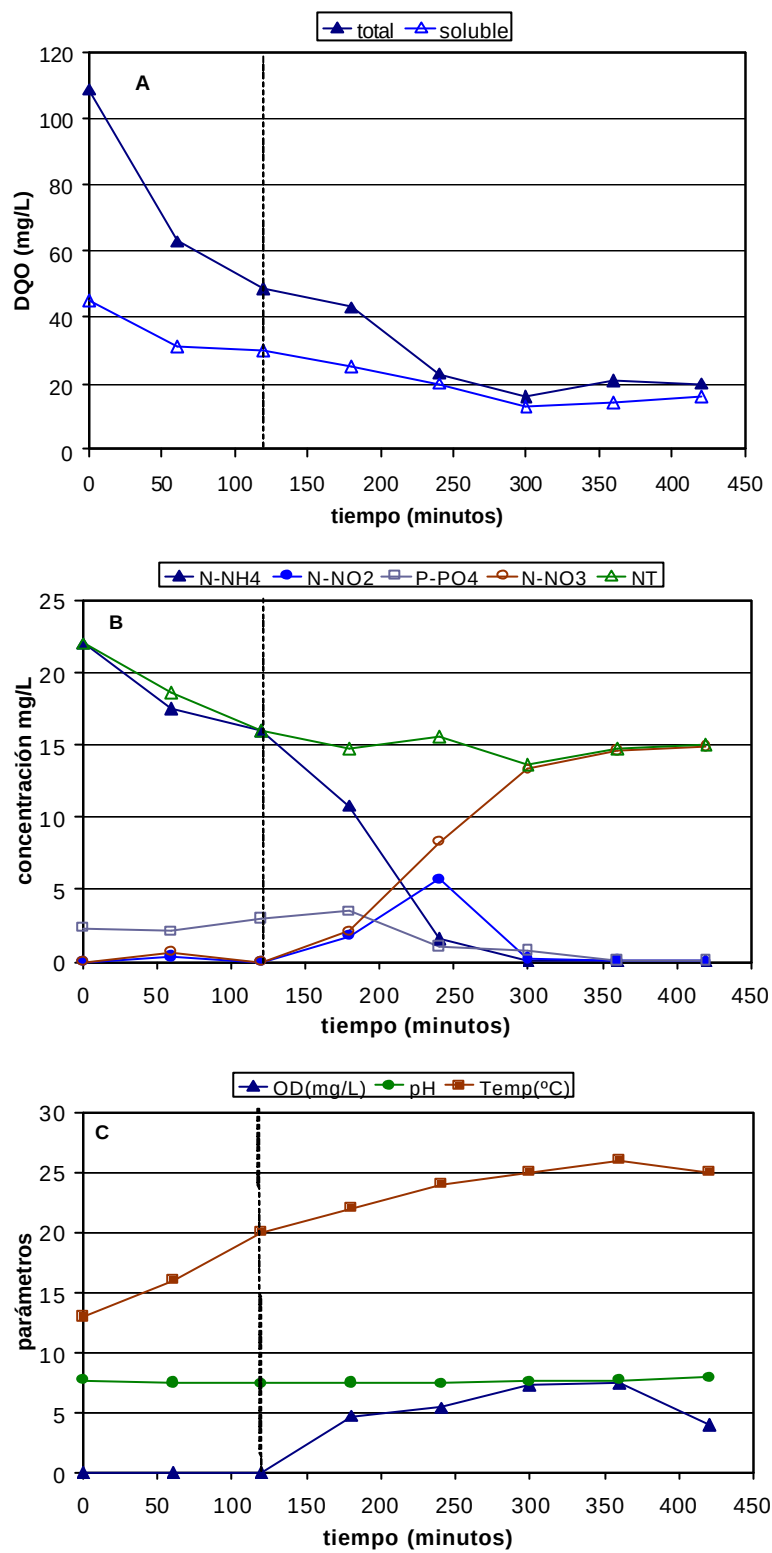


Figura 3. Reactor empacado con cubos Linpor.

Ciclo 2**Fecha: 30.05.2001****Día experimental: 290****Intervalo de carga orgánica: 0.5-2.5 gDQO/m²·d**

Los valores de los parámetros del agua residual cruda en esta fecha fueron: DQO total 142 mg/L, DQO soluble 76 mg/L, N-NH₄ 26 mg/L; P-PO₄ 3.7 mg/L, pH:7.8 y temperatura de 16 °C. Al igual que en el ciclo 1, en el ciclo 2 se tienen condiciones estables de operación. Durante el primer intervalo de carga orgánica, los tres reactores presentaron una alta nitrificación.

