



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

U. A. M. IZTAPALAPA BIBLIOTECA

**Efecto de las velocidades de carga nitrogenada y de
fosfato sobre la estabilidad de sedimentación
de un lodo activado nitrificante.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA

Presenta

Hidrobióloga Claudia Suárez Núñez

Junio de 1998



U. A. M. IZTAPALAPA BIBLIOTECA

Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA-IZTAPALAPA
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**Efecto de las velocidades de carga nitrogenada y de
fosfato sobre la estabilidad de sedimentación
de un lodo activado nitrificante.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN BIOTECNOLOGÍA

Presenta

Hidrobióloga Claudia Suárez Núñez

JURADO

Dr. Elías Razo Flores
Dr. Jorge Gomez Hernandez
Dr. Ernesto Favela Torres
M. B. E. Florina Ramírez Vives

Florina Ramírez Vives
Florina Ramírez Vives
14206

Junio de 1998

CON TODO MI CARIÑO:

*A **David** compañero y amigo por su apoyo, comprensión y sobre todo por su gran amor, respeto y confianza.*

*A **Ariane** que me alienta día con día a ser mejor.*

*A mi familia en especial a mis **Padres** por su apoyo incondicional y cariño.*

*A **Héctor** por lo que ha implicado en mí vida, donde quiera que este.*

AGRADECIMIENTOS

*A mis compañeros de laboratorio: **Flor de María, Jaime y Felipe** por su ayuda y consejos, sobre todo por su amistad.*

*A **Florina** por su asesoría y por su amistad.*

*Al **Dr. Jorge Gómez** por su confianza y sus valiosas aportaciones, que hicieron posible la realización de esta tesis.*

*Al **CONACyT** por apoyarme en mis estudios de posgrado.*

GRACIAS.

AGRADECIMIENTOS.

Un especial agradecimiento **Dr. Luis Fernández Linares** y a la **Q. Pilar Bremauntz Michavila**, por sus comentarios en la escritura de la tesis.

Al grupo de bioprocesos del Instituto Mexicano del Petróleo

GRACIAS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Fisiología Microbiana, del Departamento de Biotecnología de la UAM-Iztapalapa.

INDICE

Resumen / Summary	I
Panorama	V
Nomenclatura	IX
Capitulo I ANTECEDENTES	3
1.1 COMPUESTOS DE NITROGENO COMO CONTAMINANTES	3
1.2 PROCESOS BIOLÓGICOS PARA LA ELIMINACION DEL AMONIACO	3
1.2.1 DESNITRIFICACION	4
1.2.2 NITRIFICACION	5
1.2.2.1 BACTERIAS AMONIO OXIDANTES	7
1.2.2.2 BIOQUIMICA DE LAS BACTERIAS AMONIO OXIDANTES	7
1.2.2.3 BACTERIAS NITRITO OXIDANTES	9
1.2.3.4 BIOQUIMICA DE LAS BACTERIAS NITRITO OXIDANTES	10
1.3 PARAMETROS QUE AFECTAN EL PROCESO DE NITRIFICACION	11
1.3.1 CONCENTRACION DE OXIGENO DISUELTO	11
1.3.2 TEMPERATURA	12
1.3.3 pH	13
1.3.4 CONCENTRACION DE AMONIACO Y NITRITO	14
1.3.5 EFECTO DE LA MATERIA ORGANICA EN LA NITRIFICACION	14
1.4 SISTEMAS NITRIFICANTES	15
1.4.1 SISTEMAS CON BIOMASA NO ADHERIDA	16
1.4.1.1 LODOS ACTIVADOS	16
1.4.2.1 FILTRO PERCOLADOR	17
1.4.2.3 DISCOS BIOLÓGICOS ROTATORIOS	19
1.5 FLOCULACION DE LODOS ACTIVADOS	20
1.5.1 CARACTERISTICAS DE LOS LODOS	20
1.5.2 FLOCULACION	20
1.5.3 PROBLEMAS DE FLOCULACION EN LODOS ACTIVADOS	21
1.5.4 ESPONJAMIENTO ("BULKING")	22
1.5.5 TURBIEDAD (PIN POINT)	23
1.5.6 PARAMETROS OPERACIONALES QUE INTERVIENEN EN LA FORMACION DEL FLOCULO	23
1.6 IMPORTANCIA DE LAS SUSTANCIAS EXOPOLIMERICA (SEP) EN LA FLOCULACION	25
1.6.1 IMPORTANCIA DE LOS POLISACARIDOS EN LA FLOCULACION	26
1.7 EFECTO DE MICROORGANISMOS EN LA FORMACION DEL FLOCULO	27
1.8 LITERATURA CITADA	29
CAPITULO II. JUSTIFICACION y OBJETIVOS	43
CAPITULO III. MATERIAL y METODOS	
3.0 PROLOGÓMENO	47
3.1 OBJETIVOS PARTICULARES	47
3.2 METODOS ANALITICOS	47
3.2.1 MEDIDA DE PROTEINA	48
3.2.2 MEDIDA DE AMONIO	49
3.2.3 MEDIDA DE NITRATO	51
3.2.4 DETERMINACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS	52
3.2.4.1 DETERMINACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS TOTALES	52
3.2.4.2 DETERMINACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS FIJOS	53
3.3.4.3 DETERMINACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS VOLATILES	54

3.2.5 EVALUACION DE FOSFORO TOTAL	54
3.2.6 MEDICION DE IVL	58
3.2.7 DETERMINACION DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACION	59
3.3 CULTIVO	60
3.3.1 REACTOR	61
3.3.2 MEDIOS DE CULTIVO	62
3.3.3 INOCULO	63
3.3.4 CONDICIONES DE CULTIVO	63
3.4 LITERATURA CITADA	64

CAPITULO IV. ESTABILIZACIÓN y EFECTO DE LA VELOCIDAD DE CARGA NITROGENADA

4.0 PROLOGÓMENO	69
4.1 OBJETIVOS PARTICULARES	71
4.2 INSTALACION DE REACTORES	71
4.3 CONDICIONES DE OPERACIÓN DE REACTORES	71
4.4 ESTABILIZACION DE REACTORES NITRIFICANTES	73
4.5 COMPORTAMIENTO DE LODOS NITRIFICATES A DIFERENTES TRH	74
4.6 EFECTO DE LAS VELOCIDADES DE CARGA EN LA CONCENTRACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS	77
4.7 PERFILES DE COMPORTAMIENTO DEL IVL EN DIFERENTES VELOCIDADES DE CARGA NITROGENADA	83
4.8 PERFILES DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACION A DIFERENTES VELOCIDADES DE CARGA NITROGENADA	89
4.9 CONCLUSIONES	93
4.10 LITERATURA CITADA	95

CAPITULO V EFECTO DEL FOSFATO SOBRE EL LODO NITRIFICANTE

5.0 PROLOGOMENO	101
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES	103
5.3 RESULTADOS Y DISCUSION	103
5.3.1 COMPORTAMIENTO DEL LODO NITRIFICANTE EN LA CONCENTRACION DE SOLIDOS SUSPENDIDOS.	103
5.3.2 EFECTO DEL FOSFATO EN LA CONCENTRACION DE SOLIDOS	103
5.3.3 EFECTO DEL FOSFATO EN LA SEDIMENTACION DEL LODO	106
5.4 COMPORTAMIENTO DE LA EFICIENCIA NITRIFICANTE	109
5.5 COMPARACION DE LA POBLACION HETEROTROFICA DEL LODO	110
5.6 VELOCIDAD DE CONSUMO DE OXIGENO	111
5.7 CONCLUSIONES	113
5.8 LITRATURA CITADA	115

CAPITULO VI CONCLUSIONES y PESPERTIVAS	119
--	-----

RESUMEN

De la floculación depende que un lodo sedimente y de esa manera pueda ser separado de los efluentes en el tratamiento de aguas residuales. La capacidad de la microflora nitrificante de asociarse en floculos permite que el lodo sedimente, siempre que este acoplado un sedimentador con el reactor y aún así, la sedimentación no es alta. Una alternativa a estudiar es conocer algunos parámetros que nos ayuden a comprender mejor la sedimentación y estabilidad del floculo. Algunos estudios referentes a la morfología y bioquímica de formación del floculo, indican que los polímeros extracelulares podrían ser responsables del fenómeno floculante en lodos activados, y particularmente se atribuye a los polisacáridos extracelulares. Se conoce que la tasa de dilución podría influir en la producción de estos polisacáridos que conforman el floculo. Sin embargo, algunos de los polisacáridos contienen grupos fosfato y estos podrían aumentar de acuerdo a la disponibilidad de fósforo en el medio.

El presente trabajo esta dirigido a evaluar la estabilidad del floculo de un lodo activado nitrificante, a través de diferentes velocidades de cargas nitrogenadas y de fosfato, midiendo el índice volumétrico del lodo y la velocidad de sedimentación como variables de respuesta.

A la velocidad de carga nitrogenada de 0.44 g /l-d de $N-NH_4^+$ no hubo problemas de inhibición por amoníaco y la oxidación del amonio fue del 95%. Por otro lado, el lodo activado, presentó mayor sedimentación así como una mejor estabilidad a medida que la velocidad de carga aumentó, lo cual podría ser debido a la concentración de los polímeros extracelulares que posiblemente cambiaron con cada velocidad de carga nitrogenada.

El cambio en las cargas de fosfato aumentó la concentración de sólidos suspendidos totales, ocasionado principalmente por los sólidos suspendidos fijos. Cabe destacar que la concentración de los sólidos suspendidos volátiles también se incrementó, aunque se mantuvieron constantes por el intensivo muestreo realizado al lodo. Con el cambio en las cargas de fosfato, la concentración de sólidos suspendidos se volvió constante. El nitrato fue el producto principal y la eficiencia nitrificante fue mayor al 70%. Las cargas de fosfato, mejoraron la sedimentación del lodo activado nitrificante y estimuló el crecimiento de la microflora nitrificante.

SUMMARY

The flocculation is very important in order to maintain the microorganisms inside the reactor and to avoid the washing out from it. The nitrifying microorganisms flocculate, but the settling rate is not fast enough to avoid the washout of the reactor. It is important to know the best conditions for a good settling and to understand how the nitrifying flocs became to be more stable. It has been proposed that in activated sludge, some kind of extracellular polymers, like polysaccharides are responsible of the settling. It is known that the dilution rate affects the production of these polymers. In the same way, a phosphorus supply in the system can increase the extracellular polysaccharides content.

The purpose of this work was to evaluate the stability of a nitrifying activated sludge floc at different nitrogen and phosphorus loading rates. The sludge volumetric index and settling rate were the variable response.

It was not observed ammonia inhibition in the reactor when a loading rate of $0.44 \text{ g N-NH}_4^+/\text{l-d}$ was evaluated, since an efficiency of 95% for the ammonium consumption was obtained. When the nitrogen loading rate was increased, both the sludge stability and settling properties appeared to be enhanced. This was probably due to the change in extracellular polymer quantity or composition.

When the phosphate loading changed both the volatile suspended solids (SSV) and the fixed suspended solids increase, specially the last one. The amount of SSV in the reactor was maintained constant by manual sludge purge. Nitrate was the most important product and the nitrifying efficiency was higher than 70%. The phosphate loading increase improved the settling of the nitrifying activated sludge, besides this the growth of the nitrifying microorganisms was stimulated.

PANORAMA.

Actualmente, en el país sólo se recupera una fracción muy pequeña del agua que se utiliza, tanto en el medio urbano, como en la industria. Del 100% del agua vertida, se procesa y recupera alrededor del 7%. Esto hace necesario el desarrollo de tecnologías que permitan una recuperación significativamente mayor. Asimismo, en paralelo deben realizarse estudios básicos de los procesos existentes.

Los compuestos nitrogenados son de los contaminantes principales en las aguas residuales y para su eliminación se han propuesto procesos no biológicos (esencialmente los físico-químicos) y los biológicos. Los primeros en realidad sólo trasladan el problema de un sitio a otro, en tanto que los segundos sí resuelven el problema, además de ser una alternativa de menor costo. La eliminación biológica del nitrógeno, parece ser un problema más complejo que el de la eliminación del carbono, ya que además de involucrar más de una etapa, está sujeta a fenómenos de control fisiológico y bioquímico muy sensibles. Por si eso no fuera suficiente, existe otro gran problema, la estabilidad de los lodos activados, los cuales se encuentran en forma de agregados, ya sea como gránulos o flóculos". Ambos tipos de agregados son compactos, característica que permite concentrar la microflora dentro del reactor, además de que minimiza su salida o pérdida, ya que los agregados tienen velocidades altas de sedimentación.

Los flóculos a grandes rasgos, se componen de microorganismos, cationes y sustancias exopoliméricas. No se sabe bien cómo se interrelacionan entre sí, pero por circunstancias aún no aclaradas, los flóculos se pueden descompactar y perder sedimentabilidad perdiéndose la operatividad del reactor depurador, por pérdida de la microflora. La mayor parte de la información existente sobre lodos floculares se ha obtenido de reactores de gran tamaño, alimentados con influentes con una composición química cualitativa y cuantitativa muy variables. Un criterio empírico hasta ahora utilizado para determinar la estabilidad del flóculo, es por medio del índice volumétrico y la velocidad de sedimentación. Estas dos

constantes pueden dar indicios de si el lodo se encuentra en buen estado estructural y fisiológico. Se asume que debido a la variabilidad del influente esas constantes pueden cambiar de valor, pero se estima también que dentro de cierto intervalo de condiciones es casi constante. No obstante, dentro de esos intervalos, el 25% de los reactores depuradores en operación, en este momento, se encuentran con inestabilidad severa. Se dice que son tres los factores que tienen mayor impacto negativo: la concentración de oxígeno, cambios en la microflora y la velocidad de carga (esta última puede cambiar por la concentración química del influente, o por cambios en el régimen hidráulico), pero los resultados de los estudios realizados son aún contradictorios. A la fecha no se cuenta con evidencias claras que indiquen qué cambios causan que el lodo modifique su compactibilidad. Es casi nula la información sobre las características de un lodo nitrificante en régimen estacionario, cuando la alimentación es constante y con una eficiencia alta de operación.

Existen aguas residuales industriales con concentraciones de nitrógeno muy altas, para las cuales no se cuenta con tecnologías apropiadas. Para su tratamiento se requiere de un lodo metabólicamente capaz, pero también de lodos muy estables. En este trabajo se tiene como propósito aportar evidencias que contribuyan a esclarecer cómo afectan las condiciones de operación imperantes sobre la estabilidad de un lodo nitrificante y así contribuir a resolver el problema de la contaminación del agua mediante la recuperación de aguas residuales con concentraciones altas de nitrógeno. En particular, es necesario conocer cómo se comporta un lodo aireado cuando las condiciones nutricionales cambian en un proceso nitrificante, en cultivo continuo, en régimen estacionario.

NOMENCLATURA

NH_3	Amoniac
NH_4^+	Amonio
NO_3^-	Nitrato
NO_2^-	Nitrito
N-NH_4^+	Nitrógeno amoniacal
CO_2	Dióxido de carbono
NH_2OH	Hidroxilamina
HNO_2	Acido nitroso
N_2O	Oxido nitroso
Ca^{2+}	ión calcio
Mg^{2+}	ión magnesio
K^+	Potasio
PO_4^+	Fosfato
NADH	Nicotinamida adenin dinucleotido
ATP	Trifosfato de adenosina.
SST	Sólidos suspendidos totales
SSF	Sólidos suspendidos fijos
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
R1	Reactor uno
R2	Reactor dos

CAPITULO 1

ANTECEDENTES

MADUREZ es la capacidad de encarar disgustos y frustraciones, incomodidades y derrotas, sin queja ni abatimiento.

1.1 COMPUESTOS DE NITRÓGENO COMO CONTAMINANTES.

Los compuestos de nitrógeno tienen efectos contaminantes especiales, además de ejercer una gran demanda de oxígeno y ser estimulantes de la eutroficación de las aguas, provocan toxicidad por nitrito o amonio y emisiones de óxidos de nitrógeno a la atmósfera (Méndez- Pampin *et al.* 1996). Los compuestos orgánicos de nitrógeno están presentes en los desechos domésticos y agrícolas, y los compuestos inorgánicos de nitrógeno se encuentran en ciertos desechos industriales y fertilizantes agrícolas (Garrido 1996). El amoniaco es un producto característico de la materia orgánica y microbiológicamente se puede oxidar. El amoniaco, como iones amonio o como amoniaco libre, es el contaminante nitrogenado que se encuentra con mayor frecuencia, ya que además de ser un producto natural de descomposición, es un producto industrial importante. Su característica más indeseable es el olor desagradable que se puede detectar a un nivel de 35 mg /m³ de aire, y causa irritación de los conductos respiratorios del hombre entre 300 y 500 mg /m³ (Winkler 1994).

Los procesos utilizados para la eliminación del nitrógeno, son biológicos (nitrificación - desnitrificación) y físico - químicos, tal como acarreamiento por aire en medio básico (se conoce como "stripping" en inglés), oxidación química, intercambio iónico, procesos de membrana y precipitación (Sorensen y Jorgensen 1993)

1.2 PROCESOS BIOLÓGICOS EN LA ELIMINACIÓN DEL AMONIACO.

La eliminación biológica de los compuestos nitrogenados es el resultado de dos pasos consecutivos por algunos microorganismos muy especializados (Wood 1981). En el primer paso (nitrificación), el amoniaco es substancialmente oxidado a nitrato. El término nitrificación se define como la conversión biológica de las formas reducidas de nitrógeno a nitrito y nitrato (Bock *et al.* 1991). La formación de nitrato asegura el paso del nitrógeno a la siguiente fase del proceso, la desnitrificación.

1.2.1 Desnitrificación.

La desnitrificación biológica es un proceso microbiano en el cual el nitrato y el nitrito son reducidos a nitrógeno molecular. Los microorganismos participantes en la desnitrificación son heterótrofos facultativos que utilizan al nitrito y nitrato como aceptores terminales de electrones, procedentes de la materia orgánica, liberando nitrógeno molecular (N_2).

En la desnitrificación biológica intervienen numerosos géneros de bacterias: *Acinetobacter*, *Alcaligenis*, *Bacillus*, *Halobacterium*, *Hyphomicrobium*, *Micrococcus*, *Moraxella*, y *Pseudomonas*. (Knowles 1982, Schlegel 1992). Recientemente, se ha hecho referencia de que durante la desnitrificación del nitrito en un cultivo mixto anaerobio, el amonio se emplea como donador de electrones (proceso llamado anamox, que es la oxidación anaerobia del amonio) (Robertson y Kuenen 1992, van den Graaf *et al.* 1995). Existen ciertas especies de bacterias principalmente heterótrofas nitrificantes, capaces de emplear simultáneamente el oxígeno o los aniones del nitrógeno como aceptores de electrones, pudiendo transformar directamente el amonio a nitrógeno gaseoso u óxidos de nitrógeno. Ejemplos de este tipo de bacterias son *Thiosphaera pantotropha* capaz de llevar a cabo la desnitrificación con concentraciones de oxígeno disuelto de 80%, (Robertson y Kuenen 1992) y algunas cepas de *Pseudomonas denitrificans* (van Steenberg *et al.* 1992). La reacción de desnitrificación se lleva a cabo a través de una serie de etapas catalizadas por diversas enzimas asociadas a la membrana. Un primer paso es la reducción del nitrato a nitrito, reacción catalizada por la nitrato reductasa; el segundo es la reducción del nitrito a óxido nítrico, catalizado por la nitrito reductasa; el tercer paso es la reducción del óxido nítrico a óxido nitroso por la óxido nítrico reductasa y por último, la reducción del óxido nitroso a nitrógeno gaseoso, que se lleva a cabo por la intervención de la óxido nitroso reductasa (Knowles 1982).

1.2.2 Nitrificación

La nitrificación se define como el mecanismo de oxidación secuencial del amoníaco a nitrito y posteriormente a nitrato. Este proceso se lleva a cabo por poblaciones bacterianas autótrofas, la variedad de estudios que se han realizado para la nitrificación involucran principalmente dos géneros de bacterias que son *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*. Estos organismos son quimiolitótrofos, por lo cual, obtienen su energía de la oxidación de sustancias inorgánicas reducidas. El carbono para el crecimiento celular lo obtienen del CO_2 .

La nitrificación es un proceso importante en el ciclo biogeoquímico del nitrógeno. En efecto, la conversión de amonio a nitrato tiene un gran impacto ambiental en la alteración de suelos, producción de gases de invernadero y la eutroficación de la superficie de grandes cuerpos de agua (van Breemen y van Dijk 1988).

Es importante conocer las características fisiológicas y bioquímicas de los microorganismos responsables del proceso nitrificante, ya que existe una gran variedad de microorganismos que son capaces de producir compuestos como el nitrito y el nitrato (Focht y Verstraete 1977, Killham 1987). Dentro de éstos se encuentran las bacterias quimiolitotróficas nitrificantes consideradas como el grupo más importante en la producción de compuestos oxidados de nitrógeno. Sin embargo, se ha encontrado que la producción de nitrato también se lleva a cabo por microorganismos organotróficos, principalmente en suelos ácidos de coníferas (Schimel et al. 1984). La ventaja de emplear microorganismos quimiolitotoautótrofos reside en el hecho de que generan muy poca biomasa.

Acorde a Watson et al. (1989), la familia de las bacterias nitrificantes es un grupo diverso de bacilos, vibrios y espirilos que tienen la habilidad para utilizar amoníaco o nitrito como su fuente de energía y CO_2 como su principal fuente de carbono; son quimiolitotróficos obligados, con excepción de algunas especies del género *Nitrobacter*, que pueden crecer mixotróficamente con una mezcla de CO_2 y algunos compuestos orgánicos. Por consiguiente, todas las cepas son aerobias, pero algunas pueden proliferar a bajas concentraciones de oxígeno. Por ejemplo,

algunas especies del genero *Nitrobacter* pueden crecer a expensas de la reducción del nitrato en ausencia de oxígeno generando óxidos nitrogenados (Laanbroek y Woldendorp 1995). Otra característica importante, es su sensibilidad a bajos valores de pH que pueden restringirse a un número de hábitats adecuados. Resumiendo, la microflora nitrificante puede encontrarse en ambientes con oxígeno y pH neutro o ligeramente alcalinos en donde el amonio se produce por mineralización de la materia orgánica (Laanbroek y Woldendorp 1995). Sin embargo, las bacterias nitrificantes, también se han encontrado en ambientes con condiciones extremas como los suelos ácidos (Walker y Wickramasinghe 1979), rocas de monumentos (Meinck *et al.* 1989, Spieck *et al.* 1992) y en algunas zonas oceánicas con bajas concentraciones de oxígeno (Ward 1986)

Las bacterias nitrificantes pertenecen a un grupo filogenético diverso de microorganismos en donde no se ha comprendido aún las diferencias morfológicas (Woese *et al.* 1985, Woese *et al.* 1986). *Nitrosospira*, *Nitrosolobus* y *Nitrosovibrio* se relacionan filogenéticamente (Head *et al.* 1993). Por otro lado, *Nitrosomonas* es el género más común de las amonio oxidantes y la mayoría de las investigaciones se han realizado con *Nitrobacter* (Tabla 1).

Tabla.1 Características de los géneros *Nitrosomonas* y *Nitrobacter*

	<i>Nitrosomonas</i>	<i>Nitrobacter</i>
Forma de la célula	Oval o bacilo	Oval o bacilo
Tamaño de la célula (μm)	1 x 1.5	0.5 x 1.0
Movilidad	móvil o no móvil	móvil o no móvil
Prueba del Gram	Negativo	Negativo
Tiempo de generación (hrs)	8-36	12-59
Autotrofismo	Obligado	Facultativo
Requerimientos de oxígeno	aerobio estricto	aerobio estricto
ΔG° KJ/ mole $\text{NH}_3\text{-N}$	-271	-78
$\mu_{\text{máx}}$ a 20 °C (h^{-1})	0.5	0.8
Y (mg ssv/mg N)	0.08	0.03
pH	7.8 - 9.2	8.5 - 9.2

Sorensen y Jorgensen (1993)

1.2.2.1 Bacterias Amonio Oxidantes.

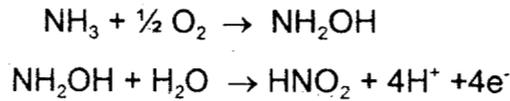
Dentro de las bacterias amonio oxidantes, morfológicamente se encuentran 5 géneros: *Nitrosomonas* presenta forma de bacilo con punta redondeada, *Nitrosococcus* es esférico o elipsoidal, *Nitrospira* es compacta espiral, *Nitrosolobus* es de lóbulos pleomórficos y *Nitrovibrio* son bacilos curvos delgados (Watson *et al.* 1981). Son bacterias quimiolitotróficas obligadas porque oxidan amoniaco a nitrito y fijan CO_2 como fuente de energía y carbono respectivamente. Las características para su crecimiento son: medio enriquecido con amoniaco y sales inorgánicas, no obstante, algunas especies usan urea como fuente de amoniaco, con temperaturas de 25-30°C y valores de pH de 7.5 - 8; el tiempo de generación para estas especies varia entre 7 y 24 horas (Wullenweber *et al.* 1978). La acumulación de nitrito en el medio generalmente inhibe la actividad de estos microorganismos (Krümmel y Harms 1982).

Las bacterias amonio oxidantes son capaces de asimilar compuestos orgánicos. Existe evidencia de que el material orgánico es asimilado por algunas bacterias amonio oxidantes solamente si se encuentra presente una fuente inorgánica de energía (NH_4^+). Krümmel y Harms (1982) observaron que algunas bacterias amonio oxidantes presentan diferentes respuestas en su crecimiento específico en presencia de formato, acetato, piruvato, glucosa y peptona. Por ejemplo, *N. oceanus*. y *N. mobilis* se ven afectadas en su crecimiento.

1.2.2.2 Bioquímica de las Bacterias Amonio Oxidantes.

Las primeras evidencias de que la oxidación del amoniaco en *Nitrosomonas* es catalizado por una oxigenasa, viene de las investigaciones de Rees y Nason (1966) y se confirma por Hollcher *et al.* (1981). La enzima catalizadora es una monoxigenasa. Varios compuestos orgánicos no polares se pueden hidrolizar como sustrato alternativo para la enzima (Hooper y Terry 1973, Hyman *et al.* 1985).

La reacción completa de la amonio oxidación a nitrito, se lleva a cabo en dos pasos, con hidroxilamina como intermediario:



El primer paso en la amonio oxidación es la conversión endérgonica de la hidroxilamina ($\Delta G^\circ = + 17 \text{ KJ /mol}$). Esta reacción se lleva a cabo por la enzima amonio monooxigenasa, para la cual el sustrato es el amoniaco (NH_3) antes que el ion amonio, dado que el crecimiento para las amonio oxidantes es a valores de pH 8.0, estos resultados sugieren que el amoniaco es el sustrato real (Suzuki *et al.* 1974). Parece ser que la monooxigenasa es una enzima asociada a las proteínas de la membrana, pero no se ha demostrado. En la oxidación del amoniaco a hidroxilamina, los electrones posiblemente se originan de la oxidación de la hidroxilamina y puede ser transferido via citocromo c como observaron Tasang y Suzuki (1982).

En el segundo paso, la conversión de NH_2OH a HNO_2 se cataliza por un sistema complejo enzimático hidroxilamina oxidoreductasa, esta enzima se localiza en el espacio periplásmico (Hooper *et al.* 1984). La oxidación de la hidroxilamina a nitrito, probablemente se lleva a cabo con la enzima enlazada a HNO_2 como intermediario (Hooper 1984), paso que se cataliza por la hidroxilamina reductasa. Esta enzima cataliza la deshidrogenación de hidroxilamina a la forma HNO_2 (la cual espontáneamente puede formar N_2O); el NO se puede detectar como un producto de la oxidación de NH_2OH (Hooper y Terry 1979), no se sabe si el segundo oxígeno del nitrito es de O_2 o del H_2O (Andersson y Hooper 1983) La oxidación del amoniaco a nitrito es sensible a la inhibición por varios compuestos a bajas concentraciones, mientras que la oxidación de la hidroxilamina a nitrito es menos susceptible (Hooper y Terry 1979).

1.2.2.3. Bacterias Nitrito Oxidantes.

La nitrito oxidación se lleva a cabo por un grupo de bacterias fisiológicamente bien conocido, en donde la oxidación del nitrito a nitrato es un proceso de generación de energía. Algunas bacterias nitrito oxidantes son litoautotroficas obligadas, con el nitrito como única fuente de energía y el CO₂ como la fuente de carbono. En presencia de sustancias orgánicas algunas nitrito oxidantes pueden crecer mixotróficamente, con excepción de algunas cepas del género *Nitrobacter* que pueden crecer heterotróficamente, aunque este crecimiento es lento e ineficiente (Smith y Hoare 1968, Bock 1976).

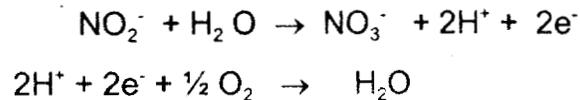
Las bacterias nitrito oxidantes se componen de un diverso grupo de bacilos Gram negativos, cocos y espirilos. Las especies del género *Nitrobacter* tienen forma de bacilos y son pleomórficas. *Nitrospina* es un bacilo delgado, en tanto que *Nitrococcus* es de forma esférica y *Nitrospira*, es de forma espiral (Bock *et al.* 1991).

En la mayoría de los hábitats la nitrito oxidación procede después de la conversión del amoníaco a nitrito. Sin embargo, son encontradas relativamente bajas concentraciones de nitrito debido a la naturaleza inestable de éste. A valores de pH ácido el nitrito se descompone químicamente a ácido nitroso, ácido nítrico y óxido nítrico. No obstante, a pH neutro o alcalino el nitrito sirve como sustrato para la nitrificación. Por otra parte las bacterias nitrito oxidantes se encuentran en ambientes aerobios, aunque pueden ser facultativos (Freitag *et al.* 1987, Bock *et al.* 1988). Cuando el nitrito se forma por la actividad de las amonio oxidantes, o por desnitrificación, puede ser transportado de microambientes anaerobios a aerobios.

Los géneros de *Nitrospina*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* y algunas cepas de *Nitrobacter* se restringen a hábitats marinos, y en ambientes de suelos, rocas, y agua dulce se encuentra exclusivamente *Nitrobacter*. La diversidad en el metabolismo puede explicar su presencia en ambientes anaerobios y lodosos (Bock 1991).

1.2.2.4 Bioquímica de las Bacterias Nitrito Oxidantes

La mayoría de las investigaciones fisiológicas y bioquímicas se han llevado a cabo con miembros del género *Nitrobacter*. La reacción total de la nitrito oxidación por *Nitrobacter* se muestra en la siguiente ecuación:



La etapa de nitrito oxidación se lleva a cabo por el enzima nitrito óxido reductasa, con oxígeno suplementado por el agua. Es una enzima que también puede llevar a cabo la nitrato reducción (Bock 1991). La oxidación del nitrito a nitrato es un paso de dos electrones, los electrones son liberados de la enzima nitrito óxido reductasa que esta enlazada al sustrato. Sin embargo, no se conoce si el sustrato es el ion nitrito, el ácido nitroso no disociado o una forma hidratada de uno de estos (Watson *et al.* 1989). En el metabolismo quimiolitotrófico, el nitrito tiene una doble función a) como donador de electrones para la fosforilación oxidativa y b) como donador de electrones para la síntesis de NADH. El citocromo a es esencial como aceptor de electrones del nitrito (Sundermeyer y Bock 1981, Tanaka *et al.* 1983). El citocromo c se presenta en concentraciones altas en células que crecen quimiolitotróficamente, mixotróficamente y heterotróficamente en presencia de nitrato. Termodinámicamente la reducción del citocromo c, con nitrito como donador de electrones, es un proceso que consume energía (Prosser 1989). Es posible que algunas especies de *Nitrobacter* tengan dos oxidasas terminales, uno para la oxidación del nitrito y otro para la respiración heterotrófica (Watson *et al.* 1989).

1.3 PARÁMETROS QUE AFECTAN EL PROCESO DE NITRIFICACIÓN.

La operación adecuada de un sistema de tratamiento de aguas residuales requiere del conocimiento de los parámetros que puedan afectarla. La nitrificación es sensible bajo determinadas condiciones a la modificación de los valores de ciertos parámetros (Prosser 1977, Anthoniou *et al.* 1990). Los principales parámetros que afectan el proceso de nitrificación o su actividad son los siguientes:

1.3.1 Concentración de oxígeno disuelto.

La estequiometría de la desnitrificación sugiere que es necesaria una concentración de 4.6 mg de O_2 por mg de $N-NH_4^+$ para que el proceso respiratorio se lleve a cabo. En la mayoría de los sistemas de tratamiento de aguas residuales, el oxígeno se requiere para oxidar otros materiales diferentes al amoníaco. Esto a menudo aumenta la demanda de oxígeno en plantas nitrificantes (Sorensen y Jorgensen 1993).

El resultado de numerosos estudios sobre el efecto de la concentración de oxígeno disuelto sobre la eficiencia nitrificante, indican que la concentración crítica de oxígeno disuelto para que la nitrificación se lleve a cabo no debe ser menor de 0.5 mg /l de oxígeno disuelto. A concentraciones menores a ésta la eficiencia nitrificante es mínima. La concentración promedio de oxígeno disuelto para la nitrificación debe ser entre 3-5 mg /l en plantas de tratamiento de agua residual (Painter 1970).

Experimentalmente se ha visto que para un cultivo aireado a concentraciones menores a 2 mg/l son usualmente restringidas. En el mismo sentido se ha visto que 3 mg/l resultan pertinentes, sin embargo, el suministro de oxígeno debe considerar la estequiometría de oxidación de amonio a nitrato y formación de biomasa. Por otro lado, se conoce que la K_s varía entre 0.15 y 2 mg/l de O_2 (van Steenberg *et al.* 1992), o de 0.3 y 2 mg/l de O_2 (Beccari *et al.* 1993), lo que puede deberse al hecho de que la concentración de oxígeno

disuelto en solución no corresponde necesariamente a la concentración interna del flóculo microbiano. Para *Nitrosomonas*, Wiesmann (1994), refiere una constante de afinidad para el oxígeno de 0.3 mg/l, mientras que Hunik *et al.* (1994) da un valor de 0.16 mg/l. Para *Nitrobacter*, Wiesmann (1994) refiere una constante de afinidad para el oxígeno de 1.1 mg/l, mientras que Hunik *et al.* (1994) da un valor de 0.54 mg/l. Esta discrepancia de resultados se puede explicar analizando la bioquímica de las bacterias nitrato y amonio oxidantes, ya que aparentemente pueden hacer frente a condiciones con oxígeno limitado, pero usando nitrato y nitrato como aceptores de electrones como alternativa al oxígeno. Sin embargo, debido a la estricta dependencia de oxígeno de la mono-oxigenasa, la oxidación quimiolitotrófica del amoníaco a nitrato no puede ocurrir bajo condiciones anóxicas. Aunque se ha encontrado que cepas amonio oxidantes, diferentes de *Nitrosomonas* pueden oxidar amoníaco sin la monooxigenasa.

Los organismos nitrificantes pueden sobrevivir bajo ciertas condiciones en ambientes anaerobios, disminuyendo su metabolismo y activando su sistema enzimático reductor. Si las condiciones cambian, es decir, el ambiente se torna nuevamente aerobio, los nitrificantes tienen la facultad de recuperarse y continuar nitrificando.

1.3.2 Temperatura.

Existen diversas referencias sobre el efecto de la temperatura en el proceso de nitrificación. Así los valores de temperatura varían entre diferentes autores Beccari *et al.* (1993) reporta que la temperatura adecuada para la nitrificación se encuentra entre los 30 y 36°C; Sharma y Ahlert (1977) localizan la temperatura adecuada entre 28 y 36 °C, van Steenberg *et al.* (1992) encuentran una temperatura de 28°C y otros de 25 a 30°C (Bock *et al.* 1991). El aumento de la temperatura en un grado centígrado aumenta un 9.5% la velocidad de crecimiento en *Nitrosomonas* y un 5.9% para *Nitrobacter* (Sharma y Ahlert 1977). Por debajo de 5°C la actividad de las bacterias nitrificantes disminuye (Sharma y Ahlert 1977, Beccari *et al.* 1993, van Steenberg *et al.* 1994). Algunas cepas de bacterias

amonio oxidantes se han identificado en ambientes con temperaturas de 50-60 °C. Sharma y Ahlert (1977) dan referencia de que cepas de *Nitrosomonas* mueren a temperaturas de 54 y 58 °C.

1.3.3 pH

Como todo proceso biológico la nitrificación puede ser afectada por el pH del sistema. Parece ser que el pH afecta la actividad enzimática de los organismos nitrificantes puesto que las enzimas se activan sólo en un ámbito muy estrecho de pH (Gaudy 1981). El pH adecuado para la actividad de *Nitrosomonas* reportado por diversos autores se encuentra entre 7.2 y 8.5 (Beccari *et al.* 1993) o de 7.5 y 9.0 (Bock *et al.* 1992), y entre 7.5 y 8.0 (Prosser 1982).

Anthonisen *et al.* (1976) sugiere un mecanismo por el cual el pH afecta la velocidad de nitrificación. Su hipótesis se basa en que el equilibrio de la relación amoniacal/ amonio y nitrito/ ácido nitroso dependen del pH. Tanto el amoniacal libre " NH_3 " y el ácido nitroso no disociado " HNO_2 " inhiben a los organismos nitrificantes. Y cuando el pH intracelular de un organismo nitrificante es menor que el pH del ambiente extracelular, se piensa que el amoniacal libre puede penetrar a la membrana celular, e inhibir a la bacteria, similarmente, cuando el pH intracelular es mayor que el del ambiente extracelular, el ácido nitroso penetra a la célula. Anthoniesen *et al.* (1976) proponen, que la habilidad del amoniacal y del ácido nitroso para penetrar los organismos nitrificantes es la razón por lo que la nitrificación se ve menos afectada a valores de pH de 8 y 9. No está claro si el efecto es mayor sobre las enzimas, o mayor sobre la disponibilidad del sustrato.

1.3.4 Concentración de amoníaco y nitrito.

Aunque muchos compuestos pueden afectar la velocidad de nitrificación dos son los más importantes: amoníaco y nitrito. El amoníaco, más que el ion amonio, es el sustrato que emplean las bacterias amonio oxidantes (Bock *et al.* 1992). El valor de la constante de afinidad de *Nitrosomonas* para el amoníaco varía entre 0.06 y 5.6 mg N-NH₃ /l (Sharma y Ahlert 1977), o alrededor de 0.28 mg/l (Wiesmann 1994). Si se expresa como amonio el valor de la constante de afinidad varía ampliamente, y estaría alrededor de 0.7 mg N-NH₄⁺/l (Van Steenberg *et al.* 1992), por lo que la velocidad de nitrificación sería de orden cero para concentraciones de amonio mayores de 2.5 mg N-NH₄⁺/l (Van Steenberg *et al.* 1992). Como ejemplo se tiene que concentraciones de amoníaco libre entre 10 y 150 mg/l inhiben a *Nitrosomonas*, mientras que concentraciones entre 0.22 y 2.8 mg/l inhiben a *Nitrobacter* (Anthoniesen *et al.* 1976). Por otro lado el nitrito disminuye la respiración y el crecimiento de *Nitrosomonas* por lo que afectan la amonio oxidación.

1.3.5 Efecto de la materia orgánica en la nitrificación.

Las bacterias nitrificantes son sensibles a la acción de una gran cantidad de sustancias inhibitorias que intervienen en el metabolismo de la célula, reduciendo la velocidad de formación de intermediarios. Existen diversos reportes acerca de sustancias inhibitorias, tanto de iones de metales pesados así como de compuestos orgánicos, sobre el proceso de nitrificación (Prosser 1982, Bédard y Knowles 1989).