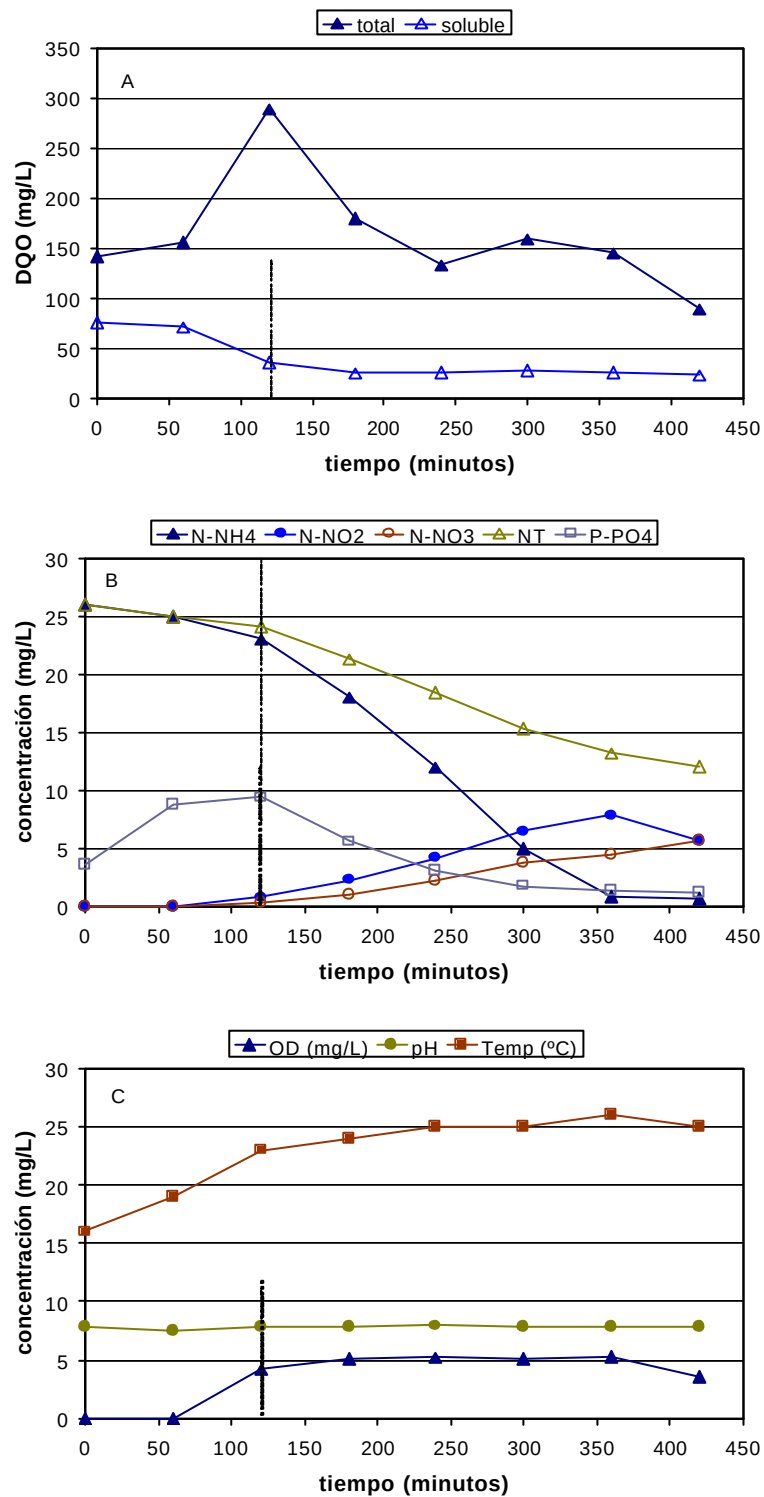


Figura 4. Reactor empacado con anillos Kaldnes. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

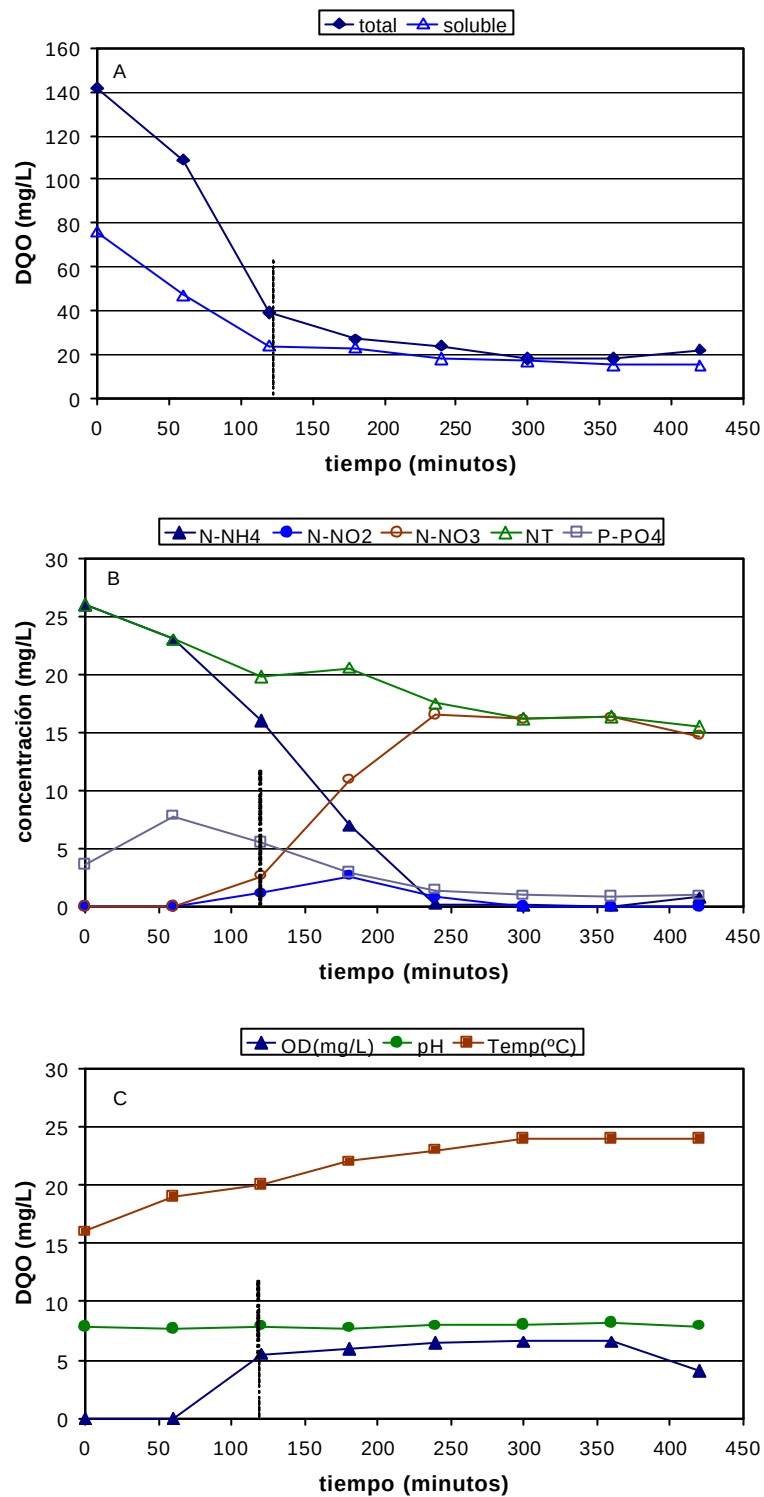


Figura 5. Reactor empacado con esferas Liapor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