Krummel y Harms (1982) investigaron el crecimiento de bacterias amonio oxidantes en presencia de formato, acetato, piruvato, glucosa y peptona. Observaron que el crecimiento en *Nitrosomonas* no se ve afectado, mientras que *Nitrosococcus oceanus* se inhibe por los cinco compuestos. El formato y acetato inhiben el crecimiento de *Nitrosococcus mobilis*, pero estimulan a *Nitrosospira*. En *Nitrosovibrio tenuis* se observó que su crecimiento se estimuló por formato y

glucosa, pero se inhibe por acetato y piruvato. El crecimiento mixotrófico incrementa el rendimiento, medido como biomasa formada por unidad de amonio convertido. Sin embargo, no se observa el crecimiento heterotrófico en bacterias amonio oxidantes. (Krummel y Harms 1982).

Recientemente, Takai *et al.* (1997) estudiaron el efecto de algunos ácidos grasos volátiles, sobre la actividad nitrificante y observaron que la nitrito oxidación aparentemente es más sensible a los ácidos grasos volátiles que la amonio oxidación. También encontraron que el efecto se ve incrementado ligeramente a bajos valores de pH. Por otra parte, en bacterias nitrito oxidantes la situación es diferente, ya que éstas presentan crecimiento heterotrófico en acetato hidrolizado de caseína, glicerol o piruvato. El crecimiento mixotrófico estimula la máxima velocidad específica de crecimiento y rendimiento, aunque el mecanismo de estimulación aún no se conoce. La variabilidad de resultados descrita, se puede deber a la respuesta de las diferentes especies sobre los diferentes compuestos, y al efecto de los compuestos orgánicos sobre la biomasa heterotrófica

1.4 SISTEMAS NITRIFICANTES.

Aunque existen diversas alternativas para la eliminación de compuestos nitrogenados, la más profusamente utilizada es la eliminación biológica mediante los procesos de nitrificación y desnitrificación. Se han diseñado unidades capaces de eliminar compuestos de nitrógeno mediante procesos biológicos. Para implementar a gran escala y de modo eficaz un proceso biológico se utilizan básicamente dos tipos de sistemas a) sistemas con biomasa no adherida, que mantiene en el reactor una concentración elevada de biomasa, bien por recirculación desde un decantador externo o bien desarrollando un flóculo denso y estable que se mantenga dentro del reactor y b) sistemas con biomasa adherida que retienen la biomasa sobre un soporte inerte que puede estar fijo o en suspensión (Méndez- Pampin *et al.* 1996).

1.4.1 SISTEMAS CON BIOMASA NO ADHERIDA.

1.4.1.1 Lodos activados

El objetivo del proceso de lodos activados es eliminar compuestos orgánicos solubles e insolubles, y convertir este material en suspensión microbiana floculenta, que sea fácilmente sedimentable y permita el uso de la técnica de separación gravitacional del sólido y del líquido. Este sistema se ha adaptado para el crecimiento de la biomasa autótrofa nitrificante. Usualmente se trabaja con tiempos de retención hidráulica de entre 4 y 7 días para evitar el lavado de los microorganismos amonio-oxidantes y nitrito-oxidantes (Mendez-Pampin *et al.* 1996). Se han realizado diferentes modificaciones al proceso de lodos activados y son los que se mencionan a continuación.

a) En el sistema de flujo pistón, el agua residual se mezcla con un cultivo biológico en condiciones aerobias, la biomasa se separa del líquido en un sedimentador secundario, en el cual una porción del lodo se pierde y la que permanece retorna al tanque de aireación. La velocidad y concentración del lodo activado que regresa al reactor determina la concentración de sólidos suspendidos en el reactor, y este tipo de sistema promueve el crecimiento de un buen flóculo y hace que el lodo sedimente adecuadamente (Eckenfelder 1989).

b) Sistema de mezcla completa. Para obtener una mezcla completa en el tanque de aireación se requiere de una apropiada geometría del reactor. Con agitación es posible establecer una demanda constante de oxígeno, así como una concentración homogénea de sólidos en todo el volumen del reactor (Azimi y Horan 1991). Uno de los inconvenientes en estos sistemas es la formación de esponjamiento, "Bulking" (en inglés) en tratamientos de aguas residuales de la industria procesadora de alimentos (Forster 1985b).

1.4.2 SISTEMAS CON BIOMASA ADHERIDA.

1.4.2.1 Filtro percolador (Tricking filter)

Un filtro percolador es un lecho empacado con soporte inerte sobre el que crece adherida la biomasa, por donde pasa el agua residual. La materia orgánica presente en el agua se elimina a través de la película biológica (Eckenfelder, 1989).

— Cuando el agua residual pasa a través del filtro, los nutrientes y el oxígeno se difunden dentro del lodo, donde ocurre la asimilación. Los productos y el CO_2 se difunden fuera del lodo, por el líquido. Como la difusión de oxígeno ocurre dentro de la película biológica, éste se consume durante la respiración microbiana. De manera análoga a los lodos activados, la eliminación de la demanda bioquímica de oxígeno (DBO), a través de un lecho empacado se relaciona con la disponibilidad del lodo biológico y al tiempo de contacto de las aguas residuales, con la superficie del lecho. La eficacia del lecho empacado se afecta por cambios en la temperatura de la película del filtro y del líquido que pasa sobre la película. Cuando disminuye la temperatura a menos de $16\text{ }^\circ\text{C}$, se observa una disminución en la actividad respiratoria, por disminución en la velocidad de transferencia del oxígeno, y el efecto combinado de estos factores da como resultado un incremento en la película microbiana sobre el soporte (Eckenfelder 1989).

Otros problemas asociados a la operación de los lechos empacados son: desprendimiento de la biomasa por cambios de estación, lo cual provoca un exceso de descarga de la biopelícula, reflejándose en un aumento de sólidos suspendidos volátiles en la salida, que se acumulan en invierno como resultado de la actividad de depredación dentro de la película, provocando que el tanque de sedimentación esté sujeto a una alta carga de lodos (Hawkes y Shepherd 1971). Otro aspecto importante y que ha sido ampliamente estudiado por Painter (1980) es la presencia de moscas, donde la larva de insectos es una parte significativa del sistema, ya que los adultos emergen como enjambres causando molestias a los operadores. Como se ha mencionado, la sobrecarga del sedimentador es uno

de los mayores problemas en la operación de los filtros, y da como resultado una espasmódica descarga de efluentes de las aguas de desecho y ocasiona un incremento natural en la población que sirve como filtro (Forster 1985b). La generación de olor en algunos casos es otro problema, provocado por la combinación del sistema de aguas de desecho y los filtros, en otras palabras, el mal olor se genera por los productos generados del proceso como el metano y dióxido de azufre dentro del agua de desecho (Forster 1985 b).

En la mayoría de los casos, la velocidad de reacción de transferencia de oxígeno para las aguas de desechos industriales es lenta y por lo tanto, los filtros no son económicamente atractivos para obtener eficiencias altas de tratamiento en las aguas residuales (las eficiencias de reducción de DBO son menores al 85%). Sin embargo, se emplean como pretratamiento para aguas residuales con alta velocidad, en donde la DBO eliminada es del orden del 50% y se logran cargas orgánicas e hidráulicas mayores de $0.16 \text{ m}^3 / (\text{min} \cdot \text{m}^2)$ y $8.0 \text{ Kg} / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$.

1.4.2.2 Filtros sumergidos

Los filtros sumergidos son una modificación de los biofiltros, en los que el lecho sobre el que crecen los microorganismos se mantiene sumergido continuamente en el agua residual (Bishop y Kinner 1986). Como soporte se emplean diversos materiales como el poliestireno, cerámica, arena y carbón. La oxidación de amonio en estas unidades depende de factores como una buena distribución del aire, la temperatura del agua, la presencia de materia orgánica y de una buena gestión de los periodos de lavado del sistema. Muy pocos sistemas de filtros sumergidos, se han instalado para la nitrificación. Pero hay evidencias que pueden ser de bajo costo y eficientes y además sirven como tratamiento terciario con eficiencias del 90% en eliminación de nitrógeno a bajos tiempos de residencia hidráulica TRH (Sorensen y Jorgensen 1993).

1.4.2.3 Discos biológicos rotatorios (DBR)

El manejo de los DBR depende, como la mayoría de otros procesos biooxidantes, de la temperatura, la carga hidráulica, y el pH por citar algunos de los principales parámetros (Forster 1985b, Pike *et al.* 1982).

Los discos biológicos rotatorios consisten de un disco de plástico de diámetro grande, montado sobre una flecha horizontal sobre un eje. El disco rueda ligeramente con un 40 % de la superficie de área sumergida. La capa de lodo se desarrolla sobre el disco. El disco rotatorio lleva una película de agua en contacto con el aire, dando como resultado la transferencia de oxígeno y nutrientes. Los esfuerzos cortantes causan que el exceso de biomasa se elimine del medio de una manera similar al lecho empacado. Esta biomasa se elimina desde un clarificador.

Las principales variables que afectan el proceso son:

- 1- Velocidad de rotación
- 2- Tiempo de retención hidráulica.
- 3- Temperatura.
- 4- Superficie de contacto.

La eficacia de oxidación del amoníaco es un criterio importante en la evaluación de cualquier reactor biológico. El grado de nitrificación que se logra por los discos biológicos rotatorios depende de varios factores: Antonie (1978), mostró que la eliminación del nitrógeno amoniacal en estos sistemas esta directamente relacionado a la carga hidráulica, mientras Cheung y Mack (1982) reportan que la nitrificación puede lograrse únicamente cuando la carga orgánica es menor de 5 g/ m² -d de BOD. El trabajo reportado por Hittlebaugh y Miller (1981), mencionan dos aspectos importantes de la nitrificación en discos rotatorios biológicos: muestran que el proceso se ve limitado por oxígeno en verano y que una buena eliminación de la DBO es necesaria, para la nitrificación. Para lograr esto, es necesario que la cantidad de superficie del disco este disponible para la colonización por las especies nitrificantes.

1.5 FLOCULACIÓN EN LODOS ACTIVADOS.

1.5.1 Características de los lodos.

La baja sedimentación en lodos activados es un problema importante, tanto económico, como técnico en el que a menudo se descargan altas cargas de sólidos suspendidos al ambiente, siendo éste un problema de operación en la planta de tratamiento de aguas residuales. Este problema biológico se debe al hecho de que hay poca información, o contradictoria, sobre la estructura física y química del floculo del lodo activado, la cual se relaciona con la capacidad de sedimentación de cualquier lodo.

Un lodo activado debe contener una población microbiana capaz de descomponer una proporción tan grande como sea posible de los nutrientes en las aguas residuales que se tratan y debe flocular con facilidad. La floculación se define como el fenómeno donde las células se unen en grupos que se asocian con estructuras químicas exopoliméricas (sustancias exopoliméricas, SEP) y sedimentan rápidamente del medio en donde ellas se encuentran suspendidas (Straffort 1992).

La adaptación de una población microbiana es un proceso lento, por lo tanto el lodo de un sistema activado necesita mantener un alto tiempo de residencia de los lodos para reaccionar ante un cambio significativo en la composición de la alimentación, de modo que frecuentes cambios en la composición de las aguas residuales pueden producir un lodo que nunca se adapte a un tipo de alimentación y de esa manera obstaculizar su floculación (Winkler 1994).

1.5.2 Floculación.

El crecimiento floculante de los lodos es importante, en primer lugar para la adsorción, aglomeración de materias iónicas, coloidales y en suspensión presentes en las aguas residuales, y en segundo lugar para tener una separación rápida y económica de los lodos (Winkler 1994). La floculación es también una

particularidad biológica que tiene una enorme utilidad práctica. Permite concentrar la microflora de un reactor depurador, que en el caso de los lodos nitrificantes resulta obligatorio hacerlo. La facilidad de sedimentación se asocia con los lodos bien floculados que permite mantener la concentración de lodos en el reactor por recirculación de los lodos que sedimentan con mayor rapidez.

El mecanismo de formación del floculo de un lodo activado aún no está bien comprendido, habiendo diferentes fenómenos que se involucran, pero los trabajos se centran en la naturaleza y las propiedades de las SEP, producidos por las bacterias, las cuales se involucran en la formación del floculo. También se apunta que la formación del floculo en lodos activados es un proceso fisicoquímico que implica interacciones de materia orgánica e inorgánica.

Los problemas comunes de sedimentación que presentan los lodos activados son el esponjamiento que se define como el estado donde el grado de compactación y sedimentación del lodo es baja, con actividad nitrificante deficiente (Nóvak *et al.* 1993). Cuando se encuentran pequeñas partículas suspendidas que provocan que el efluente se vea turbio usualmente se llama desfloculación. Hay ocasiones en que se producen partículas grandes que son visibles, pero no sedimentan, a esto se le llama "pinpoint" (su nombre en inglés) del floculo. El "pinpoint" y la desfloculación son fenómenos totalmente distintos del esponjamiento. El "pinpoint" del floculo nunca ocurre simultáneamente con el esponjamiento, pero éste y la desfloculación si pueden ocurrir al mismo tiempo (Pipes 1978). Más tarde se dan más detalles.

1.5.3 Problemas de floculación en lodos activados.

La mayoría de los estudios realizados sobre floculación se enfocan en que la desfloculación podría llevarse a cabo por diferentes factores entre los que destacan un mal funcionamiento del reactor, debido a una aireación deficiente, temperatura, pH, recirculación de los lodos, que ocasionan en algunos casos, la proliferación de microorganismos indeseables y la formación de floculos no estables, provocando fenómenos indeseables, como los que se mencionan a continuación.

1.5.4 Esponjamiento (“bulking”)

En este fenómeno se observa que el lodo flota y su actividad respiratoria nitrificante disminuye (Gómez 1994) provocando el lavado del reactor por el efluente. El esponjamiento se puede asociar a la formación de espuma donde la sedimentabilidad del lodo es baja, ya que se ha encontrado que cuando este fenómeno aparece, el índice volumétrico del lodo (IVL), que representa la relación entre el volumen sedimentado en 30 minutos ml/l y el peso seco g/l presenta valores altos y el lodo suspendido en el efluente aumenta (Nóvak *et al.* 1993). Se conocen dos tipos de esponjamiento:

a).- Esponjamiento filamentoso.

Se le llama así a la formación de flóculos ligeros, esponjosos y con malas características de sedimentación, atribuible a la proliferación de gran cantidad de microorganismos filamentosos (Jenkins *et al.* 1986). No obstante, se considera que juegan un papel importante en la formación de la estructura del flóculo, dándole soporte para que las bacterias se agreguen (Eikelboom 1975, Jenkins *et al.* 1986). El crecimiento predominante de estos organismos comunica características poco aceptables de sedimentación, porque los microorganismos filamentosos que se extienden fuera del flóculo aumentan la resistencia al movimiento, reducen la velocidad de sedimentación e inhiben la compactación de los flóculos después de la sedimentación y, por ende, el sobrenadante en la etapa de separación es turbio (Khan y Forster 1990, Foot *et al.* 1994)

b).- Esponjamiento no filamentoso.

Este fenómeno de esponjamiento no contiene bacterias filamentosas y se conoce como agregación de sustancias exopoliméricas (zooglear). En este tipo de lodo también se presenta el esponjamiento que se caracteriza por una disgregación de flóculos (Jenkins 1992, Nóvak *et al.* 1993) y se observa turbiedad en el decantador (desfloculación), siendo precursor del esponjamiento.

Las bacterias de crecimiento zooglear secretan compuestos exopoliméricos, los que probablemente son los causantes de la formación de espuma y disminución de la estabilidad del flóculo. En los periodos de esponjamiento, el lodo, no sedimenta y tiene una actividad nitrificante baja, posiblemente debido a la disminución de las bacterias nitrificantes y aumento de las bacterias heterotróficas. Esta conducta a la fecha, no ha podido ser bien entendida y lo que se observa en la literatura son todavía evidencias poco consistentes o contradictorias.

1.5.5 Turbiedad (Pin Point).

Se ha encontrado que cuando la edad de algunos lodos (tiempo de residencia de los lodos en el reactor) es mayor que 6 días, parte de los flóculos se encuentran en forma de pequeños gránulos. Estos flóculos de tamaño pequeño que no sedimentan fácilmente, permanecen como partículas visibles en el sobrenadante, después de que el resto del lodo ha sedimentado (Pipes 1978). La presencia de estos flóculos en el efluente se debe posiblemente a un tiempo prolongado de residencia de los lodos en el tanque de sedimentación, antes de ser recirculados al tanque de aireación y proporcionan un alto contenido de materia orgánica residual (Sutherland 1982). Sin embargo, varios casos de lodo que confieren turbiedad evidente al reactor, no puede entenderse por el tiempo de residencia. No se tiene claro que causas originan este comportamiento.

1.5.6 Parámetros operacionales que intervienen en la formación del flóculo.

Námer *et al.* (1993) mencionan que la velocidad de sedimentación de agregados bacterianos está en función de los parámetros geométricos de las partículas, así como de su densidad y porosidad. La distribución del tamaño de partículas es resultado del equilibrio entre la formación, transformación y rompimiento de los agregados microbianos. Por lo tanto, quizá el tamaño de los flóculos de lodos activos cambia de acuerdo a las condiciones de operación del

reactor (Li y Ganzarczyk, 1987 y Krzysztof *et al.* 1995).

Las características de sedimentación se pueden agrupar en tres categorías. 1) la relación entre la sedimentación y forma en la cual se enlazan los flóculos individuales; 2) la relación de sedimentabilidad y las propiedades electroquímicas del flóculo que se consideran como partículas coloidales estables; y 3) su relación con las propiedades físicas, como el tamaño y densidad del flóculo (Magara *et al.* 1976). La organización interna del flóculo es un problema aún difícil de entender, ya que no se observa una estructura uniforme del flóculo (Li *et al.* 1990).

Las características del flóculo, hasta ahora, parece que dependen de algunos factores como los siguientes: la composición del influente, ya que puede provocar un crecimiento excesivo zooglear que puede influir marcadamente en la desestabilización del flóculo (cabe recordar también que las características del metabolismo respiratorio están fuertemente influenciadas por la concentración y tipo de sustrato, en consecuencia los productos finales de la respiración alteran las SEP) (van Leeuwen 1988), disminución de nutrientes como el nitrógeno, fósforo o hierro que son parte del flóculo (Wood y Tchobanoglus 1974) y una disminución de oxígeno disuelto en el sistema, lo que puede provocar un excesivo crecimiento de bacterias diferentes a las nitrificantes (Stichová 1990). Sin embargo, todavía no hay evidencia que indique cual, o cuales, factores intervienen en la desestabilización del flóculo.

También se ha encontrado que la presencia de algunas sales inorgánicas son uno de los factores que intervienen en la floculación, ya que se promueve, especialmente, por sales de calcio y magnesio (Stratford, 1992). El pH es otro factor, que influye sobre la superficie de carga de los agregados de bacterias. En el caso de los lodos nitrificantes, el aumento en el pH ayuda a que el lodo sedimente, y se ha demostrado que con altas temperaturas, los flóculos se dispersan, lo que se conoce como el punto de fusión del flóculo (Hussain *et al.* 1986). Del mismo modo hay evidencias de que las proteínas juegan un papel importante en la formación del flóculo (Nishihara *et al.* 1977, Martínez y Gómez 1996)

1.6 IMPORTANCIA DE LAS SUSTANCIAS EXOPOLIMERICAS (SEP) EN LA FLOCULACIÓN.

El flóculo que está formado en su mayor parte por cargas negativas (Stratford, 1992), siendo el resultado de interacciones fisicoquímicas entre microorganismos (principalmente bacterias), partículas inorgánicas, SEP y cationes multivalentes (Urbain *et al.* 1993). La influencia de las SEP, sobre la sedimentación del lodo está ampliamente estudiado pero dada la diversidad de métodos para su extracción, es difícil comparar los resultados de los diferentes estudios (Urbain *et al.* 1993).