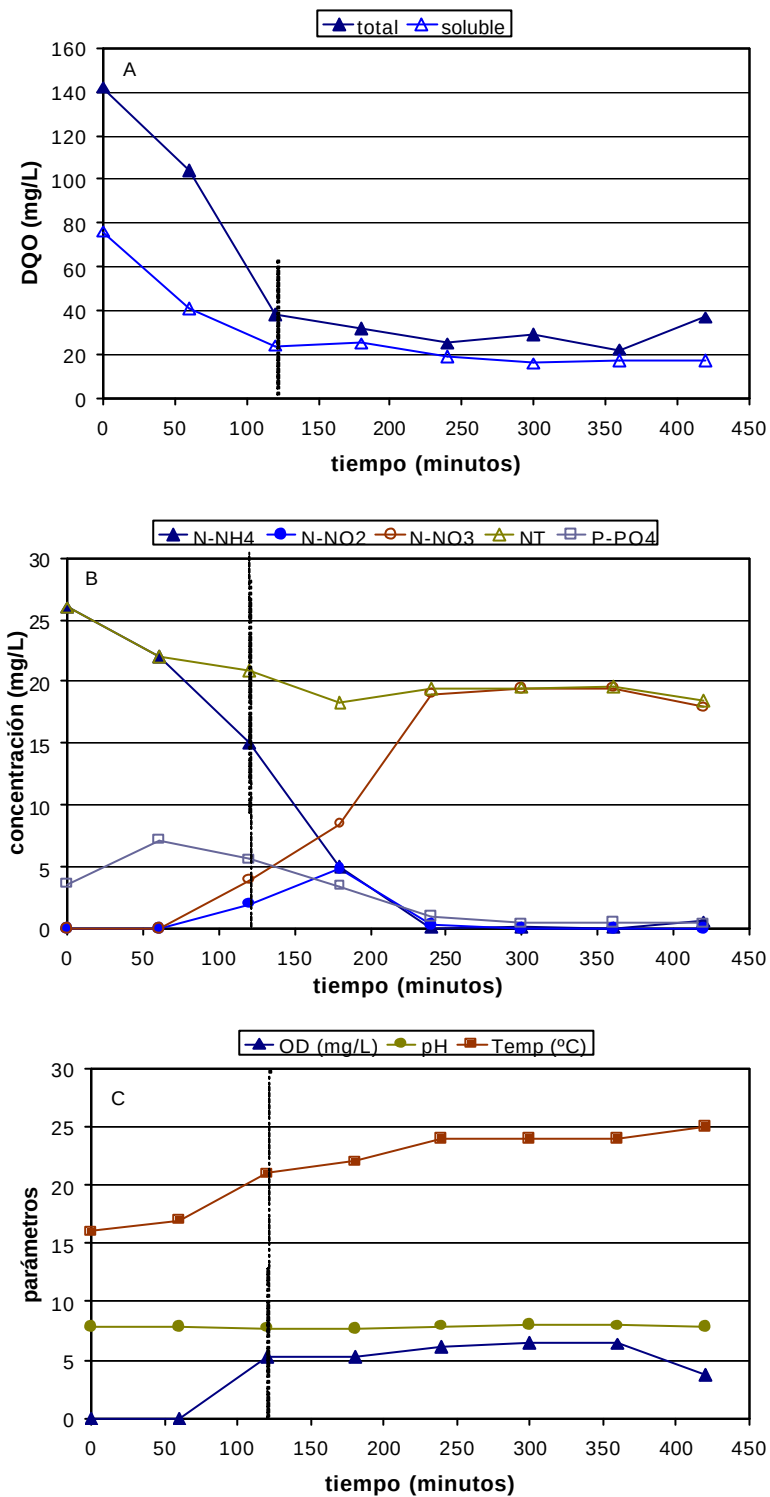


Figura 6. Reactor empacado con cubos Linpor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

Ciclo 3**Fecha: 01.08.2001****Día experimental: 352****Intervalo de carga orgánica: 3.0 -8.0 gDQO/m²·d**

Los valores de los parámetros del agua residual cruda en esta fecha fueron: DQO total 95 mg/L, DQO soluble 49 mg/L, N-NH₄ 39 mg/L; P-PO₄ 2.5 mg/L, pH: 8.1 y temperatura de 18 °C. Este ciclo se eligió como representativo de este intervalo de carga orgánica porque los reactores presentaban condiciones estables de operación, mostrando el comportamiento típico que presentaron los tres reactores a lo largo de este periodo en la transformación de material carbonoso, nitrogenado y fosforado. El comportamiento de cada uno de los reactores se analiza en el capítulo 8 del texto.

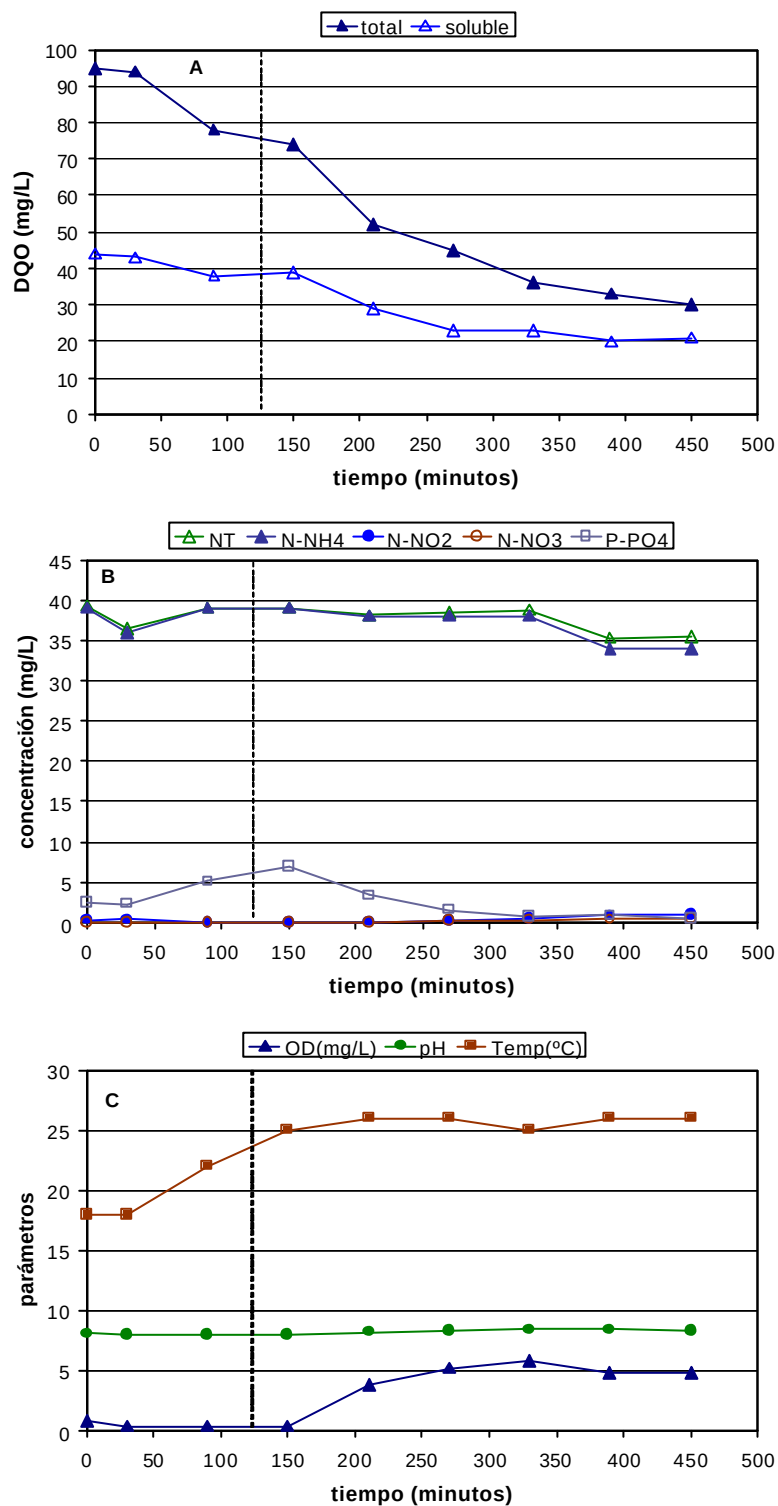


Figura 7. Reactor empacado con anillos Kaldnes. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

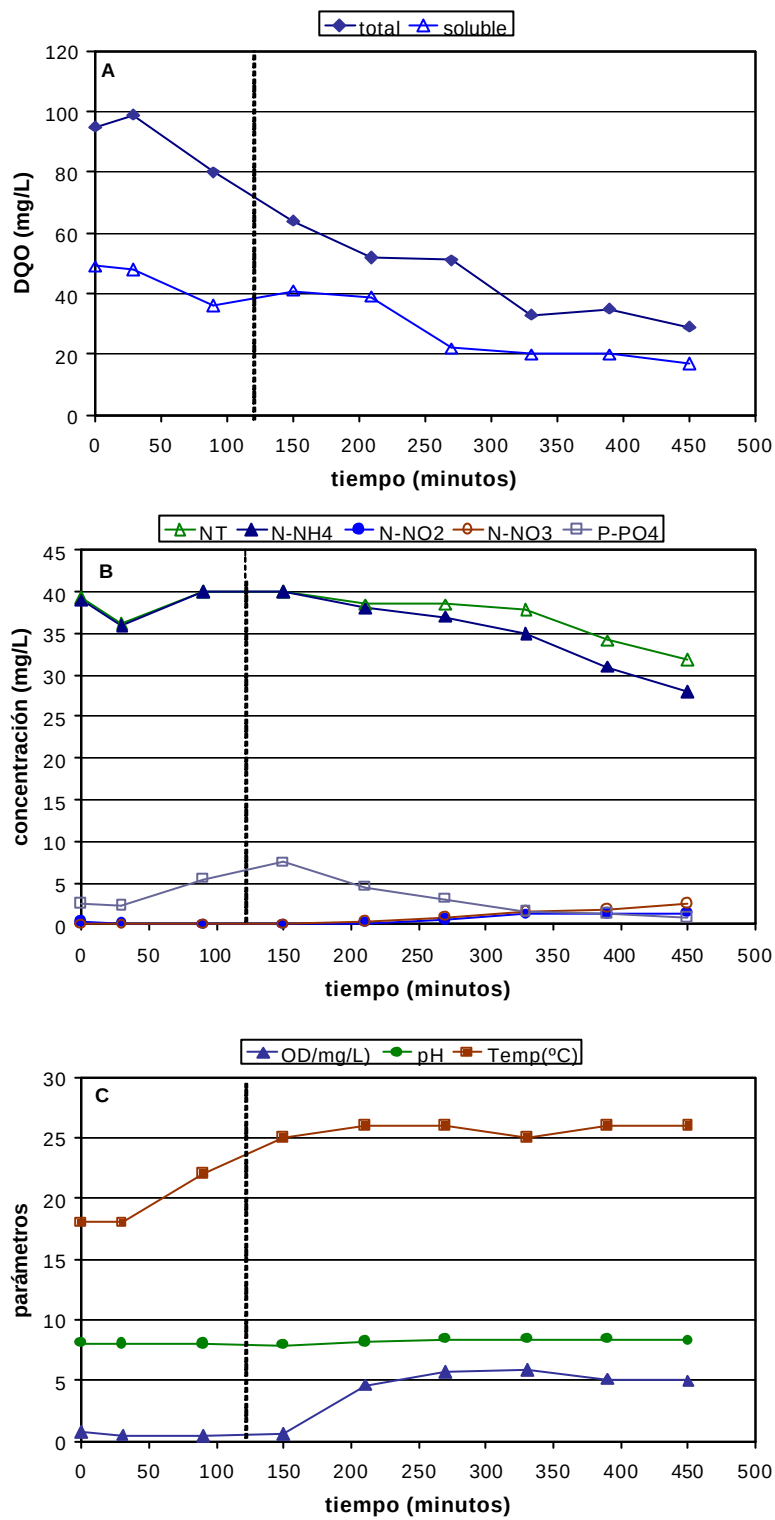


Figura 8. Reactor empacado con esferas Liapor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

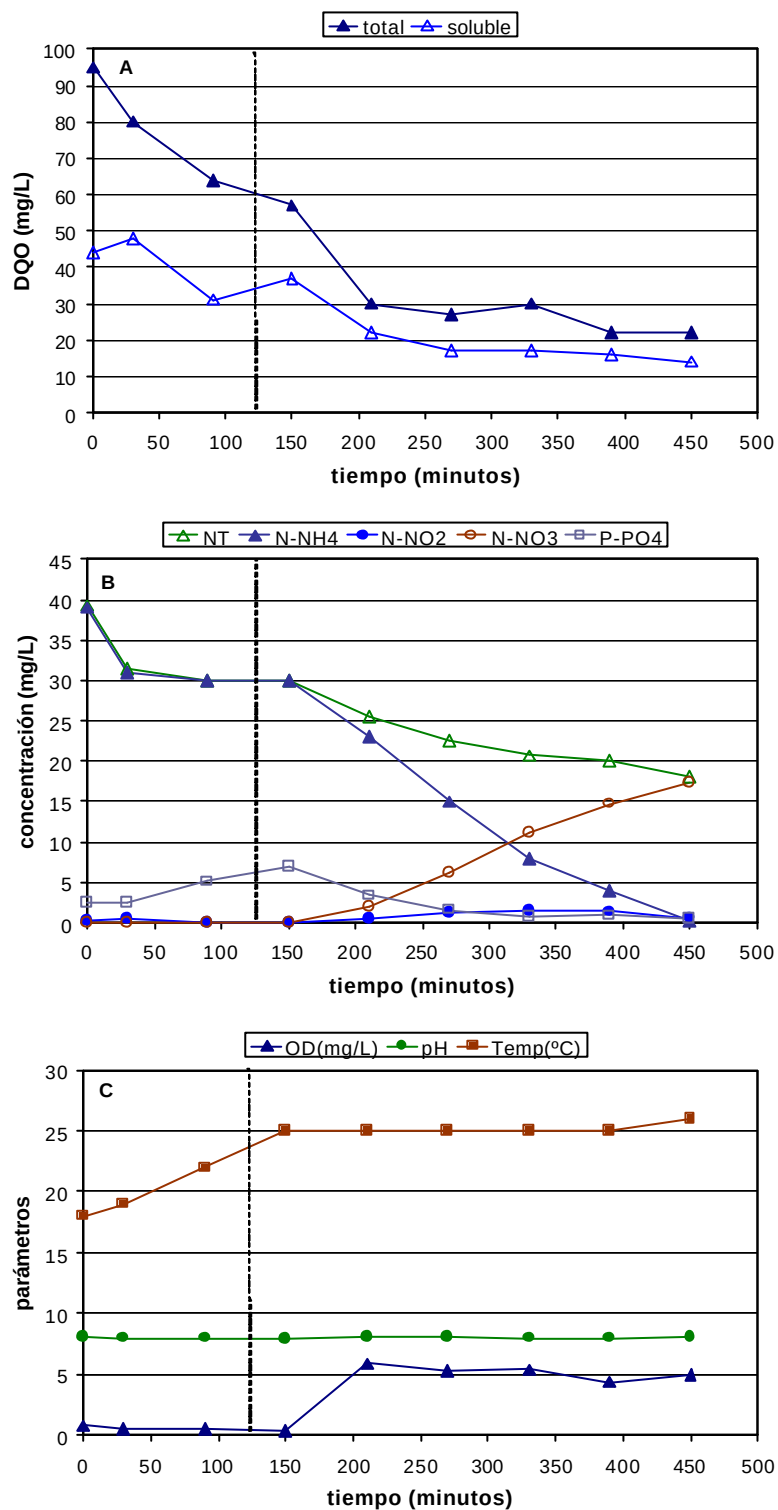


Figura 9. Reactor empacado con cubos Linpor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