Sato y Ose (1980), observaron que los exopolímeros se constituían principalmente de carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, pero no indican cuál es el papel de cada uno de los componentes y sólo mencionan que son necesarios para la floculación. Asimismo, Wahlberg *et al.* (1992) mencionan que los exopolímeros son importantes para la función y estabilidad del flóculo e indican que los compuestos de mayor importancia e influencia son los carbohidratos y las proteínas. Del mismo modo Horan y Eccles (1986), que determinaron la composición de los exopolisacáridos, encontraron 5 monosacáridos principales que constituyen de los polímeros. Goodwin y Foster (1985), indicaron que las variaciones en la concentración de los exopolisacáridos afectan el IVL. Estos estudios indican que las SEP que se encuentran con mayor frecuencia y concentración son las proteínas y los carbohidratos. Los resultados existentes hacen suponer que la composición química es constante, pero es necesario realizar estudios en este aspecto para confirmar cuál de estos dos exopolímeros le infiere mayor estabilidad al flóculo.

La mayor parte de la información es contradictoria con relación a cual de los exopolímeros confiere mayor estabilidad al flóculo, el hecho es que la baja sedimentación se asocia a polímeros de alto peso molecular (Forster 1985) y sugiere que se debe al hecho de que polímeros grandes, a causa de su tamaño producen agregados que contienen más intersticios de agua.

1.6.1 Importancia de los polisacáridos en la floculación.

Los estudios de morfología y bioquímica de formación del flóculo indican que los polímeros extracelulares son responsables del fenómeno de floculación en bacterias (Friedman *et al.* 1969) y esta agregación de bacterias, se atribuye principalmente a los polisacáridos extracelulares (Toerien *et al.* 1990). Asimismo, se ha encontrado que la producción de polisacáridos incrementa con la velocidad de carga (Sutherland 1982). No obstante, los estudios de cambios en las propiedades físicas de los polisacáridos se enfocan en la viscosidad y la capacidad de éstos para producir gel, pero pocos esfuerzos se han realizado sobre las condiciones que afectan su formación y producción. Se han encontrado diferencias en la viscosidad, pero posiblemente éstas se deban a la habilidad de las bacterias para producir diferentes tipos de polímeros. La alteración de la viscosidad observada en diferentes cultivos, se debe a los cambios químicos observados, principalmente, en los polisacáridos (Urbain *et al.* 1993).

Se reporta que varios iones que las bacterias toman del medio, sirven como cofactores en la síntesis de polisacáridos, como ejemplo, la producción de polisacáridos de *Enterobacter aerogenes* es estimulada por Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ y también en presencia de bajas concentraciones de Fe^{3+} . Concentraciones adecuadas de nitrógeno y fósforo, incrementan la producción de polisacáridos (Toerien *et al.* 1990).

Se conoce que el fósforo es un importante componente estructural de los ácidos nucleicos, fosfolípidos y proteínas, así como en los nucleótidos. Kulaev (1985) apunta que el fosfato en forma de polifosfatos es importante en varias funciones celulares: A) acumulación de energía, considerándose como material de reserva osmóticamente inerte, que contienen fosfato activo; B) hace que las células sean más independientes de las condiciones ambientales a través de la acumulación de reservas de polifosfatos; C) regulación de ATP y otros niveles de nucleótidos en células; D) cumple la función de ATP en algunos casos por participación directa en reacciones de fosforilación; E) se vincula a cationes (Mn^{2+} , Mg^{2+} y K^+); F) y contribuye a la homeostasis y regulación osmótica.

Los polisacáridos producidos por algunos hongos están fosforilados y se ha encontrado que la producción de los polisacáridos que contienen fósforo está limitada por la concentración de fósforo en el sustrato. La producción de polisacáridos que contienen fosfato por *Aspergillus nidulans* se estimula con incrementos del contenido de fosfato en el medio (Leal y Ruperez, 1978).

1.7 EFECTO DE ALGUNOS MICROORGANISMOS EN LA FORMACIÓN DEL FLÓCULO.

La presencia de microorganismos filamentosos juega un papel importante en la formación de la estructura del flóculo. Sezgin *et al.* (1978), piensan que los microorganismos filamentosos forman una especie de espina dorsal en el flóculo del lodo activado, en donde las bacterias formadoras del flóculo se fijan por medio de las SEP. Por otro lado, se piensa que el crecimiento excesivo de los microorganismos filamentosos, hace que el flóculo no tenga una buena compactación y como resultado, haya pérdida de densidad en los flóculos, causando esponjamiento el cual depende del tipo de filamento, forma y morfología del flóculo. (Pipes 1979, Nývák *et al.* 1993). Del mismo modo, algunos protozoarios ciliados no siempre presentes segregan una sustancia gelatinosa que favorece la formación del flóculo. Además, los cilios proporcionan una microagitación que ayuda al suministro de nutrientes a otros microorganismos presentes del flóculo. Algunos protozoarios se alimentan de los microorganismos dispersos lo cual favorece que el agua sólo contenga flóculos y evita que el tanque de sedimentación contenga mayor materia orgánica suspendida. Estos problemas son muy complejos y se evalúan de diferentes puntos de vista, entre los que destacan la sedimentación del lodo, la valoración de los diferentes exopolímeros del flóculo, para ver cual o cuales intervienen en los períodos de inestabilidad del lodo activado.

Enfatizando, la floculación en lodos activos es de suma importancia para mantener la estabilidad del lodo. Tiene también un impacto importante sobre la eficiencia de operación de separación de lodos en el reactor. Si el lodo no

sedimenta es acarreado por el efluente y sale del reactor, por lo tanto, un sistema con un índice de floculación alta, permite la retención y concentración celular, lo que en tratamientos de aguas es importante dado que el crecimiento es lento.

Sin embargo, las condiciones fisiológicas de las bacterias nitrificantes, limitan en gran medida la operación de reactores, que se observan como eficiencias bajas de nitrificación. Aunado a esto, si no se cuenta con un buen sistema de retención celular el resultado es el lavado del reactor. Este trabajo se enfoca en la identificación de algunas variables que pueden afectar o mejorar la sedimentabilidad del lodo activado nitrificante y permita aportar elementos que nos permitan entender más y mejor la floculación y su relación con el ambiente microbiano.

1.8 LITERATURA CITADA

- Andersson, K y Hooper, A.B. (1993). Each the source of one O in NO_2 produce from NH_2 by *Nitrosomonas*. ^{15}N -NMR evidence. *FEBS Letters*. **104**, 236-240.
- Antonie, R. L. (1978). Design criteria for application of the rotating biological contactor to domestic and industrial wastewater treatment. International environment Colloquium, Liege,
- Anthoniesen, A. C., Loer, R. C., Prakasam, T. B. S.y Srinath, E.G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal WPCF*. **48**, 835-852.
- Antoniou, P., Hamilton, J. y Koopman, B. (1990). Effect of temperature and pH on effective maximum specific growth rate of nitrifying bacteria. *Wat. Res.* **24**, 97-01.
- Azimi, A. A. y Horan, N. J. (1991). The influence of reactor mixing characteristics on the rate of nitrification in the activated sludge process. *Wat. Res.* **25**, 419-423.
- Bédard, C. y Kowles, R. (1989). Physiology, biochemistry, and specific inhibitors of CH_4 , NH_4^+ and CO oxidation by methanotrops and nitrifiers. *Microbiological Reviews*. **53**, (1), 68-84.
- Beccari, M., Passino, R., Ramadori, R. y Vismara, R. (1993). Rimozione di azoto e fosforo dail liquami. Editorial Ulrico Hoepli, Milan, Italia.
- Bishop, P. L. y Kinner, N. E. (1986) Aerobic fixed-film processes. En: *Biotecnology*, **8**, Edit. VCH. Weiheim, Alemania. 113- 174.
- Bock, E. (1976). Growth of the *Nitrobacter* in the presence of organic matter. II Chemoorganotrophic growth of *Nitrobacter agilis* *Arch Microbiol.* **108**, 305.

- Bock, E. (1988). Growth of *Nitrobacter* in the absence of dissolved oxygen. *Wat. Res.* **22**, 245-250.
- Bock, E., Koops, H. P., Harms, H. y Ahlers, B. (1991). The biochemistry of nitrifying microorganism. En: *Variations: Autotrophic life*, Eds Shively, J. M. y Barton, L. L. 171-200. London.
- Bock, E., y Koops, H. P. (1992). The genus *Nitrobacter* and related genera, En. *The Prokaryotes. A Handbook on the biology of bacteria: Ecophysiology, isolation, identification, applications*, 2nd ed., **3** 2302-2309.
- Campos, J. L., Garrido, J. M., Mendez-Pampin, R. y Lema, J. M. (1996). Unidad de lodos activados nitrificantes de alta carga. En Congreso Ibérico de Biotecnología. Edit. Fernández Polanco., garcía Encina Pedro, Gonzáles Gerardo Benito, Peña Miranda Ma. Del Mar. Universidad de Valladolid España.
- Cheung, P.S. y Mack, G. (1982). The influence of organic loading and retention period on the performance of the rotating disc system. *Journal WPCF* **81**, 553-557.
- Echeverría, E., Seco, A. y Ferrer, J. (1992). Study of factors affecting activated sludge settling in domestic wastewater treatment plants. *Wat, Sci. Tech.* **25**, 273-279.
- Eikelboom, D.H. (1975). Filamentous organisms observed in activated sludge. *Wat. Res* **9**, 365-388.
- Eckenfelder, W. W. (1989). Industrial Water Pollution Control. Mc Graw- Hill, Inc. New York. 589
- Forster, C. F. (1985a). Factors involved in the settlement of activated sludge - nutrients and surface polymers. *Wat. Res.* **19**, 1259-1264

- Forster, C. F. (1985b). *Biotechnology and wastewater treatment*. Cambridge University Press New York 348p
- Focht, D. D., Verstraete, W. (1977) Biochemical ecology of nitrification and denitrification., *Adv in Microbial-Ecology*, **1**: 135-214
- Foot, R. J., Robinson, M. S. y Forster, C. F. (1994). Systematic activated sludge bulking and foam control., *Wat Sci. Tech.* **29**, 213-220.
- Frietag, A., Rudert, M y Bock, E. (1987). Growth of Nitrobacter by dissimilatory nitrate reduction, *FEMS Microbiol. Lett.* **48**, 105-109.
- Friedman, B. A. Dugan P.R. Pfister, R. M. y Remsen C.C. (1968). Fine structure and composition unding zooglea ramigera. *J Bacteriol.* **96**, 2144-2153.
- Gaudy, A. F. y Gaudy, E.T. (1981). Microbiology for enviromental scientists and engeneers. Mc. Graw-Hill 736p.
- Garrido, F. M. (1996). Nitrificación e Desnitrificación de aguas residuais con concentracions elevadas de formaldehido e urea. Tese de Doutoramento. Departamento de Enxeñeria química Universidade de Santiago de Compostela, España.
- Gómez, H.J. (1994). Obtención de microflora nitrificante: Nitrificación en diferentes medios de cultivo. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, España.
- Gómez, H.J., Lema, R.J., Méndez-Pampín, J.R. (1995). La nitrificación biológica con cultivos axénicos o lodos activados. *Ciencia*. **46**, 507-523.
- Goodwin, J. A. S. y Forster, C. F. (1985). A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to their settlement characteris. *Wat. Res.* **19**, 527-533

227610

- Hawkes, H.A., Shepherd, M.R.N. (1971) the seasonal accumulation of solids in percolating Filter and attempted control at low frequency dosing Proceedings %th International water pollution Research conference, ed. Jenkins, S.H., Oxford Pergamon Press.
- Head, I.M., Hiorns, W.D., Embley, T. M., McCarthy, A. J., y Saunders, J. R. (1993). The phylogeny of autotrophic ammonia-oxidizing bacteriaas determined by analysis of 16S ribosomal RNA gene sequences. *J. Gen. Microbiol.* **139**, 1147-1153.
- Hidlebaugh, J.L. y Miller, R.D. (1981). Operating Problems with rotating biological contactors. *Journal. WPCF.* **53**, 1283-1293.
- Hooper, A. B. y Terry, K. R. (1979). Hydroxylamine oxidoreductase of *Nitrosomonas europaea* production of nitric oxide from hydroxylamine, *Biochim. Biophys. Acta* **571**, 12-20
- Hooper, A. B. y Terry, K. R. (1973). Specific inhibitors of ammonia oxidation in *Nitrosomonas* *J. Bacteriol* **115**, 480-485.
- Hooper, A. B. (1984). Ammonia oxidation and energy transduction in the nitrifying bacteria. P 133-167. En W.R. strohl and O.H. Tuovinen. Ed. Microbial cheautotrophy. Ohio State University Press.
- Hollocher, T.C., Tate, M. E. And Nicholas, D. J. D. (1981). Oxidation of ammonia by *Nitrosomonas europaea*. Definitive 18O-tracer evidence that hydroxylamine formation involves a monooxygenase. *J. Biol. Chem.* **256**, 10834-10836.
- Hollocher, T.C. (1984). Source of the oxygen atom of nitrate in the oxidation by nitrate by *Nitrosomonas agillis* and evidence against a P-O-N anhydride mechanism in oxidative phophorilation. *Arch. Biochem. Biophys.* **233**, 721-727.

- Horan, N. J. y Eccles, C. R. (1996). Purification and characterization of extracellular polysaccharides from activated sludges. *Wat. Res.* **20**, 1427-1432.
- Hunik, H.J., Meijer, H.J., Tramper, J. (1994). Kinetics of *Nitrobacter agilis* at extreme substrate, product and salt concentrations. *Appl. Microbial Biotechnol.* **40**, 442-448.
- Hussain, T., Salhi, O., Lematre, J., Charpentier, C. y Bonaly, R. (1986). *Appl. Microbiol Biotechnol.* **23**, 269.
- Hyman, M. R. y Wood, P. M. (1985). Suicidal inactivation and labelling of ammonia monooxygenase by acetylene. *J. Biochem.* **227**, 719-725.
- Jenkins, D. Richard, M. G. y Daigger, G.T. (1986). Manual on the causes and control of Activated Sludge Bulking and Foaming. *Wat. Res.* Commission Pretoria Republic of South Africa.
- Jenkins, D. (1992). Towards a comprehensive model of activated sludge bulking and foaming. *Wat. Sci. Tech.* **26**, 215-230.
- Khan, A. R. y Forster, C.F. (1990). An investigation into the stability of foams related to the activated sludge process. *Enzyme. Microb. Technol.* **12**, 788-793.
- Killham, K. (1987). A new perfusion system for measurement and characterization of potential rates of soil nitrification. *Plant soil.* **97**: 267-272.
- Killham, K. (1990). Nitrification in coniferous forest soils, *Plant soil.* **128**, 31-44
- Krzy sztof, B. y Koscielniak, H. (1995). Influence of substrate loading intensity on floc size in activated sludge process. *Wat. Res.* **29**, 1703-1710.
- Knowles, R. (1982) Denitrification. *Microbiological Reviews.* **46** (1), 43-70

- Kuenen, J. G. y Robertson, L. A. (1987). En "the Nitrogen and sulphur cycles" Eds Cole J.A. y Ferguson, S. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kulaev, I. S. (1985). Some aspects of environmental regulation of microbial phosphorus metabolism. *FEMS Symp.* **23**, 1-25.
- Kumar, S., Nicholas, D.J. D. (1982). *J. Gen. Microbiol.* **128**, 1795-1801.
- Krümmel, A y Harms, H. (1982). Effect of organic matter on growth and cell yield of ammonia oxidizing bacteria *Arch. Microbiol.* **133**, 50-54.
- Laanbroek, H. J. y Woldendorp, J. W. (1995). Activity of Chemolithotropic Nitrifying bacteria under stress in natural soils. *Adv. in Microbial Ecology* **14**, 275 -298.
- Li D. H. y Ganczarczyk J.J. (1987). Stroboscopic determination of settling velocity, size and porosity of activated sludge flocs. *Wat. Res.* **21**, 257-262
- Li D. H. y Ganczarczyk J.J. (1990). Structure of activated sludge flocs. *Biotechnol. Bioeng.* **35**, 57-65.
- Martinez, F., Favela, T. E. Y Gomez, J. (1996). Bioquímica de los exopolimeros de un cultivo nitrificante en estado estacionario. Memorias del III Congreso Ibérico de Biotecnología. Edit. Fernández Polanco., García Encina Pedro, González Gerardo Benito, Peña Miranda Ma. Del Mar. Universidad de Valladolid España.
- Magara Y., Nambu S. y Uotosawa, K. (1976). Biochemical and physical properties of an activated sludge on settling characteristics *Wat. Res.* **10**, 71-77.
- Meincke, M., Krieg, E., y Bock, E., (1989). Nitrososivibrio. Spp., the dominant ammonia- oxidizing bacteria in building sandstone. *Appl. Environ, Microbiol.* **55**: 2108 - 2110.

- Méndez-Pampín, R; m. Sánchez., Lema, J. M. (1996). Evaluación de tecnologías para la eliminación biológica de nitrógeno. En: III Congreso Ibérico de Biotecnología. Eds. Fernández, F. P; García, E. P; González, G.B; Peña, M.M. (Universidad de Valladolid) 39-44.
- Nishihara, H., Toraya, T., y Fukui, S. (1977). Effect of chemical modification of cell surface components of brewers yeast on the floc forming ability. *Arch. Microbiol.* **115**, 19-23.
- Námer, j. y Ganczarczyk J.J. (1993). Settling properties of digested sludge particle aggregates. *Wat. Res.* **27**, 1285-1294.
- Novák, L., Larrea L., Wanner, J. y Garcia-Heras, J. I. (1993). Non-filamentous activated sludge bulking in laboratory scale system. *Wat. Res.* **27**, 1339-1346.
- Painter, H. A. (1970). A review of literature on inorganic nitrogen metabolism in micro-organisms. *Wat Res.* **4**, 393-450.
- Painter, H. A. (1980). A survey of Filter Fly Nuisances and their remedies. Technical Report **155** *Wat. Res. Centre*
- Pipes W. O. (1979) Bulking, deflocculation, and pinpoint floc. *J. Water. Pollut. Control Fed.* **51**, 62-70.
- Pike, E. B., Carlton-Smith, C. H., Evans, R. H. Harrington, D.W. (1982). Performance of rotating biological contactor under field conditions. *J. Water. Pollut Control Fed.* **81**, 10-27.
- Prosser, I. J. y Gray, G. R. T. (1977). Nitrification studies at non-limiting substrate concentrations, *J. General microbiology.* **102**, 111-117.
- Prosser, J.I. (1989). Autotrophic nitrification in Bacteria. *Adv. in Microbial Physiology* **30**, 125-181

- Rees, M. Y. Nason, A. (1966). Incorporation of atmospheric oxygen into nitrite formed during ammonia oxidation by *Nitrosomonas europaea* *Biochim. Biophys. Acta.* **113**, 398-401.
- Robertson, L. A., Kuenen, J.G. (1992). Nitrogen removal from water and waste. En microbial control of pollution. **48**, 227-267. fry, J.C. Eds. Society for general microbiology Symposium. Cambridge University Press, Gran Bretaña.
- Sato, T. y Ose, Y. (1980). Floc-forming substances extracted from activated sludge by sodium hydroxide solutions. *Wat. Res.* **14**, 333-338.
- Sezgin M., Jenkins D. y Parker D.S. (1978). A unified theory of filamentous activated sludge bulking. *Journal. W P CF.* **50**, 362-381.
- Schlegel H.G. (1992). General Microbiology. 7a Edition. Cambridge University Press.
- Schimel, J. P. Firestone, M. k., y Killham, K.S. (1984). Identification of heterotrophic nitrification in a Sierran Forest Soil. *Appl. Environ. Microbiol.* **48**: 802-806
- Sharma, B. y Ahler, R. C. (1977). Nitrification and nitrogen removal. *Wat. Res.* **11**, 897-925.
- Smith, A.J y Hoare, D.S.(1968). Acetate Assimilation by *Nitrobacter agilis* in relation to its "obligate autotrophy" , *J. Bacteriol.* **95**, 844-855.
- Sundermeyer, H. y Bock, E. (1981). Energy metabolism of autotrophically and heterotrophically grown cells of *Nitrobacter winogradsky*. *Arch. Microbiol.* **130**, 250-254
- Sutherland, I. W. (1982). Bacterial exopolysaccharide synthesis. *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **45**, 40-56.
- Sorensen, H. B. Y Jorgensen, S. E. (1993). The removal of nitrogen compounds from waste water. Edt. Elseiver 443p.