Ciclo 4**Fecha: 12.09.2001****Día experimental: 394****Intervalo de carga orgánica: 3.0-8.0 gDQO/m²·d**

Los valores de los parámetros del agua residual cruda en esta fecha fueron: DQO total 69 mg/L, DQO soluble 36 mg/L, N-NH₄ 16 mg/L; P-PO₄ 1.9 mg/L, pH: 8.0 y temperatura de 16 °C. Los valores de los parámetros de control durante este ciclo fueron muy bajos con respecto a la caracterización del agua residual influente, motivo por el cual, este ciclo no se consideró representativo en la operación de los reactores para discutirlo en los resultados del presente trabajo.

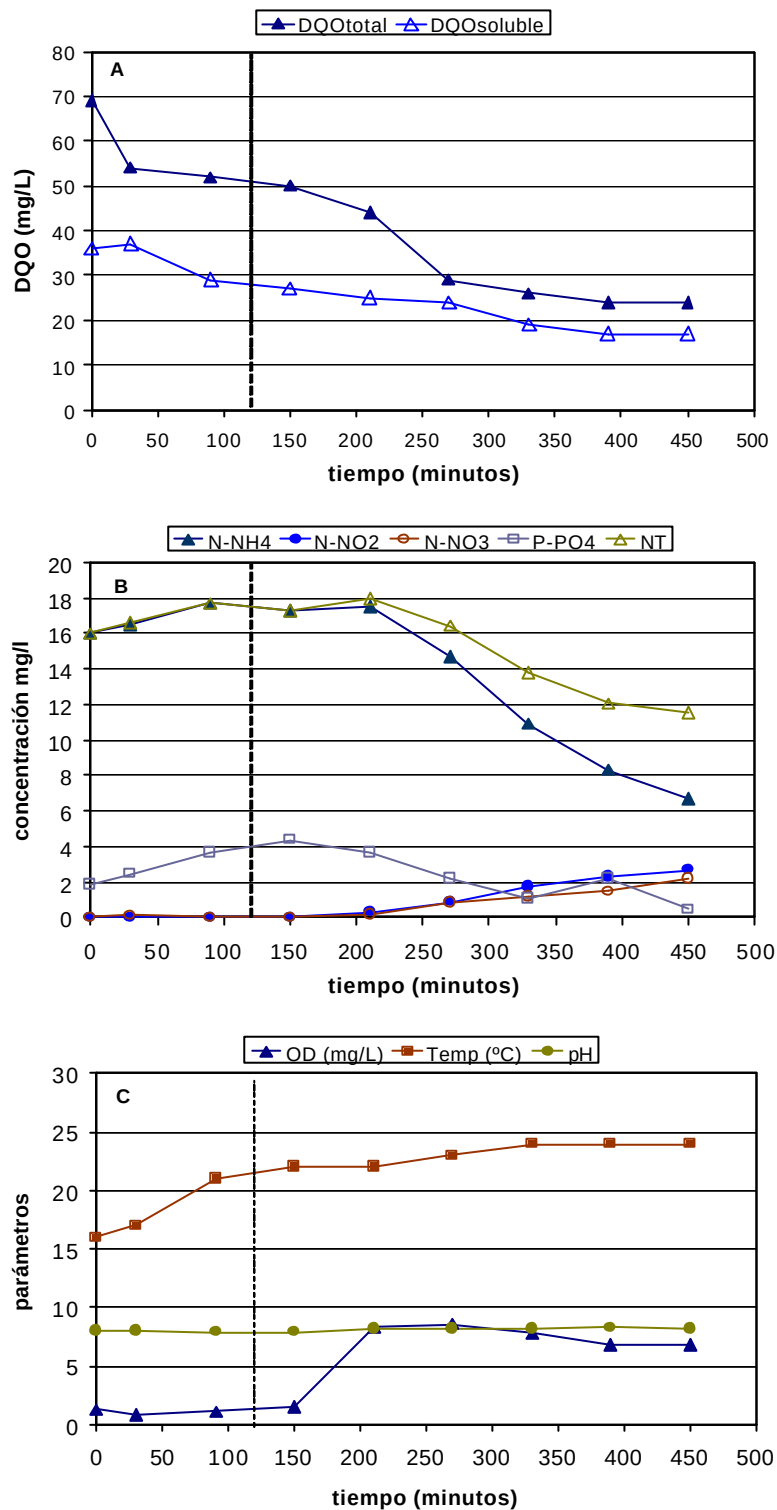


Figura 10. Reactor empacado con anillos Kaldnes. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

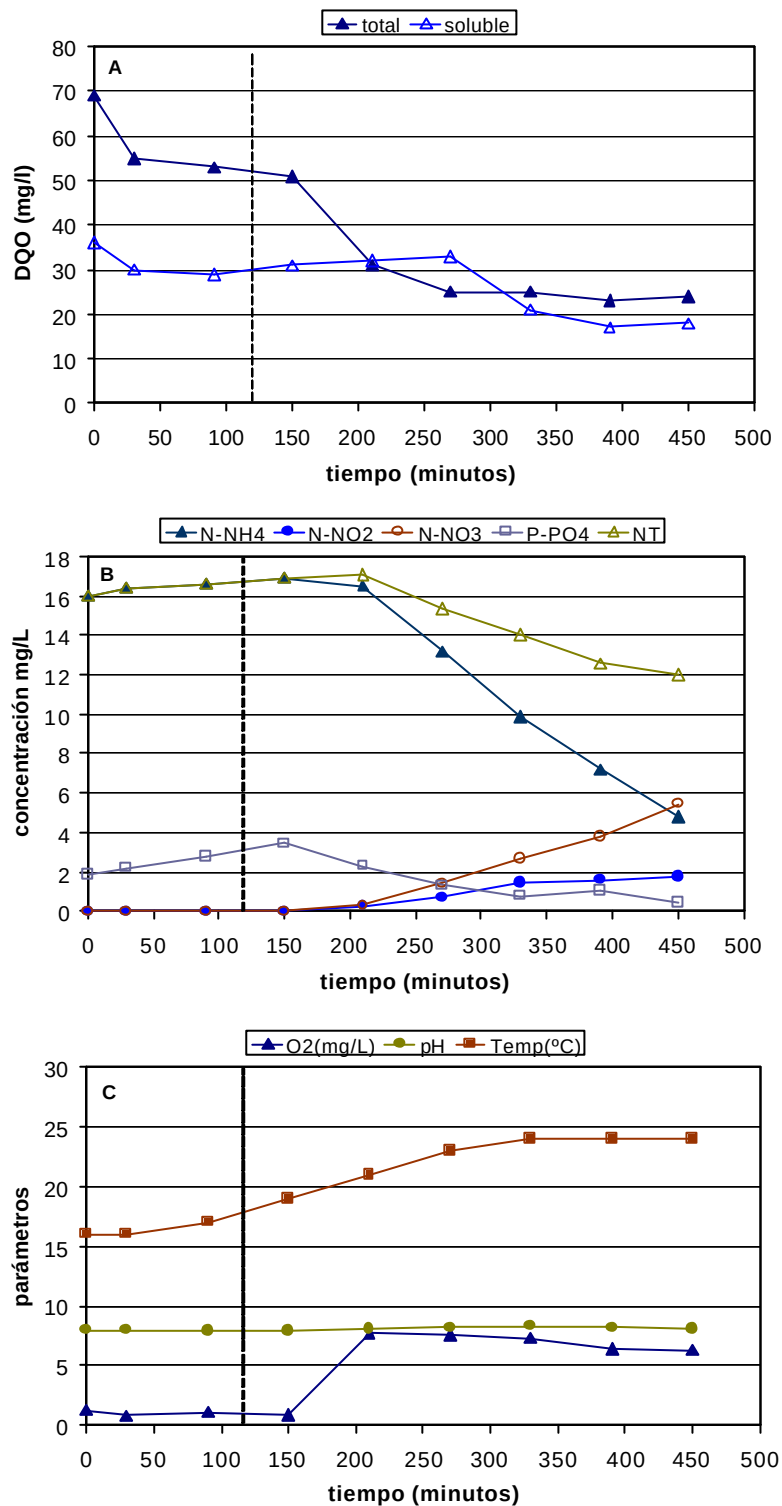


Figura 11. Reactor empacado con esferas Liapor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

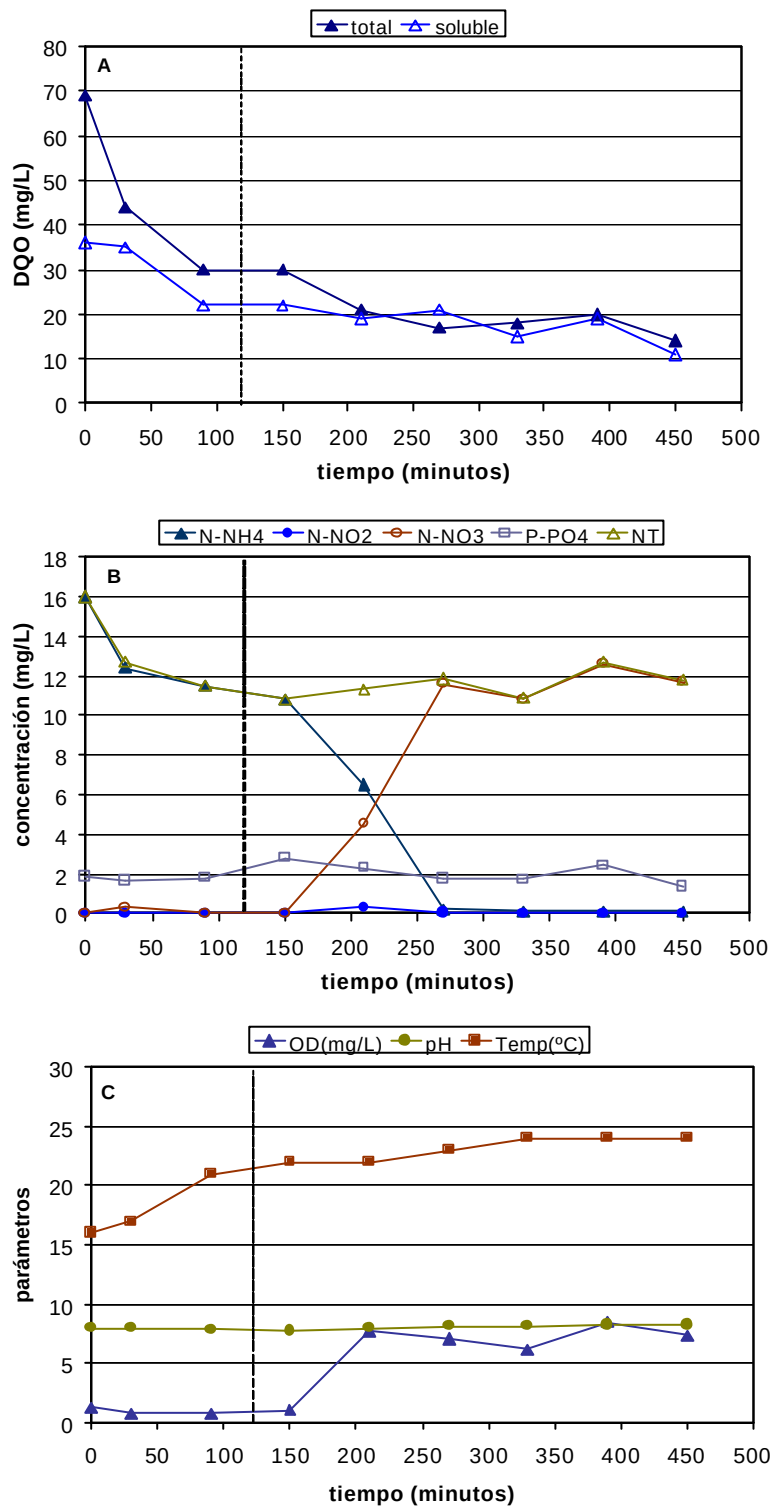


Figura 12. Reactor empacado con cubos Linpor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

Ciclo 5**Fecha: 06.06.2002****Día experimental: 641****Intervalo de carga orgánica: 3.0-8.0 gDQO/m²·d**

Los valores de los parámetros del agua residual cruda en esta fecha fueron: DQO total 491 mg/L, DQO soluble 130 mg/L, N-NH₄ 42 mg/L; P-PO₄ 4.5 mg/L, pH:9.0 y temperatura de 16 °C. Este ciclo, al igual que el ciclo 3, presenta un comportamiento característico de los tres reactores durante el segundo intervalo de carga orgánica.