- Spieck, E., Meincke, M. y Bock, E. (1992). Taxonomic diversity of nitrosovibrio strains isolated from building sandstones, *FEMS Microbial, Ecol.* **102**, 21-26
- Stichová, O. (1990). Study of the mechanism of biological enhanced Phosphorus removal En: SBRS. M. Sc. Thesis Prague Institute of Chemical Technology. Prague
- Stratford, M. (1992). Yeast flocculation: A new perspective. *Adv. in Microbial Physiology.* **33**, 2-58.
- Suzuki, Y., Dular, V. Y Knowk, S. C. (1974). Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *J. Bacteriol.* **120**, 556-568.
- Tanaka, Y., Fukomori, Y. y Yamanaka, T. (1983). *Arch. Microbiol.* **135**, 265-271.
- Takai, T., Hirata, A., Yamauchi, K., Inamor, Y. (1997). Effects of temperature and volatile Fatty acids on nitrification-denitrification activity in small-scale anaerobic- aerobic recirculation biofilm process. *Wat. Sci. Tech.* **35**, 101-108.
- Toerien, D.F; Gerber, A. Lötter, L.H; Cloete, T.E. (1990). Enhanced biological phosphorus removal in Activated sludge systems. *Adv. in Microbial Ecology* **11**, 173-230.
- Tsang, D.C. y Suzuki, I. (1982). Cytochrome c-554 as a possible electron donor in the hydroxylation of ammonio and carbon monoxido in *Nitrosomonas europaea*. *Can. J. Biochem.* **60**, 1018-1024.
- Urbain, V., Block, J. C. y Manem. (1993). Bioflocculation in activated sludge by sodium hydroxide solution. *Wat. Res.* **27**, 829-838.
- van Breemen, N., y van Dijk, H. F. G. (1988). Ecosystems effects of atmospheric deposition of nitrogen. In the Netherlands. *Eviron. Poll.* **54**. 249-274

- Van de Graaf, A. A., Mulder, A., deBruijn, P., Jetten, M. S. M., Robertson, L. A., Kuenen, J. G. (1995). Anaerobic oxidation of ammonium is a biologically mediated process. *App. Env. Microbiol.* **61**, 1246-1251.
- van Leeuwen, J. (1988). Ozonation for non-Filamentous bulking control in a activated sludge plant treating fuel synthesis waste water. *Water S.A.* **15**, 127-132.
- van Steenberg, K., Feyaerts M., Uriens L., Verachtert H. (1992). Microbial and biochemical aspects of the biological nutrient removal. Jornadas sobre biotecnología en tratamiento de aguas. Gaiker, Bilbo.
- Wahlberg, E. J., Keinath, T. M. y Parker, D. S. (1992). Relationship between activated sludge flocculation characteristic and cell- surface polysaccharide concentration. *Wat. Sci. Tech.* **26**, 2527-2530.
- Ward, B. B. (1986). En: "Nitrification". 157-184. Eds. Prosser, J. I. IRL Press, Oxford.
- Walker, N., and Wickramasinghe, K. N. (1979). Nitrification y autotrophic nitrifying bacteria in acid tea soil. *Soil Biol. Biochem.* **11**: 231 - 236
- Watson, S. W., Valoist, F. W. y Waterbury, J. B. (1981). The family nitrobacteriaceae. **1**, 1005-1022. En: The Prokaryotes. Eds. Starr, M. P., Stolp, H., Truper, H. G., Balows, A. y Schlegel, H. G.. Springer Verlag N. Y.
- Watson, S.W., Bock. E., Harms, H., Koops, H.P., y Hooper, A.B. (1989). En: Nitrifying bacteria in Bergeys manual of Systematic Bacteriology. **3**, 1808 - 1834. Eds. Staley, J.T., Bryant, M.P., Bryant, N.P., Fenning, y Holt, J.G.. Williams y Wilkins, Baltimore.
- Wiesmann, U. (1994). Biological nitrogen removal from wastewater. **51**, 113-154. En: Fletcher A. Eds. *Adv. En Biochemical Engineering Biotechnology*. Springer, Berlin.

Winkler, M. (1984) Nitrogen and phosphorus removal. En: Biological Treatment of waste water. John Willey y Sons. 226-275.

Woese, C.R., Weisburg, W.G., Hahn, C.M., Paster, B. J., Zahalen, L.B., Lewis, B.J., Macke, T.J., Ludwig, W., y Stackebrand, E. (1985). The phylogeny of purple bacteria: The Gamma Subdivision, *Syst. Appl. Microbiol.* **6**, 25-33.

Woese, C.R., Weisburg, W.G., Paster, B. J., Hahn, C.M., Tanner, R. S., Krieg, N.R., Koops, H. P., Harms, H., y Stackebrand, E. (1986). The phylogeny of purple bacteria: The beta Subdivision. *Syst. Appl. Microbiol.* **5**, 327-336.

Wood, D. K. y Tchobanoglous, G. T. (1974). Trace elements in biological waste treatment with specific reference to the activated sludge process. Presented at the 29th *Industrial Waste Conference*, Purdue University. 761-768.

Wood, L. B., Hurley, B. J. E. Y Matthews, P. J. (1981). Some observations on the biochemistry and inhibition of nitrification. *Wat. Res.* **15**, 543-551.

Wullenweber, M., Koops, H. P. y Harms, H. (1978). *Mitt. Inst. Allg. Bot. Hamburg* **16**, 159-164.



CAPITULO 2

JUSTIFICACION y OBJETIVOS

MADUREZ es la habilidad de controlar y equilibrar pensamiento, voluntad y sentimiento.

227610

2.0 JUSTIFICACION.

Existe la necesidad de establecer criterios cuantitativos que nos permitan determinar la estabilidad y velocidad de sedimentación de los lodos activados. Lo anterior es de suma importancia práctica, para el manejo de reactores a gran escala. Por otro lado, los criterios que se utilizan para determinar la estabilidad de un lodo activado son el IVL y la velocidad de sedimentación, parámetros que están sujetos a un número de variables importantes entre los que destacan el número y tipo de microorganismos, la velocidad de carga o el tipo de sustrato. A la fecha, no se tiene claro cuales factores son altamente determinantes y es necesario obtener información más detallada, para poder entender mejor que variables ambientales influyen más sobre el IVL y la velocidad de sedimentación. Por lo anterior se plantearon los siguientes objetivos.

2.1 OBJETIVOS.

2.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar y estudiar el efecto de diferentes regímenes hidráulicos, en estado estacionario de nitrificación, sobre un lodo activado flocular.

2.3 OBJETIVOS ESPECIFICOS.

Evaluar el efecto de diferentes velocidades de carga (0.07, 0.15, 0.22 y 0.44 g/l-d de $N-NH_4^+$) en la estabilidad de sedimentación de un lodo activado nitrificante.

Medir y analizar el efecto de diferentes velocidades de carga de fosfato (0.44, 0.57 y 0.75 g/l-d), sobre la sedimentación del lodo activado nitrificante.

Bajo las diferentes velocidades de carga aplicadas al lodo, medir y analizar el índice volumétrico del lodo (IVL) y la velocidad de sedimentación, del lodo activado nitrificante.

Analizar el efecto de las velocidades de carga de nitrógeno y fosfato, en la fisiología de nitrificación del lodo activado.

CAPITULO 3

MATERIAL

Y

MÉTODOS

MADUREZ es paciencia. Es el saber posponer el placer inmediato en favor de un beneficio a largo plazo.

3.0 PROLOGÓMENO.

Para mantener en operación un sistema nitrificante continuo es necesario alcanzar y mantener un flujo constante por lo tanto, en la operación en estado estacionario no deben ocurrir cambios en la concentración de sustrato, biomasa y productos, conservando el volumen del reactor sin cambios significativos (Quintero 1983). Sin embargo, el mantener, estas condiciones del reactor dependen de la adecuada aplicación de técnicas de medida para la determinación de productos, sustrato y concentración de biomasa que dan indicio del estado en que trabaja el reactor y son el principal enfoque de este capítulo.

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

3.1.1 Estandarizar los métodos de medida de proteína, consumo de sustrato, formación de producto, aplicando las técnicas de Lowry, microelectroforesis capilar y electrodos específicos, determinando el grado de reproducibilidad de cada método.

3.1.2 Instalar dos reactores de tanque agitado, con lodos activados nitrificantes, aireados, agitados con recirculación de biomasa, a pH y temperatura constantes.

3.2 MÉTODOS ANÁLITICOS.

3.2.1 Medida de proteína.

Dentro de los métodos más comunes para medir biomasa, se encuentran los que miden la proteína con el reactivo biuret (Layne 1957), el de folin Ciocalteu (Lowry *et al.* 1957) o con la bromosulfaleina (Paul 1965).

La medición de proteína se llevó a cabo por el método de (Lowry *et. al.* 1957). La técnica consta de una reacción colorida que se basa en la formación de complejos de cobre con las proteínas. La intensidad del color aumenta con el

reactivo de Folin-Ciocalteu, que puede variar con el pH y el tipo de proteína. El color es estrictamente proporcional a la concentración de proteína. La técnica es simple, fácil de adaptarse a pequeños volúmenes de muestra.

El método de Lowry se utilizó debido a su gran sensibilidad, simplicidad y rapidez de procedimiento, es mucho más específico y menos expuesto a turbidez. Es de 10 a 20 veces más sensible que la medición con luz ultravioleta a 280 nm (Lowry *et al.* 1957).

Reactivos y preparación de soluciones

Preparación de la solución A* es una mezcla de 50 ml de la solución a y 1 ml de la solución b.

a). Solución 1: 20 g de Na_2CO_3 en 1000 ml de solución acuosa.

b).- Solución 2: Preparar 10g de tártrato de Sodio o Potasio en 1000 ml de solución acuosa, más 0.5 g de CuSO_4 , y por cada litro adicionar 0.5 ml de NaOH 10N.

Curva de calibración

Se prepara la albúmina sérica de bovino, con 0.03 g en 100 ml de agua destilada, elaborando una curva como se indica en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1 Curva estándar para determinación de proteína.

CONCENTRACION mg / L	TUBO	ALBUMINA (ml)	AGUA DES. (ml)
0	0	0	1.0
120	1	0.4	0.6
180	2	0.6	0.4
240	3	0.8	0.2
300	4	1.0	0

A 1 ml de muestra, se adiciona 0.1 ml de NaOH 10N, se lleva a digestión a 90°C por 30 minutos, se enfría y adicionan 5 ml de la solución A*, se agita en vortex y se deja reposar en la oscuridad durante 30 minutos, se adiciona 1 ml del reactivo

Folin-Ciocalteu a cada uno de los tubos, se agitan y dejan reposar 60 min. La lectura se hace a 750 nm de longitud de onda. La curva estándar es tratada igual que las muestras.

La muestra se toma del reactor previamente agitado para reducir el error en el muestreo, es por lo tanto, obligatorio que la muestra se tome de un sistema perfectamente homogeneizado. La muestra se puede guardar básificada. Por cada 1ml de muestra agregar 0.1ml de NaOH 10N conservar en refrigeración por un máximo de 48 hrs. La Tabla 3.2 muestra la media, desviación estándar y el coeficiente de variación de la regresión de cada curva estándar que se realizó para la determinación de proteína.

Tabla 3.2 Reproducibilidad del método de Lowry

	a	b	r ²
Media	4.44	399.9	.994
Desv. Estándar	0.657	38.08	.0039
C. V.	0.14	0.9	0.004

3.2.2 Medida del amonio.

Los factores que influyen en la determinación de amonio son su concentración y la presencia de ácido glutámico, glicina y algunos compuestos orgánicos, entre otros, que interfieren en la medida. Asimismo, cuando se tienen una gran cantidad de compuestos que interfieren en la muestra, como concentraciones altas de amonio, es necesario una dilución, destilación o titulación de la muestra, antes de llevar a cabo la técnica.

Dentro de las técnicas más comunes para determinar amonio se encuentran, la de Nessler, que se utiliza para concentraciones de 20 µg/l a 5 mg/l de nitrógeno amoniacal. El método del fenato, se usa para concentraciones de 10 µg/l a 500 µg/l de nitrógeno amoniacal, el de titulación y destilación se usa para concentraciones mayores de 5 mg/l de nitrógeno amoniacal (APHA 1989). La

medida del amonio se realizó con el uso de un electrodo selectivo de amoniaco, que emplea una membrana hidrofóbica de gas-permeable intercambiadora de iones, que separa la muestra problema en solución, de una solución interna de cloruro de amonio del electrodo. El amonio disuelto es convertido a NH_3 , por aumento del pH hasta un valor básico. El NH_3 se difunde a través de la membrana y cambia el pH de la solución interna, donde el ion cloro, es sensible a un cambio de voltaje y sirve como referencia al electrodo. Este método es aplicable a medidas de 0.03 a 1400 mg de N-NH_4^+ / l (APHA 1989).

El método del electrodo selectivo de amonio se empleó en este trabajo por su buena sensibilidad a concentraciones de iones disueltos, no interfiere, el color, la turbidez y la destilación de la muestra es innecesaria. Las soluciones estándares que se emplean, así como las muestras deben tener la misma temperatura y contener las mismas especies de iones disueltas. Las escasas interferencias que tiene el método es con aminas volátiles. Tiene una respuesta rápida, aunque con algunas variaciones con factores tales como la temperatura; movimiento y ruido. El potencial del electrodo se desarrolla cuando la membrana esta en contacto con la solución de amonio, la medida se lleva a cabo contra una constante de referencia (APHA 1989).

Reactivos y preparación de soluciones.

Se prepara una solución madre de amoniaco de 5000 ppm, con 1.4863 g de NH_4Cl en 100 ml de solución acuosa. De la solución madre se hacen soluciones patrón con 50, 100, 125, 250 y 500 ppm.

A 5 ml de muestra se adicionan 0.5 ml de NaOH 10N, se afora a 50 ml con agua desionizada, se mide la conductividad en mV, a temperatura y agitación constante. Este mismo procedimiento se sigue para las soluciones patrón. En caso de ser necesario se hace una dilución de la muestra tomada del reactor. Para estabilizar la lectura y reducir el error en la membrana de intercambio, el electrodo se mantiene en un ángulo de aproximadamente 45° .

Se recomienda valorar las soluciones de la curva estándar con un patrón de 500 ppm elaborada con el medio de cultivo que contiene la fuente nitrogenada,

para corroborar la validez de las soluciones. La Tabla 3.3 muestra la desviación estándar, media y coeficiente de variación de la regresión de cada curva estándar que se realizó para determinar amonio.

Tabla 3.3 Reproducibilidad de medición de amoniaco.

	a	b	r ²
Media	0.75	0.175	.997
Desv. Estándar	0.2374	.0012	.003
C. V.	0.31	0.72	0.0030

3.2.3 Medida del nitrato.

La medida del nitrato se realizó por medio de un analizador capilar de iones (CIA). El método se conoce como electroforesis capilar que se basa en el análisis de una muestra aplicada dentro de un capilar, el cual está lleno de un electrolito. El voltaje que se aplica cruza el capilar, causando una migración diferencial de los componentes de la muestra hacia el respectivo electrodo (cationes [+] que migran hacia el ánodo [-] que los recibe al final del capilar y los aniones que migran hacia el cátodo [+]). Dependiendo de la polaridad del voltaje aplicado y la composición del electrolito, la muestra analizada pasa a través de un detector. Los factores que afectan la velocidad de migración de iones hacia sus respectivos electrodos incluyen un flujo electroosmótico o el movimiento de partículas del fluido mediante la capilaridad, la naturaleza del análisis, la composición del electrolito, detergentes, fuerza iónica y pH.

A 1 ml de muestra se le filtra con una membrana de 0.4 μ y de ser necesario, se diluye con agua desionizada. Las condiciones utilizadas para analizar electroforeticamente NO₂ y NO₃ fueron:

Un tiempo de toma de muestra de 4 segundos, tiempo de corrida de 4 minutos, lampara de 212 nm.

Preparación de soluciones.

227610

Se prepara un electrolito con una solución de sulfato de sodio 0.1 M, tomándose 10 ml a los que se agregan 5 ml de detergente OFM* aforar a 100 ml con agua desionizada.

*El detergente OFM se agrega para facilitar la migración de los iones.

3.2.4. DETERMINACIÓN DE LOS SÓLIDOS SUSPENDIDOS.

Una muestra homogeneizada se filtra a través de una membrana de fibra de vidrio, ya pesado, el residuo retenido en el filtro es secado a 103 - 105 °C hasta peso constante. El aumento en el peso del filtro representa los sólidos suspendidos totales. El método excluye partículas grandes y aglomerados sumergidos de materiales no homogéneos de las muestras. (APHA 1985)

Procedimiento.

Colocar el filtro de fibra de vidrio en el aparato de filtración, filtrar y lavar 3 veces la muestra con un volumen de 10 ml de agua destilada, succionar hasta quitar el agua completamente, colocar el filtro en una plancha de aluminio o acero como soporte. Secar en estufa a 103 - 105 °C hasta obtener peso constante. Si los sólidos volátiles son determinados, entonces calcinar a 550 °C por 15 minutos en una mufla. Enfriar en desecador para balancear el peso y la temperatura, repetir el proceso hasta obtener peso constante (APHA 1985).

3.2.4.1 Determinación de sólidos suspendidos totales (SST).

Medir 50 ml de muestra con pipeta volumétrica y filtrar (el filtro previamente pesado) lavar con tres volúmenes de 10 ml de agua destilada, y succionar completamente el agua. Quitar cuidadosamente el filtro y colocarlo en una plancha de aluminio como soporte o en cápsula de porcelana. Secar a 103 - 105 °C durante una hora, enfriar el desecador para balancear el peso y temperatura para posteriormente pesar. Repetir la operación hasta obtener peso constante.

Cálculos.

$$\text{mg SST / l} = \frac{(A - B) \times 1000}{v_m}$$

Donde:

mg SST / l = miligramos de sólidos suspendidos totales por litro

A = Peso del filtro + material seco (mg)

B = Peso del filtro seco (mg)

v_m = volumen de muestra utilizada (ml).

3.2.4.2 Determinación de sólidos suspendidos fijos (SSF).**Procedimiento.**

Se calcinan los residuos obtenidos de los sólidos suspendidos totales, hasta obtener peso constante a 550°C en una mufla. Usualmente se requieren de 15 a 30 minutos de calcinación. Transferir a un horno de secado entre 103 - 105 °C, durante 30 minutos. Dejar que el crisol se enfríe parcialmente, hasta que casi todo el calor se haya disipado. Transferir en un desecador para el enfriamiento final de una atmósfera seca. Pesar hasta obtener peso constante, si no repetir la operación de calcinación.

Cálculos.

$$\text{mg SSF / l} = \frac{(A - B) \times 1000}{v_m}$$

Donde:

mg SSF / l = miligramos de sólidos suspendidos fijos por litro

A = Peso del filtro + muestra incinerada (mg)

B = Peso del filtro seco (mg)

vm = volumen de muestra utilizada (ml).

3.2.4.3 Determinación de sólidos suspendidos volátiles (SSV).

Los sólidos suspendidos volátiles se obtienen por diferencia de sólidos suspendidos totales y suspendidos fijos.

$$SSV = SST - SSF$$

3.2.5 EVALUACIÓN DE FOSFORO TOTAL.

Los fosfatos totales incluyen, ácidos fosfóricos hidrolizables y fósforos orgánicos. Las fracciones de fosfatos son convertidas en ortofósforos por oxidación o destrucción de la materia orgánica presente. Las oxidaciones múltiples requeridas para ésta conversión dependen de la concentración de fósforos orgánicos presentes.

Las muestras filtradas se someten a digestión con persulfato de amonio, para hidrolizar los fosfatos presentes del material orgánico y de polifosfatos. El pH de las muestras digeridas es ajustado y posteriormente las muestras se mezclan con un reactivo colorido para leer en espectrofotómetro (EPA 1985).

Reactivos :

a) Solución de ácido sulfúrico 11N, 5N y 1N. Estas soluciones son estables por varios meses

b) Solución de persulfato de amonio

Disolver 400 g de persulfato de amonio en 600 ml de agua destilada, y aforar a 1000 ml. La solución es estable por varios meses refrigerada en botella ámbar.

c) Solución de tartrato de potasio y antimonio

Pesar 1.37 g de $k(SbO) C_4H_4O_6 \cdot \frac{1}{2} H_2O$ y disolver en 400 ml de agua destilada y diluir a 500 ml. Colocar en frasco color ámbar y guardar en refrigeración. La solución es estable por seis meses.

d) Solución de molibdato de amonio

Disolver 20 g de $([\text{NH}_4^+] 6 \text{ Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4 \text{ H}_2\text{O})$ en 500 ml de agua destilada. Guardar en refrigeración. En botella ámbar, es estable por varios meses.

e) Acido ascórbico 0.01M

Disolver 1.76 g de ácido ascórbico en 100 ml de agua destilada. Guardar en refrigeración solamente es estable por una semana a 4°C de temperatura.

F) Reactivo colorido.

Mezclar los siguientes reactivos en la proporción y orden indicados.

50 ml de H_2SO_4 5N, 5 ml de solución de tartrato de potasio y antimonio, 15 ml de solución de molibdato de amonio y 30 ml de solución de ácido ascórbico.

Esta mezcla tiene que desarrollar un color amarillo verdoso tenue al agregar el ácido ascórbico; cualquier alteración al tono antes descrito sugiere contaminación en algunas de las soluciones. Cuidar que todas las soluciones al mezclar se encuentren a temperatura ambiente.

Si se forma una turbidez durante la preparación de ésta mezcla dejar reposar durante pocos minutos hasta que desaparezca. Este reactivo sólo es estable por un periodo de 4 horas.

g) Solución de fenolftaleína.

Disolver 0.5 g de fenolftaleína en alcohol etílico al 50% y diluir a 100 ml. Es estable por 4 meses.

h) Solución madre de fosfatos.

Disolver 0.22 g de KH_2PO_4 (secado previamente a 105 °C por una hora), en agua destilada y diluir a 1000 ml. 1.0 ml = 0.05 mg de P.

La solución es estable por aproximadamente 6 a 8 meses almacenados en botella ámbar.

i) Solución estándar de fosfatos.

Diluir 100ml de solución madre de fosfatos en 1000 ml de agua destilada. Solución estable sólo por 12 horas. 1.0 ml = 5 µg de P

Procedimiento.

Se realiza una curva estándar como se indica en la siguiente Tabla 3.2:

Tabla 3.2 Curva patrón para determinar fósforo total.

No. Tubo	Sol. Std de P (ml) _a	H ₂ O destilada (ml)	Reactivo Colorido _b	[P] (μg /ml)
1	0	100	2.1	0.00
2	10	90	2.1	0.50
3	25	75	2.1	1.25
4	50	50	2.1	2.50
5	75	25	2.1	3.75
6	100	0	2.1	5.00

(a) ml de solución estándar de fosfatos; (b) ml de reactivo colorido

Se toman 10ml de muestra filtrada, colocarla en un tubo y adicionar 0.2 ml de H₂SO₄ 11N y 0.2 ml de solución de persulfato de amonio (los estándares y blancos se tratan igual que la muestra). Tapar los tubos, calentar por 30 minutos en autoclave a 121 °C y enfriar.

Se ajusta el pH adicionando una gota de fenolftaleína en cada muestra, el color se mantiene. Agregar NaOH 6N, gota a gota hasta desarrollar un ligero tinte rosa, adicionar ácido sulfúrico 1N, gota a gota hasta que el color rosa desaparezca. La solución tendrá igual color (será nuevamente incolora), que cuando empezó este proceso. Por último se agregan 2.1 ml del reactivo colorido y mezclar vigorosamente, reposar 10 minutos y leer absorbancia a 880 nm.

Cálculos.

Concentración de fosfatos totales en la muestra con la curva estándar realizada.

$$[\mu\text{g/ml}] \text{ de P} = \frac{[(5 \mu / \text{ml de P}) (B)]}{100 \text{ ml}}$$

Donde:

B = ml de solución estándar de fosfato aforado con agua destilada.

Cálculos finales para evaluar fósforo total.

$$Z \text{ [}\mu\text{g/ml]} \text{ de P- total} = \frac{(A - b)}{m}$$

Donde:

A = Lectura de absorbancia para cada muestra

B = Ordenada al origen de la curva estándar

m = Pendiente de la curva estándar

$$\text{mg / l de P- total} = \frac{(\mu\text{g/ml de P- total (1000 mg)})}{1000 \text{ ml}} \cdot (\text{dil})$$

dil = Es la dilución de la muestra empleada para el análisis de la misma.

Sugerencias

La presencia de fosfatos es muy común, pues su absorción se realiza sobre superficies de vidrio, por lo tanto, habrá que evitar el uso de detergentes comerciales contenedores de fosfatos, recomendándose limpiar toda la cristalería con dilución caliente de ácido clorhídrico concentrado (300 ml de HCL diluidos muy lentamente en 500 ml de agua destilada), enjuagar bien con agua destilada. Revisar periódicamente el buen estado de los reactivos elaborados, sobre todo aquellos que requieren refrigeración, ya que es muy fácil su desestabilización química a temperatura ambiente (cuidando de no congelar). Asimismo, la curva de calibración se tendrá que elaborar cada vez que se prepare de nuevo un reactivo. Tener precaución después de agregar la mezcla de reactivo colorido ya que el tiempo límite antes de caer en evaluaciones erróneas es de 30 min. La Figura. 3.3 muestra una de las curvas que se utilizaron para la determinación de fosfato.

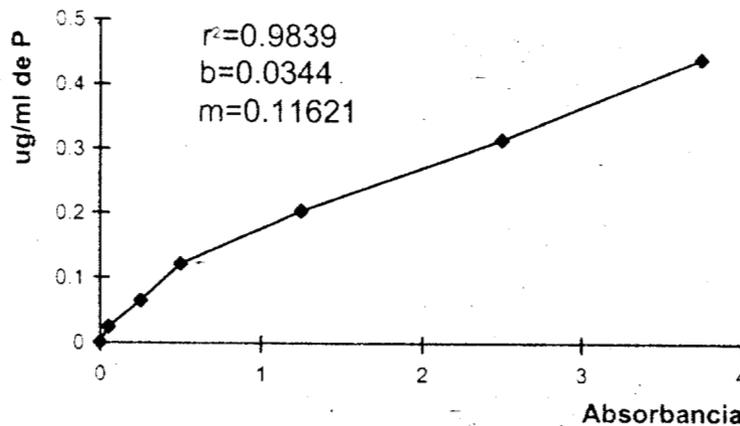


Fig. 3.3 Curva patrón para determinación de fosfato

3.2.6 DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE VOLUMÉTRICO DE LODOS (IVL).

La mayoría de los autores toman como parámetro principal el IVL como medida de estabilidad del lodo, ya que es fácil de medir y refleja las propiedades del lodo en forma directa. Además de los ya factores desestabilizantes del lodo mencionados, algunos estudios indican que también la concentración de iones divalentes como fierro, calcio y magnesio así como el aumento de carbohidratos exopoliméricos modifican el IVL (Forster 1971).

Valores menores de 100 ml/g se consideran como aceptables y valores arriba de éste, son indicadores de episodios de "bulking". El IVL puede ser indicativo de la estabilidad del lodo, ya que cuando se presenta el fenómeno de "bulking", el tamaño del floculo cambia, así como su densidad, lo que origina que flote y se pierda la biomasa microbiana por el efluente. Cuando las condiciones de operación hidráulicas y fisiológicas se normalizan, el lodo vuelve a sedimentar. (Goodwin y Forster 1985, Nývák *et al.* 1993).

El índice volumétrico del lodo (IVL, ml /g), representa la relación entre el volumen sedimentado en 30 minutos (ml/l) y el peso seco (g/l). El procedimiento normal es sobre el volumen de 1l de muestra, pero es posible realizarlo con volúmenes más pequeños siempre que se tengan recipientes bien graduados (Urbain *et al.* 1993). Esta prueba volumétrica se lleva a cabo en un cono de Imhoff, en donde la muestra bien mezclada, sedimenta durante 30 minutos y se miden los mililitros sedimentados a los 30 minutos, se aplica la siguiente fórmula.

$$IVL = \frac{\text{Volumen de lodo sedimentado (ml/l)}}{\text{Sólidos secos (g/l)}}$$

3.2.7 DETERMINACIÓN DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN (VS).

La sedimentación se emplea para la eliminación de sólidos suspendidos en las aguas residuales. El proceso tiene tres clasificaciones básicas y dependiendo de la naturaleza de los sólidos presentes en la suspensión se clasifican en: a). Sedimentación discreta, en donde las partículas mantienen su individualidad y no cambian en su tamaño, forma o densidad durante el proceso de sedimentación. b). Sedimentación floculenta es cuando las partículas aglomeradas durante el periodo de sedimentación cambian en tamaño y en velocidad. C). Zonas de sedimentación es característica de lodos activados y suspensiones químicas floculentas. Involucra una suspensión floculenta la cual forma una estructura de capas y sedimenta mostrando distintas interfaces durante el proceso de sedimentación (Eckenfelder, 1989). El mecanismo de sedimentación se observa mejor cuando se realizan las pruebas en cilindros de vidrio y se establecen varias zonas de sedimentación.

La zona D donde predominan los sólidos sedimentables e incluye las partículas pesadas y que sedimentan rápidamente.

La zona C es una región de distribución de tamaño variable y no hay una concentración uniforme.

La zona B es una zona de concentración uniforme, aproximadamente de la misma concentración y distribución inicial.

La zona A empieza en el límite de la región B, la cual es una región de líquido claro.

Como la sedimentación es continua, la altura de cada zona varía y se nota que la zona A va aumentando al punto donde la zona B y C desaparecen y todos los sólidos aparecen en D esto se conoce como el punto de sedimentación crítica.

Procedimiento

La sedimentación se calculó en centímetros graficando la altura de la interface sedimento-agua en función del tiempo. El valor de la velocidad es la pendiente del punto de inflexión a un tiempo t (Foust 1980). Otra forma de calcular la velocidad de sedimentación es con la pendiente de la línea recta de los datos graficados (Shall 1989), en este estudio se calculó la velocidad de sedimentación con la pendiente de la linearización de la curva de sedimentación, la cual se obtuvo con la segunda derivada de la función que se ajustó a la curva de sedimentación. Por otro lado, también se calculó a partir de la pendiente del punto de inflexión de la curva de sedimentación, que es el método más usual, sin embargo, las velocidades obtenidas estaban muy por debajo de los valores reportados, además de que no mostraban ninguna relación con el IVL, por esta razón, el cálculo de la velocidad con la pendiente de la línea recta mostró tener una mejor relación con el IVL.

3.3 CULTIVO

3.3.1 Reactor.

Se utilizaron dos reactores en flujo continuo tipo Applikon Figura 3.2. El número (1) es el reactor con 1.3 l de volumen nominal y un volumen de trabajo de 1l. La parte superior del reactor presenta entradas para la instalación de accesorios las cuales están constituidas por: (8) entrada y salida de recirculación de agua que mantiene la temperatura constante en el cultivo por un controlador de temperatura; (9) entrada de aire que proporciona oxígeno a saturación (60% del nivel de saturación), esta entrada llega hasta el fondo del reactor para que el aire se pueda homogeneizar en el cultivo por medio de la agitación; (3) orificios para la colocación del electrodo de pH, que estaba conectado a un controlador de pH; (7), alimentación del reactor que se realizó desde dos recipientes que suministran un medio primario y un secundario por medio de una bomba peristáltica conectada a un temporizador electrónico, cabe destacar que el medio primario se suministró

con una manguera de diámetro del # 14 de silicon Masterflex y el medio secundario se suministro con una manguera de diámetro del número 11, además, (con un cinturón de plástico se redujo aún más el diámetro para disminuir el caudal del medio secundario); (4) línea de purga: por medio de un tubo, situado al nivel del volumen del cultivo, se realizaba la extracción de lodo, con ayuda de una bomba peristáltica que mandaba el líquido al sedimentador para mantener el volumen de trabajo constante. (6) sedimentador de 475 ml de volumen total, ayudaba a que el lodo regresará al reactor sin perdida de biomasa. Cabe destacar que la manera de operar del sedimentador fue por presión hidráulica, como se observa en la Figura 3.2. La línea de purga del reactor al sedimentador, por una bomba peristáltica ayudaba a que el lodo se mantuviera constante y la salida del líquido del sedimentador al efluente, fue sin bomba. Para provocar un vacío en el sedimentador, se utilizó un tapón de hule, el cual ayudaba a que el líquido saliera sin ayuda de alguna bomba. La concentración de biomasa debía de mantenerse constante entre 250 y 260 mg /l, ya que si aumentaba la concentración de biomasa el sedimentador no funcionaba, provocando que el líquido burbujeara y la biomasa en lugar de sedimentar, se dispersará en todo el sedimentador provocando pérdida de biomasa por el efluente, otro problema que se tenía cuando la biomasa aumentaba, es que tapaba la manguera donde se recirculaba al reactor. Por esto fue importante mantener una concentración de biomasa en el intervalo antes mencionado.

La agitación (2) se mantuvo constante a 300 rpm, para disminuir que la biomasa nitrificante se pegará a la pared de vidrio del reactor. La toma de muestra se hizo aumentando la agitación a 500 rpm dentro del reactor durante 5 min., después de este tiempo con una pipeta se tomaba la muestra para hacer las mediciones pertinentes Fig. 3.2.

227610

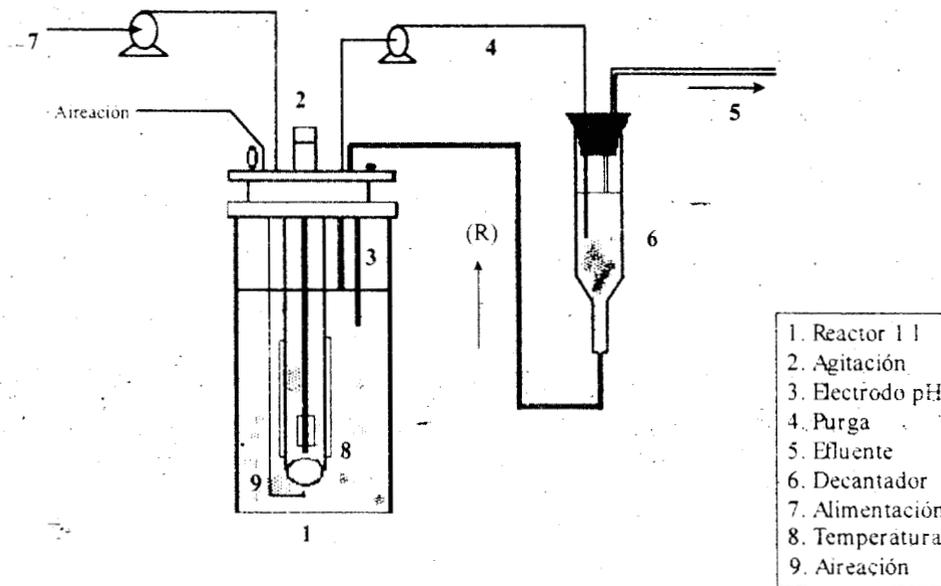


Fig. 3.2 Reactor de tanque agitado con un recirculador de biomasa en línea.

3.3.2 Medios de cultivo.

Se utilizaron dos medios de cultivo: un medio litotrófico (medio principal) y un medio autotrófico (medio secundario), Los cuales se describen en la Tabla 3.4 y 2.5 (Gómez 1994). El medio principal se utiliza a una dilución de 1:5 obteniendo una concentración final de 0.5 g/l de $N-NH_4^+$.

Tabla 3.4 Composición del medio principal.

COMPUESTO	CONCENTRACION (g/L)
$(NH)_2SO_4$	5.89
$KH_2 PO_4$	7.00
$MgSO_4 \cdot 7 H_2O$	3.00
NaCl	5.00
NH_4CL	4.78
$FeSO_{4.7 H_2O}$	0.15

Tabla. 3.5 Composición del medio secundario.

COMPUESTO	CONCENTRACION (g/L)
CaCl ₂ 2H ₂ O	0.4
NaHCO ₃	40.4

3.3.3 Inóculo.

El reactor se inoculó con un lodo nitrificante de un reactor tipo Hussman, (de 2l de operación, y el volumen del sedimentador de 1l). El reactor se encontraba en estado estacionario y a un tiempo de residencia hidráulica de 3 días, con eficiencias de nitrificación del 98 %. Este reactor estuvo operado con una recirculación de 11 l/d, agitación a 300 rpm y aireación de 20 l/min, (60% del nivel de saturación). El pH se ajustó a 7.6 con una solución de NaOH 10N a través del sedimentador. La temperatura se controló a 28°C.

3.3.4 Condiciones de cultivo.

El cultivo en el reactor Applikon, se llevó a cabo en las siguientes condiciones: temperatura de 28° C, con agitación de 300 rpm, pH de 7.5 ± 0.3 y con aireación a saturación (60% del nivel de saturación). El volumen del reactor se mantiene constante con ayuda del decantador, que recicla biomasa a una velocidad de 11 l/d

3.4 LITERATURA CITADA.

- APHA. (1989). Standard methods for the examination of water and wastewater, ed. American Public Health Association, Washinton, D.C.
- Eckenfelder, W. W. (1989). Industrial Water Pollution Control. Mc Graw- Hill, Inc. New York. 589.
- EPA (1985). Methods for chemical analysys of water and wastes. 249- 263.
- Forster, C. F. (1971). Activated sludge surfaces in relation to the sludge volume index. *Wat. Res.* 5, 861-870.
- Forster, C. F. (1985a). Factors involved in the settlement of activated sludge -I nutrients and surface polimers. *Wat. Res.* 19, 1259-1264
- Forster, C. F. (1985b). Biotechnology and wastewater treatment. Cambrigge University Press New York 348p
- Foust, A., Wenzel, L., E. Clump., (1980). Principles of unit operations. Second. Edition. John Wiley & Sons New York.
- Gómez, H.J. (1994). Obtención de microflora nitrificante: Nitrificación en diferentes medios de cultivo. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, España.
- Gómez, H.J., Lema, R.J., Méndez-Pampín, J.R. (1995). La nitrificación biológica con cultivos axénicos o lodos activados. *Ciencia.* 46, 507-523.
- Goodwin, J. A. S. y Forster, C. F. (1985). A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to their settlement characteris. *Wat. Res.* 19, 527-533
- Layne, E. (1957). Methodos in enzymology. De. Colowick S.P. &Kaplan N.O. 447p. Academic Press London.

Lowry, O.H., Rosen Brough, N. J., Farr, A. L. y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-297.

Novák, L., Larrea L., Wanner, J. y Garcia-Heras, J. I. (1993). Non-filamentous activated sludge bulking in laboratory scale system. *Wat. Res.* 27, 1339-1346.

Paul, J. (1965). Cell and Tissue. Culture 3ª Edc. Livingstone, Edinburgh.

Quintero, R. R. (1983). Ingeniería bioquímica. edit. Alhambra Mexicana 326p

Shall, H., M. Labbon y B. Scheiner (1989) Flocculation and Dewatering. Edited by Brij M Moud g.l. and Bernard J. Scheinerengineering Foundation Florida University

Sorensen, H. B. Y Jorgensen, S. E. (1993). The removal of nitrogen compounds from waste water. Edt. Elseiver 443p.

Urbain, V., Block, J. C. y Manem. (1993). Bioflocculation in activated sludge by sodium hydroxide solution. *Wat. Res.* 27, 829-838.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

CAPITULO 4

EFECTO DE LA VELOCIDAD DE CARGA NITROGENADA

MADUREZ es perseverancia. Es la habilidad para cumplir las metas y sacar adelante un proyecto o una situación a pesar de las dificultades.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100

4.0 PROLOGÓMENO.

Aunque existen diversas alternativas para la eliminación de compuestos nitrogenados, la más utilizada es la eliminación biológica mediante un proceso acoplado de nitrificación desnitrificación. Simultáneamente se han diseñado unidades capaces de eliminar compuestos de nitrógeno mediante procesos biológicos. Para implementar a gran escala y de modo eficaz un proceso biológico se utilizan básicamente dos tipos de sistemas con biomasa no adherida, que mantiene en el reactor una concentración elevada de biomasa, bien por recirculación desde un decantador externo o bien desarrollando un flóculo denso y estable que se mantenga dentro del reactor y sistemas con biomasa adherida que retienen la biomasa sobre un soporte que puede ser fijo o móvil. Debido a la función importante que juega el tipo de reactor en la nitrificación es necesario continuar perfeccionando equipos para el tratamiento de aguas residuales que sean de bajo costo y eficientes. Se han hecho avances importantes que han permitido mejorar la fisiología de la nitrificación, sin embargo, ni la velocidad ni el rendimiento actuales de la microflora nitrificante permitirían la recuperación de las aguas residuales.