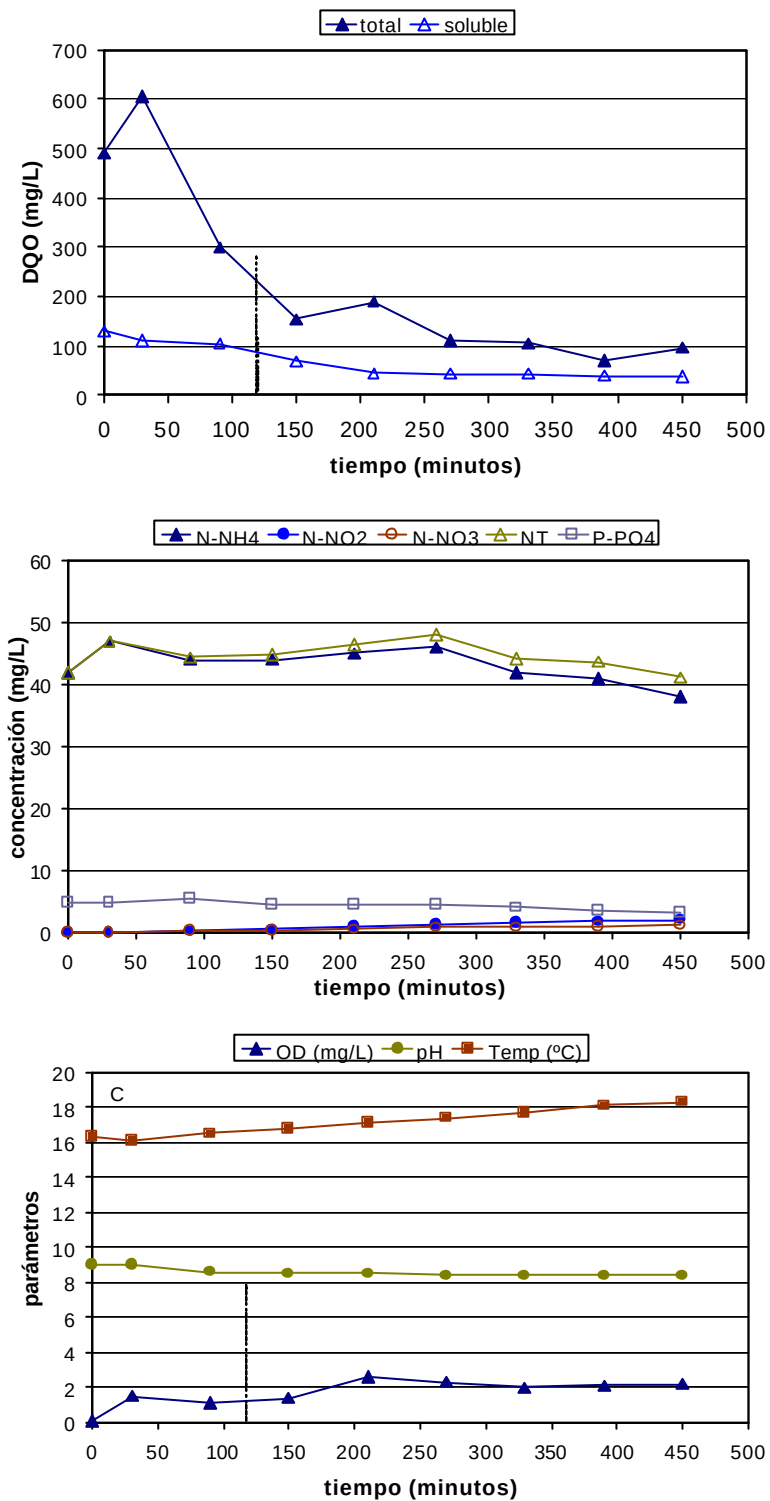


Figura 13. Reactor empacado con anillos Kaldnes. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

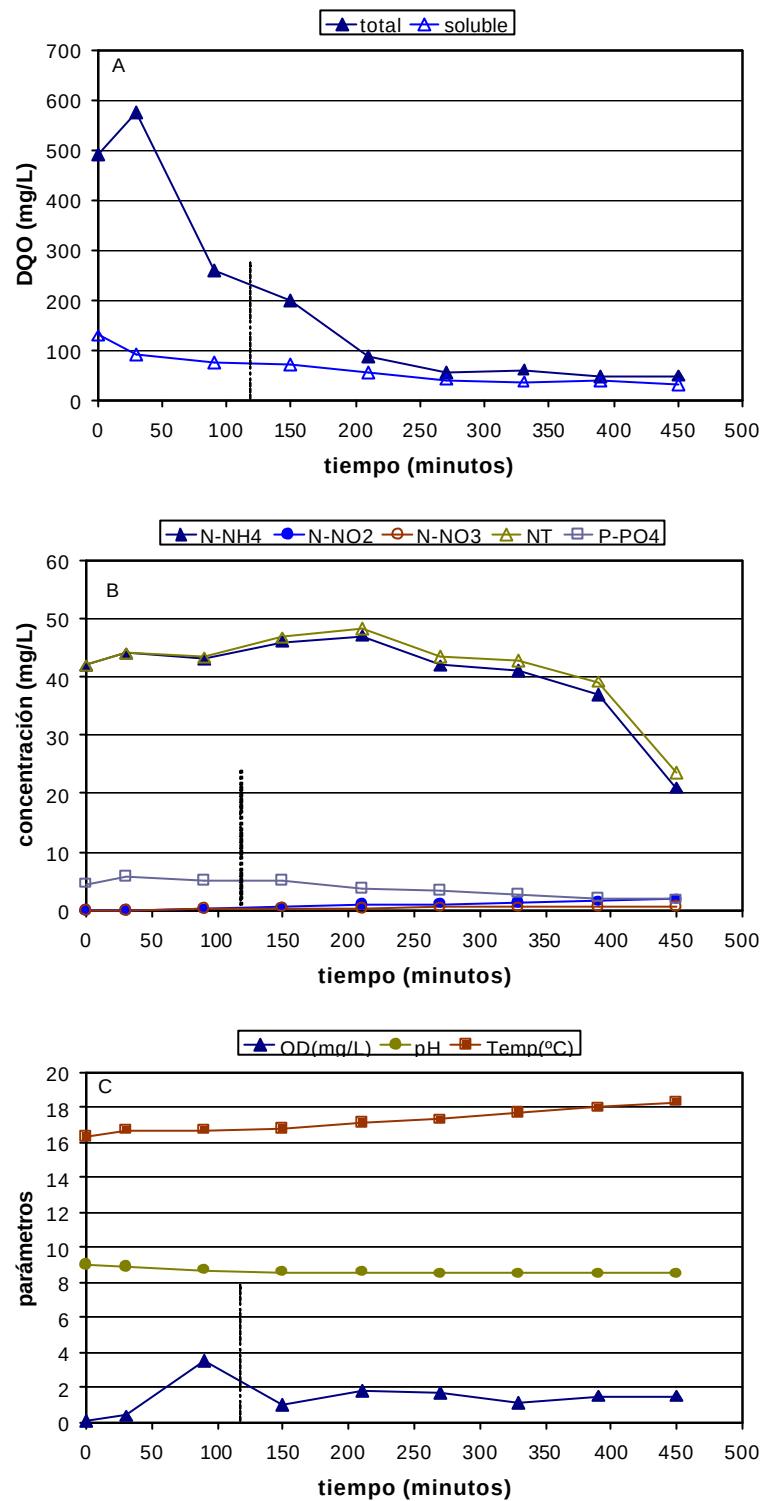


Figura 14. Reactor empacado con esferas Liapor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

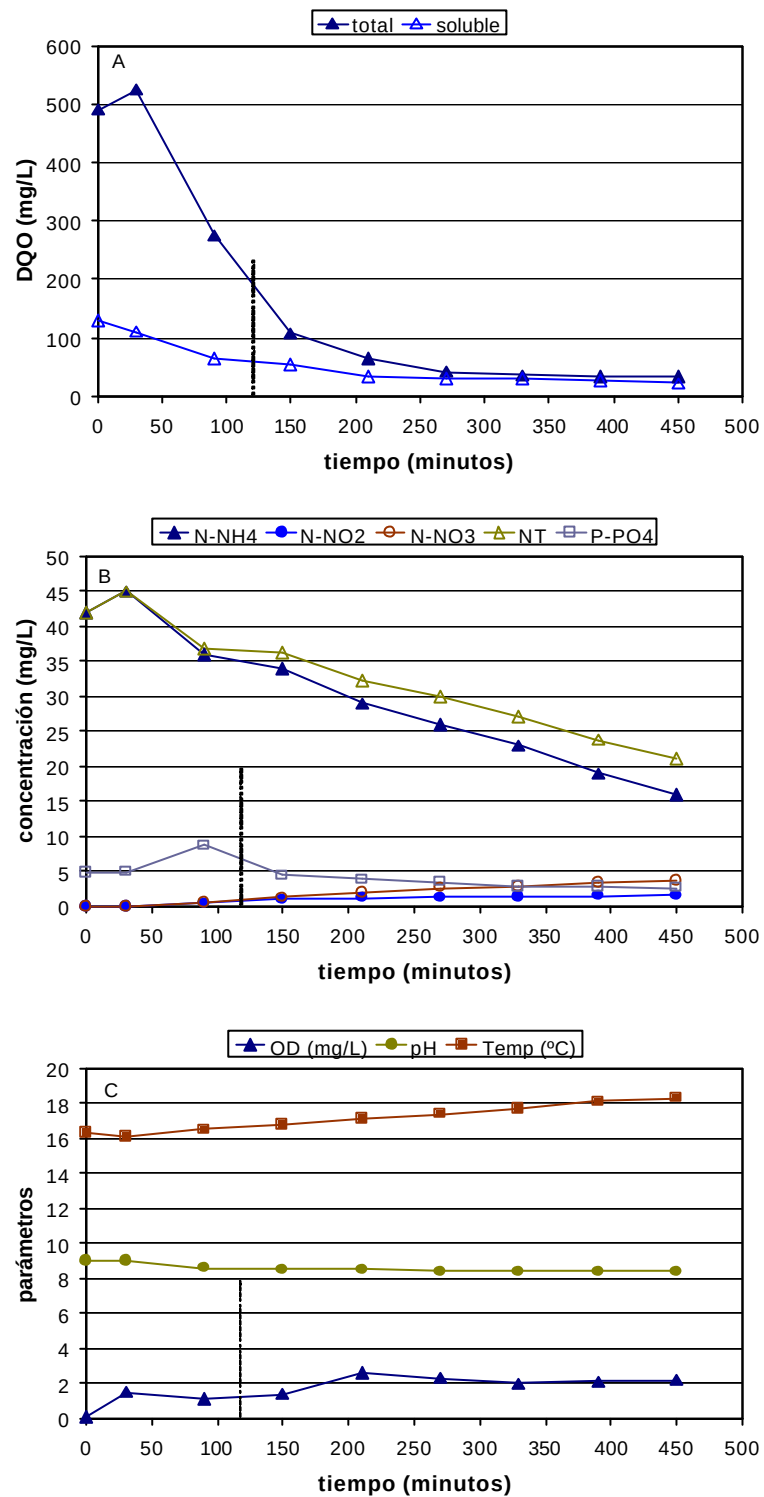


Figura 15. Reactor empacado con cubos Linpor. Mediciones en el seno del líquido durante el seguimiento de un ciclo de operación de 8 horas

GLOSARIO

A	Área superficial expuesta
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AR	Abundancia relativa
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Adenosintrifosfato
BEFD	Bacterias eliminadoras de fósforo que pueden desnitrificar
C	Concentración de substrato, g/L
d	Diámetro de una partícula, cm
D	Coeficiente de difusión de substrato, m ² /d
DQO	Demanda química de oxígeno
dx	Capa líquida en la interfase seno del líquido/biopelícula
Fluoróforo	Muestra fluorescente. Secuencia de una cadena de ADN o ARN marcada con material fluorescente
g	Aceleración gravitacional, 981 cm/s ²
G	Energía de Gibbs, kcal/mol
Gen	Una sección del código del ADN de una cadena simple de polipéptido
HFIS	Hibridación fluorescente <i>in situ</i> (FISH, por sus siglas en inglés, fluorescent <i>in situ</i> hybridation)
i	Número de grupos celulares
j	Número de células
k ₀	Tasa de reacción de orden cero, g/m ³ ·d
L	Espesor de la biopelícula, m
MCLM	Microscopio confocal láser de barrido (por sus siglas en inglés, CLSM, confocal scanning laser microscopy)
N	Flujo de substrato
N ₂	Nitrógeno molecular, mg/L, g/m ³ ; g/ciclo
N-NH ₄	Nitrógeno amoniacal, mg/L, g/m ³
N-NO ₂	Nitrógeno de nitrito, mg/L, g/m ³
N-NO ₃	Nitrógeno de nitrato, mg/L, g/m ³
NT	Nitrógeno total, mg/L, g/m ³
OD	Oxígeno disuelto, mg/L, g/m ³
p	Número de observaciones
PHB	Molécula de poli-hidroxibutirato
Poli-P	Poli-fosfatos
P-PO ₄	Orto-fosfatos
Q	Caudal de agua, m ³ /d
Q _M	Gasto másico, g/d
r	Tasa de reacción, g/cm ³ ·s
RBOL	Reactor con biopelícula de operación por lotes (por sus siglas en inglés, SBBR, sequencing batch biofilm reactor)
Re	Número de Reynolds
ROL	Reactor de operación por lotes (por sus siglas en inglés, SBR, sequencing batch reactor)
SAF	Solución amortiguadora de fosfatos
SPE	Substancias poliméricas extracelulares (por sus siglas en inglés, EPS, extracellular polymeric substances)
SST	Sólidos suspendidos totales, mg/L
SSV	Sólidos suspendidos volátiles, mg/L

Te	Tamaño efectivo, mm
U	Velocidad de un fluido, cm/s
V	Volumen, m ³
x	Fracción penetrada por sustrato en la biopelícula

Letras griegas

α	Error
β	Constante adimensional de penetración
δ	Densidad de un fluido, g/cm ³
ε	Porosidad
τ_c	Tiempo de retención celular, d
μ	Viscosidad de un fluido, g/cm·s
Δ	Gradiente
E	Tasa de disipación de energía

Subíndices

G	Gas
R	Ribosomal
S	Substrato