Un procedimiento, con el cual se han podido superar algunas de esas limitaciones, es mediante el uso de reactores de tanque agitado, ya que en éstos la pérdida de microflora suele ser baja debido a las características floculantes de los microorganismos nitrificantes. La capacidad de la microflora nitrificante de asociarse en flóculos permite que el lodo sedimente, siempre que esté acoplado un sedimentador con el reactor, Sin embargo, los índices de sedimentación de las bacterias nitrificantes aún no son altos. Esto implica condiciones de operación con tiempos de residencia hidráulica prolongados entre 4 y 7 días (Campos y Garrido 1996), para evitar que el efluente arrastre a los microorganismos. Este fenómeno es conocido como lavado del reactor.

Actualmente se siguen haciendo estudios para identificar las condiciones bajo las cuales los flóculos puedan ser más estables y sedimenten a gran velocidad.

Una alternativa a estudiar, para operar un reactor de tanque agitado con caudales grandes del influente y por ende bajos tiempos de residencia hidráulica, sin

ocasionar el lavado del reactor, es aumentar la sedimentabilidad del floculo manteniendo su estabilidad. No obstante, este problema no es insignificante, ya que intervienen en la floculación del lodo factores bioquímicos, fisicoquímicos y fisiológicos del cultivo, así como parámetros hidrodinámicos del reactor.

A nivel bioquímico, todo parece indicar que la estructura y compactación del floculo esta determinada principalmente por los componentes exopoliméricos extracelulares (lípidos, proteínas y carbohidratos) de los agregados, la influencia de las SEP, sobre la sedimentación del lodo se ha estudiado ampliamente, pero dada la diversidad de métodos para su extracción, es difícil comparar los resultados de los diferentes estudios (Urbain *et al.* 1993, Woodwin y Forster 1985). Aún no se determina con precisión cual de los componentes exopoliméricos son los responsables de la estabilidad y sedimentación del floculo (Nóvak *et al.* 1993). Cabe señalar que cuando se pierde la sedimentación y compactación del floculo se puede presentar el fenómeno de esponjamiento, ocasionando pérdida de biomasa por lavado del reactor. Asimismo, la influencia que tienen las condiciones de agitación del reactor en la compactación del floculo, se distinguen dos factores fundamentales. El primero podría ser el rompimiento del floculo producido por la transferencia del movimiento en la agitación, que desfavorece la estructura flocular (Tambo, 1991). El segundo factor relacionado con la agitación es la frecuencia de choque entre las partículas, la cual influirá en la estructura y volumen del agregado (Patrick y Sotiris 1996). Pese a las visibles desventajas que presentan los reactores de tanque agitado, también presentan características atractivas para su uso. La actividad específica de las bacterias nitrificantes es alta en comparación con los reactores que emplean biopelículas; también presentan buenas características de transferencia de masa y pueden tratar caudales con concentraciones altas de nitrógeno amoniacal.

El propósito del siguiente capítulo es explicar los resultados experimentales de la operación de los reactores de tanque agitado con lodos activados nitrificantes y evaluar el sistema nitrificante en régimen estacionario bajo diferentes velocidades de cargas nitrogenadas sobre las condiciones de sedimentación del lodo nitrificante.

4.1 OBJETIVOS PARTICULARES.

4.1.1 Estabilizar y evaluar la conducta nitrificante de dos lodos activados nitrificantes, aireados, agitados con recirculación de biomasa, a pH y temperatura constantes.

4.1.2 Evaluar el efecto de diferentes velocidades de cargas (0.07, 0.15, 0.22 y 0.44 g/l-d) de nitrógeno amoniacal en la estabilidad de sedimentación de un lodo activado nitrificante.

4.1.3 Bajo las diferentes velocidades de carga aplicadas al lodo, analizar los cambios del índice volumétrico del lodo (IVL) y la velocidad de sedimentación como parámetros de estabilidad del flóculo y del lodo activado nitrificante.

4.1.4 Analizar el efecto de las cargas nitrogenadas en la eficiencia de nitrificación del lodo activado.

4.2 INSTALACIÓN DE REACTORES DE TANQUE AGITADO.

Se utilizaron dos reactores tipo Applikon, de 1.3l de volumen nominal y un volumen de trabajo de 1l. La alimentación del reactor se realizó desde dos recipientes, que suministraron un medio primario y un secundario, que corresponde a la fuente nitrogenada y a la fuente de carbono. Como accesorio complementario se instaló un sedimentador de (4.75 ml de volumen total), donde se realizó la recirculación del lodo al reactor y la salida del efluente sin pérdida de biomasa. La agitación, aireación y temperatura se mantuvieron constantes. El reactor y la descripción detallada de su manejo se presentó en el Capítulo III.

4.3 CONDICIONES DE OPERACIÓN DE REACTORES DE TANQUE AGITADO

La mayoría de los estudios reportan en flujo continuo y con reactores de tanque agitado, concentraciones de 50 mg N/l de amonio en el influente y con tiempos de

residencias en los lodos tan largos de 30 días. Los lodos empiezan a aclimatarse a concentraciones de 1-20 mg N /l, concentraciones que usualmente se encuentran en las aguas urbanas de desecho (Shieh y La Motta 1979). Azimi y Horan (1991), por ejemplo, trabajaron a concentraciones de 12 y 32 mg /l de N-amoniaco.

Sin embargo, una de las tendencias actuales es trabajar con sistemas de biomasa adherida para eliminar problemas convencionales, como la baja concentración de biomasa y bajas velocidades de sedimentación, por esta razón se utilizan sistemas con biomasa adherida capaces de tratar cargas elevadas de nitrógeno amoniaco como los reactores de tipo air lift que trabajan con 5 kg N-NH₄⁺/ m³ d y de lecho fluidizado de 7 kg. N-NH₄⁺/ m³ d (Campos et al. 1996). No obstante, los costos de instalación y operación son elevados.

Recientemente se han desarrollado técnicas *in situ* para permitir la estimación directa de los parámetros cinéticos de la nitrificación, tanto en cultivos puros como en cultivos mixtos. Esto permite que la actividad nitrificante se determine en presencia de microorganismos heterótrofos y bajo una amplia variedad de condiciones de operación, lo que ha servido como base para evaluar en este lodo activado nitrificante, concentraciones altas de 500 mg N-NH₄⁺/l, en el influente.

Las condiciones fisiológicas empleadas para evaluar concentraciones altas se describen a continuación: el pH se mantuvo constante, con adición de hidróxido de sodio, para evitar que la nitrificación se inhibiera. Por tal motivo fue necesario, tener un control regular en los valores de pH, en particular entre 7.5 y 7.8. El valor de temperatura reportado para la nitrificación se encuentra entre 28 y 35 °C (Hall y Murphy 1985), en consecuencia la temperatura se mantuvo constante a 28 °C. La agitación se fijó en 300 rpm. La recirculación de la biomasa del sedimentador al reactor, se mantuvo en 11 l/d. Asimismo, en cada cambio de carga, se dejaban como mínimo 5 tiempos de residencia hidráulica, en régimen estacionario.

4.4 ESTABILIZACIÓN DE DOS REACTORES NITRIFICANTES

Es importante describir la conducta inicial del reactor, después de haber sido inoculado con la microflora que provenía de un reactor agitado tipo Hussman. El reactor 1 (R1), trabajaba en cultivo continuo con un influente de 110 ml/d a una concentración de 500 mg/l de $N-NH_4^+$, estas condiciones se mantuvieron por un periodo de tres meses, el cual fue muy irregular debido a problemas, en el funcionamiento de las bombas peristálticas y al decantador, que provocaban que las concentraciones de nitrato, la proteína y el amonio de salida fueran muy variables sin lograr estabilizarse. Cuando se encontraron las condiciones apropiadas para el manejo en el decantador, se lograron obtener eficiencias de nitrificación de un 73 % a una velocidad de carga de 0.05 g/l-d de $N-NH_4^+$. Posteriormente se evaluó la velocidad de carga de 0.07 g/l-d en la cual se obtuvo una eficiencia nitrificante del 95% como se aprecia en la Tabla 4.1.

A la par, se instaló un segundo reactor que se inoculó con 150 ml de lodos activados nitrificantes que provenían de un reactor tipo Husman. Se llevó a volumen de un litro con la fuente nitrogenada y la fuente carbonada, se dejó en cultivo lote bajo esas condiciones nutricionales durante 8 días. Al final del periodo, se operó en cultivo continuo con un influente de 110 ml /d a una concentración de 200mg /l de $N-NH_4^+$, durante 15 días, periodo en el cual se obtuvo eficiencias altas. Después se evaluó a una concentración de 500 mg /l de $N-NH_4^+$ hasta obtener eficiencias del 86 % y poder pasar a la siguiente velocidad de carga de 0.07 g/l-d que alcanzó eficiencias nitrificantes del 96 % Tabla 4.1.

Tabla 4.1 Eficacia de nitrificación y de proteína de los reactores.

Q (g/l-d) de $N-NH_4^+$	R1		R2	
	Producción de proteína %	Eficiencia nitrificante %	Producción de proteína %	Eficiencia nitrificante %
0.05	7.2	72.57	5.13	86.13
0.07	4.72	95.4	4.47	96.46

4.5 COMPORTAMIENTO DE LOS LODOS ACTIVADOS NITRIFICANTES A DIFERENTES TIEMPOS DE RESIDENCIA HIDRÁULICA.

La Figura 4.1 muestra el perfil del TRH contra velocidades de carga de nitrato y proteína. Cada valor corresponde como mínimo a 5 veces el tiempo de residencia hidráulica, se aprecia que a mayor tiempo de residencia hidráulica, la velocidad de carga de salida del NO₃ es baja y es evidente que a partir de un TRH de 3 días el aumento en la velocidad de carga de NO₃ fue considerable. Se observa que la velocidad de carga de proteína, fue constante (mediante purgas), lo que indicó que a TRH cortos la actividad específica nitrificante es mayor.

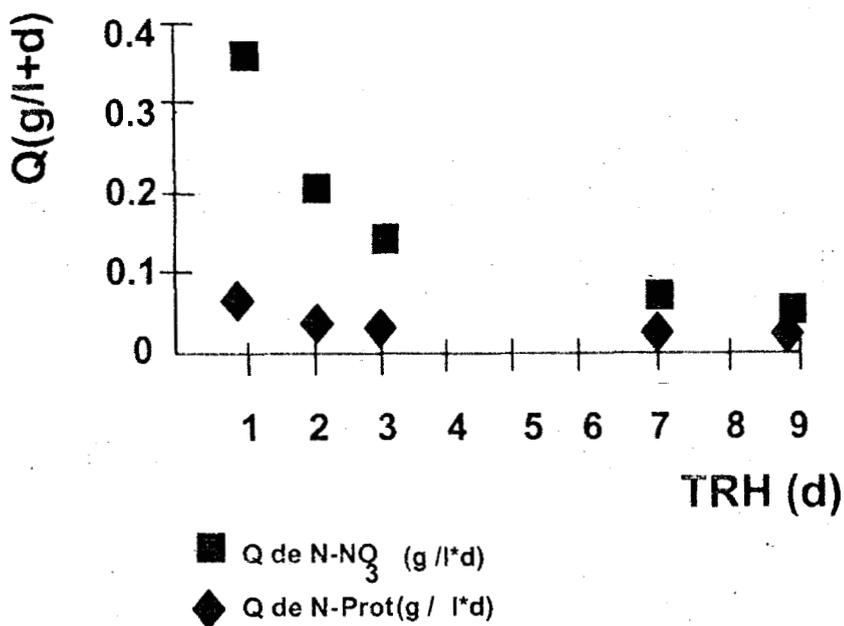


Fig. 4.1 Efecto del TRH sobre la velocidad de carga de nitrato y proteína R1.

En la Figura 4.2 se aprecia el efecto de las cargas nitrogenadas aplicadas en el lodo activado, sobre la eficiencia nitrificante $[(QN-NO_3 / QN-NH_4) * 100]$ y se observa que la eficiencia fue casi constante, a pesar de los cambios de la velocidad de carga. La eficiencia se mantuvo por encima del 80%.

227610

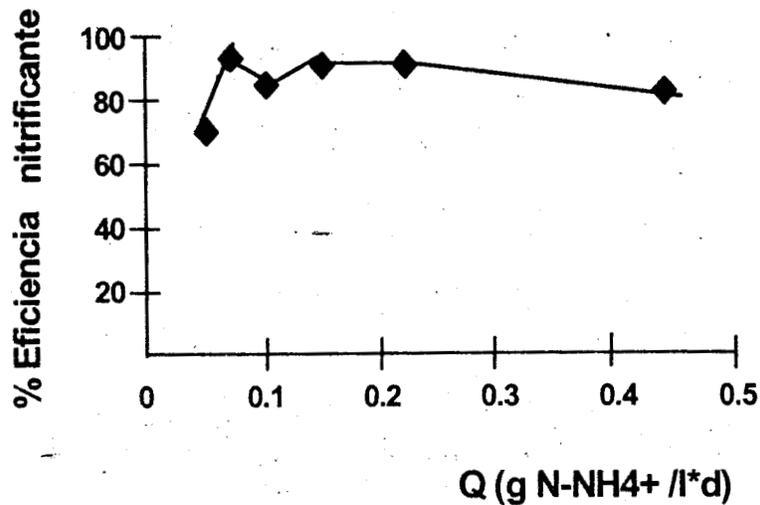


Fig. 4.2 Efecto de la velocidad de carga nitrogenada en la eficiencia nitrificante, R1.

La Figura 4.3, correspondiente al R2, muestra un perfil parecido al del reactor 1 en las velocidades de carga del nitrato y proteína. Es notorio que la formación de biomasa empieza a ser mayor a TRH cortos, sin embargo, el nitrato sigue siendo el producto predominante. Se confirma que a TRH cortos la actividad específica nitrificante es mayor.

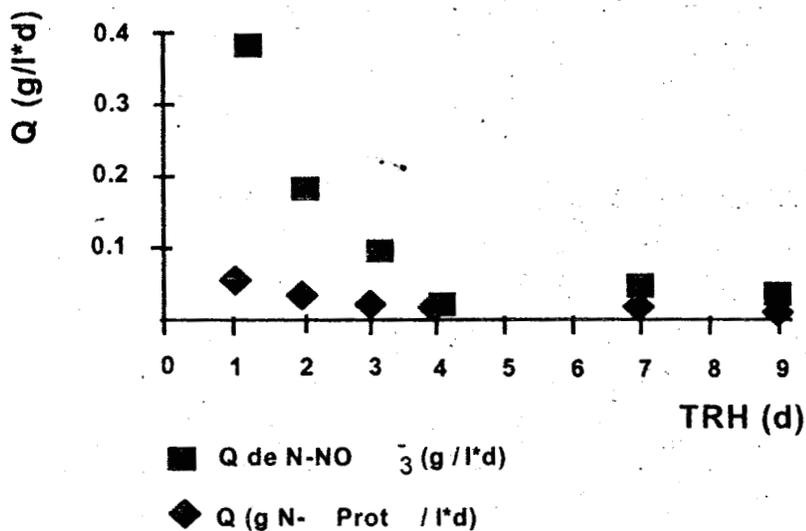


Fig. 4.3 Efecto del TRH, sobre la velocidad de carga de nitrato y proteína R2.

En la Figura 4.4 se observa el perfil de la eficiencia nitrificante del R2 contra las velocidades de carga. Se comprueba que el reactor se encuentra en régimen estacionario, en cada carga nitrogenada.

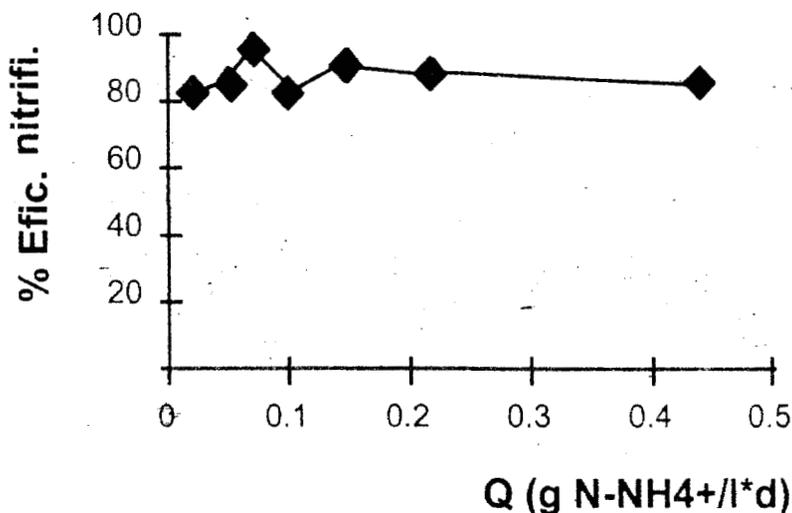


Fig. 4.4 Efecto de la velocidad de carga nitrogenada en la eficiencia nitrificante R2.

Los resultados muestran que los dos reactores R1 y R2, se pueden manejar a concentraciones altas de nitrógeno amoniacal 500 mg/l. Se observó que a altas velocidades de carga de amoniaco, la velocidad de carga de nitrato disminuyó ligeramente, no obstante, la velocidad de carga amoniacal de salida fue baja. Se podría pensar que el nitrógeno amoniacal de entrada se destina a una mayor generación de biomasa.

Anthonisen *et al.* (1976) y Gómez *et al.* (1995), mencionan que la fracción de la población nitrificante más sensible a la inhibición por NH_4^+ es la nitrito oxidante. Se sabe bien que el amoniaco es inhibidor para la población amonio oxidante a concentraciones que oscilan entre 10 y 150 mg/l y para la fracción nitrito oxidante, de 0.1 a 1 mg/l concentraciones bajas. En la estabilización de los dos reactores puestos en marcha, la concentración de amoniaco y nitrito fue cero (o no detectado). Esto podría explicar porque la nitrificación del amoniaco a nitrito y nitrato fue muy eficiente en el régimen estacionario a las diferentes cargas de nitrógeno amoniacal probadas.

A partir de la información obtenida se puede decir que ambos reactores fueron estabilizados en régimen estacionario de nitrificación con una eficacia mayor que el 80%.

4.6 EFECTO DE LAS VELOCIDADES DE CARGA SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE SÓLIDOS SUSPENDIDOS.

REACTOR 1

La Figura 4.5 muestra el efecto de la velocidad de carga de 0.07 g/l-d de N-NH_4^+ en la concentración de sólidos suspendidos con respecto al tiempo, en régimen estacionario. Se aprecia que los sólidos suspendidos disminuyen a lo largo del tiempo evaluado en esta velocidad de carga. Es importante observar que la principal disminución se dio en los SST y se observa claramente que es por influencia de los SSF, ya que los SSV se mantienen casi constantes. Es importante destacar que en esta velocidad de carga los sólidos suspendidos se encontraron a una concentración menor a 1 g/l.

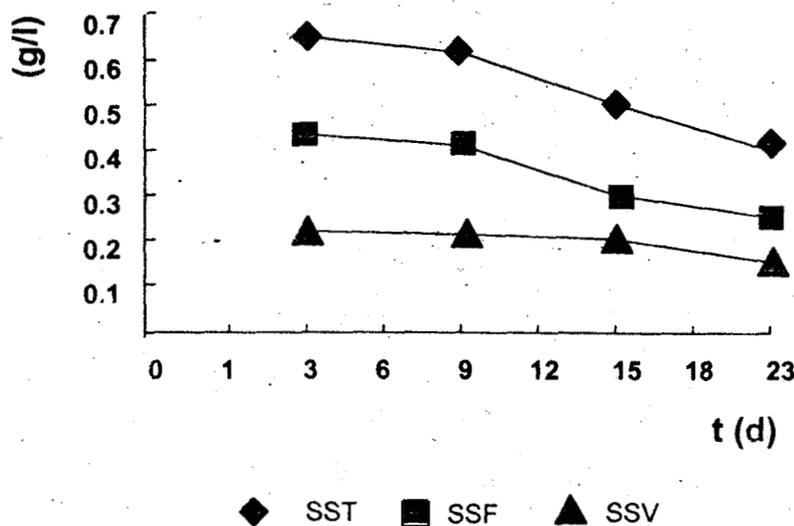


Fig.4.5 comportamiento de los sólidos suspendidos, del lodo nitrificante en la velocidad de carga de 0.07 g/l-d aun TRH de 7 días.

La Figura 4.6 muestra el cambio en el comportamiento en la concentración de sólidos suspendidos a una velocidad de carga de 0.15 g/l-d de nitrógeno amoniacal. Puede verse, que los sólidos aumentaron a lo largo del tiempo en esta

misma carga, aunque se ve que los SSV también aumentaron, la mayor influencia en la concentración de los SST se da por los SSF. Se observa, que la concentración de los sólidos no fue constante. Sin embargo, el reactor muestra estar en régimen estacionario de nitrificación. La concentración de los sólidos fue de 0.2 g/l a 1.2 g/l lo que indica una dispersión alta.

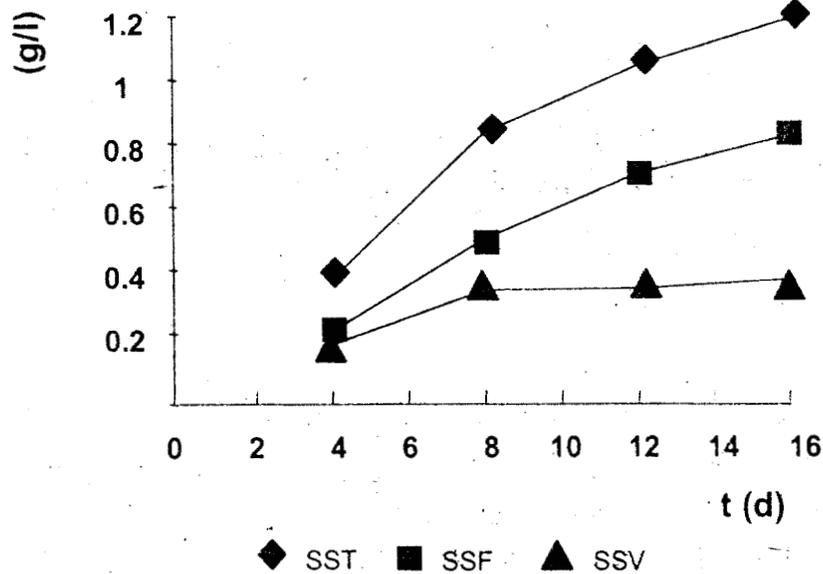


Fig. 4.6 Comportamiento de los SS, a una velocidad de carga nitrogenada de 0.15 g/l-d a un TRH de 3 días.

La Fig. 4.7 muestra el efecto de la velocidad de carga 0.22 g/l-d de nitrógeno amoniacal, sobre la concentración de los sólidos volátiles. Se observa que la concentración en los sólidos suspendidos en esta velocidad de carga fue de 0.4 a 1.3 g/l y la tendencia también muestra que estos disminuyen a lo largo del tiempo en esta velocidad de carga.

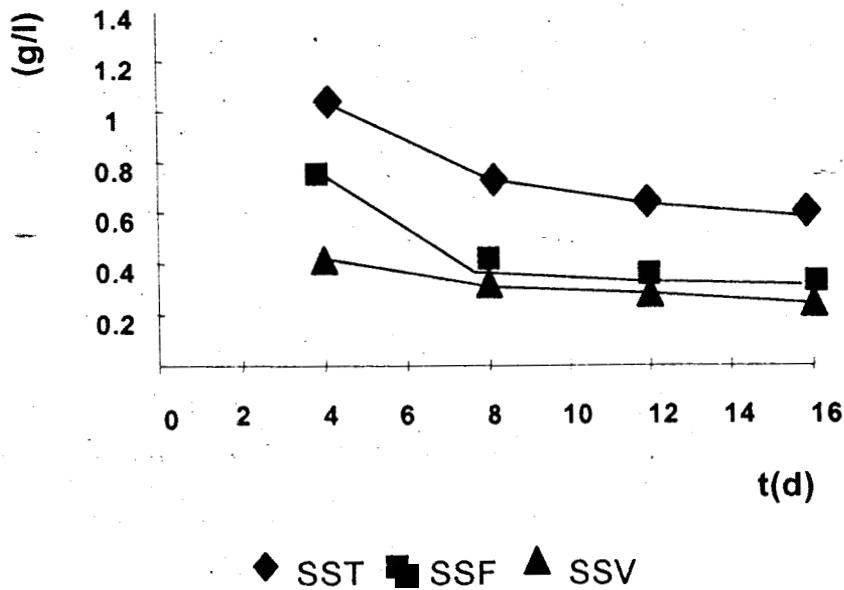


Fig. 4.7 Comportamiento de los SS a una velocidad de carga nitrogenada de 0.22 g/l-d a un TRH de 2 días.

La Figura 4.8 se aprecia el comportamiento en la concentración de sólidos suspendidos y se observa que la tendencia a disminuir o aumentar en cada velocidad de carga, aquí es menos evidente, lo que indica que a velocidades de carga altas la concentración en los sólidos suspendidos es más constante.

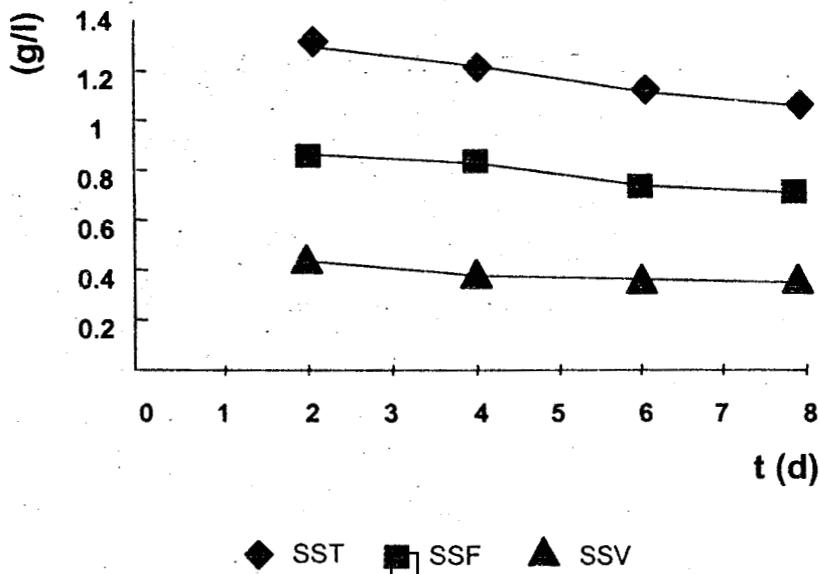


Fig. 4.8 Comportamiento de los SS a una velocidad de carga de 0.44 g/l-d a un TRH de 1 día.

REACTOR 2

La Figura 4.9 muestra el efecto de la velocidad de carga nitrogenada de 0.07 g/l-d sobre el R2 a través del tiempo. Es importante destacar el mismo comportamiento al R1 donde los sólidos suspendidos disminuyen a través del tiempo, además se aprecia una concentración de sólidos un poco mayor de 0.3 a 1 g/l. Otro aspecto importante es que la dispersión en los valores también es alta, parecida al R1.

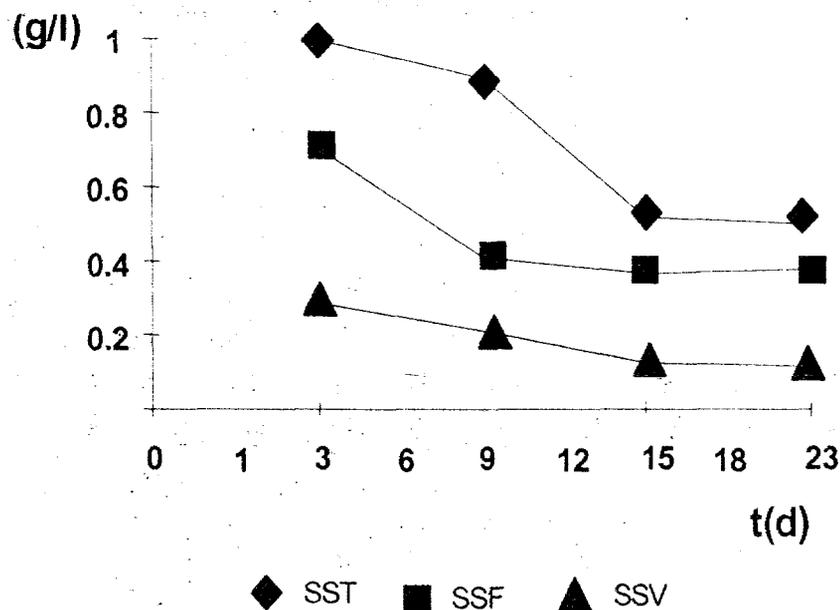


Fig. 4.9 Comportamiento de la concentración de sólidos del lodo nitrificante en la velocidad de carga de 0.07 g/l-d a un TRH de 7 días.

La Figura 4.10 muestra los perfiles de la concentración de sólidos suspendidos del R2 a través del tiempo a una velocidad carga nitrogenada de 0.15 g/l-d, se muestra la misma tendencia al R1 donde los sólidos aumentan a través del tiempo. Se aprecia que los SSV casi se mantienen constantes mientras los SSF son los que aumentan y los que influyen a los SST.

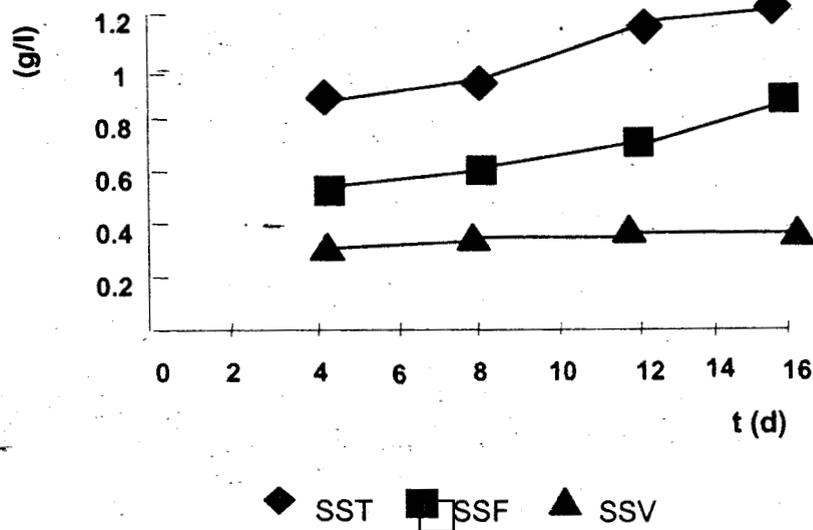


Fig 4.10 Comportamiento de los sólidos suspendidos a una velocidad de carga nitrogenada de 0.15g/l-d a un TRH de 3 días.

La Figura 4.11 se observa una ligera tendencia de la concentración de los sólidos suspendidos a disminuir a través del tiempo a una velocidad de carga nitrogenada de 0.22 g/l-d. Es importante destacar que la concentración en los sólidos fue de 0.5 a 1.6 g/l-d, la cual fue mayor a la velocidad de carga anterior.

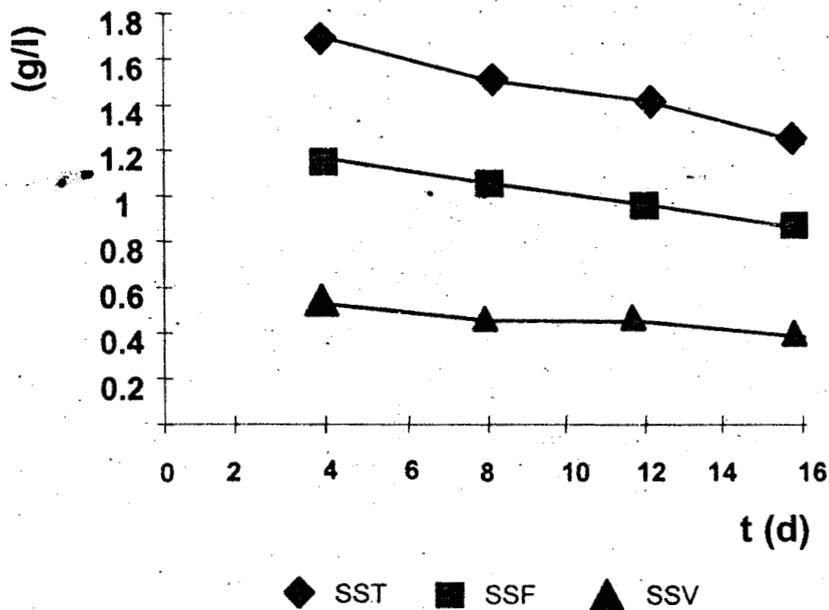


Fig. 4.11 Comportamiento de los sólidos suspendidos a una velocidad de carga nitrogenada de 0.22g/l-d a un TRH de 2 días.

Finalmente la Figura 4.12 muestra el comportamiento de los sólidos suspendidos a una velocidad de carga nitrogenada de 0.44 g/l-d y se confirma la tendencia de los sólidos suspendidos a disminuir a través del tiempo. Se aprecia que la concentración en los SSV es casi constante y la que influye realmente es la concentración de los SSF en la concentración de los SST.

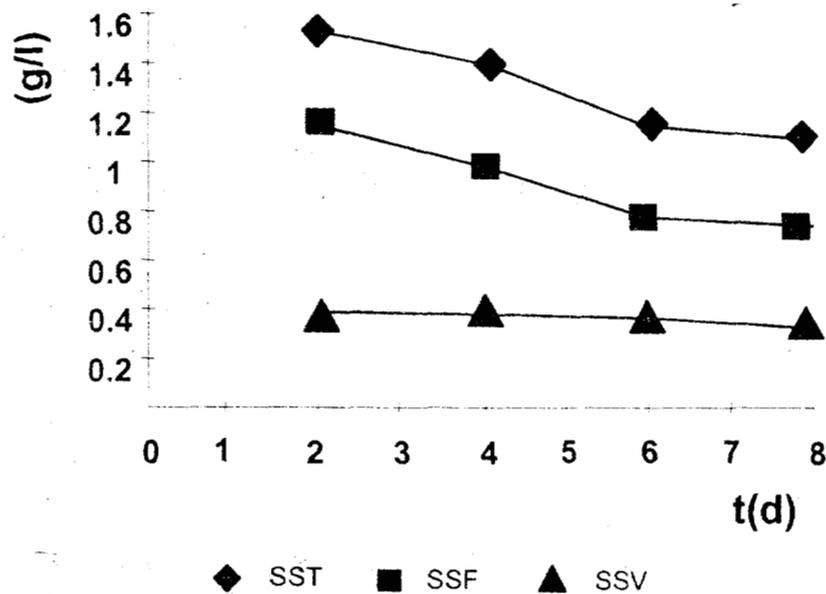


Fig. 4.12 Comportamiento de los sólidos suspendidos a una velocidad de carga nitrogenada de 0.44 g/l-d aun TRH de 1 día.

Resumiendo, se aprecia que en cada cambio de carga la concentración de sólidos suspendidos no es constante, a pesar de estar en régimen estacionario nitrificante. A que se debe este cambio, bueno como se menciono anteriormente, la estabilidad del lodo se atribuye principalmente al tipo de sustancias exopoliméricas entre las que destacan proteínas y carbohidratos. Podría ser que las velocidades de carga hubieran influido en el tipo de las SEP de este lodo y por esta razón la concentración de sólidos suspendidos haya tenido este comportamiento, (Martínez et al. 1996), mencionan que cuando el lodo activado se desestabiliza las proteínas del floculo aumentan.

4.7 PERFILES DEL COMPORTAMIENTO DEL IVL EN DIFERENTES VELOCIDADES DE CARGA NITROGENADA.

La Figura 4.13 muestra los perfiles obtenidos en dos diferentes lodos nitrificantes a una velocidad de carga de nitrógeno amoniacal de 0.07 g/l-d. En el lodo nitrificante del R1, (Figura 4.13a) se aprecia el comportamiento del IVL en función de la concentración de sólidos suspendidos totales (SST), fijos (SSF) y volátiles (SSV), en régimen estacionario. Se observa que conforme aumenta la concentración de sólidos suspendidos, el IVL disminuye. El promedio del IVL fue de 14.2 ± 4.62 ml /g, si comparamos el lodo nitrificante del R2 Figura 4.13b igualmente se observa la misma tendencia, pese a que el IVL tiene un valor promedio, de 17.1 ± 2 ml /g, siendo mayor que en el R1. Se tiene diferente patrón, incluso el R2 tiene menor dispersión. En ambos lodos se observa que los valores no son constantes.

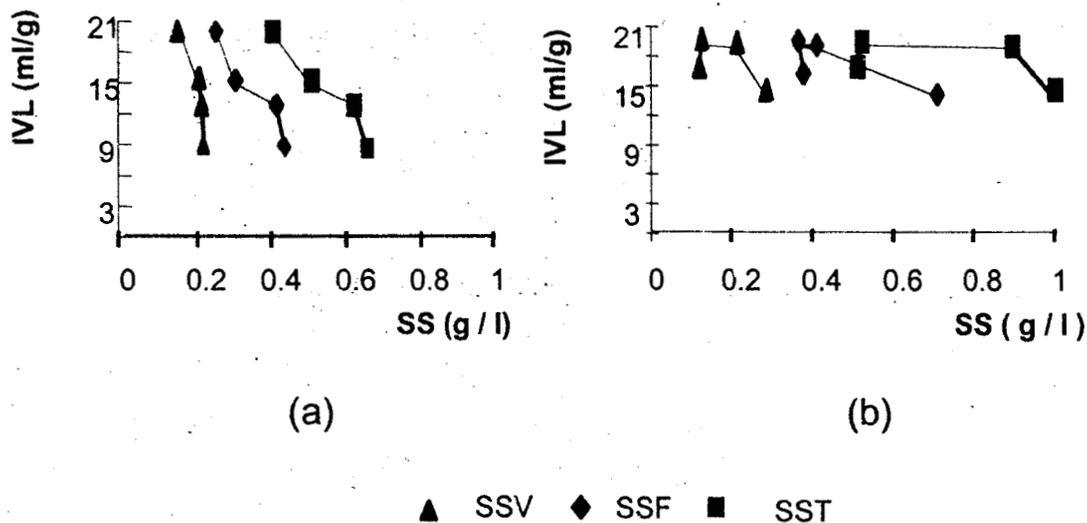


Fig. 4.13 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre el IVL en una velocidad de carga de 0.07 g/l+d (a) R1, (b)R2, TRH de 7 días.

No se sabe por que la tendencia del IVL a disminuir, puesto que ambos reactores se encuentran en régimen estacionario, Tal como se indicó en la sección 4.4.

La Figura 4.14 muestra el comportamiento del IVL en función de la concentración de sólidos suspendidos, con una velocidad de carga nitrogenada de 0.15 g/l-d. La Figura 4.14a correspondiente al perfil del R1, la que muestra un aumento en la concentración de sólidos de casi el doble al que se tenía en la velocidad de carga anterior. El IVL mostró el mismo perfil que en la primer carga de 0.07 g/l-d, con descenso en la concentración de sólidos. En esta velocidad carga el IVL, para el R1, en promedio es de 16.24 ± 4.55 ml/g. En el R2 se observó la misma tendencia, de disminuir, con el aumento en la concentración de sólidos suspendidos y el valor del IVL es de 14.71 ± 2 ml/g. En este caso el IVL del R1 es mayor que en el R2, por lo tanto el IVL del R2 es mejor con una dispersión menor.

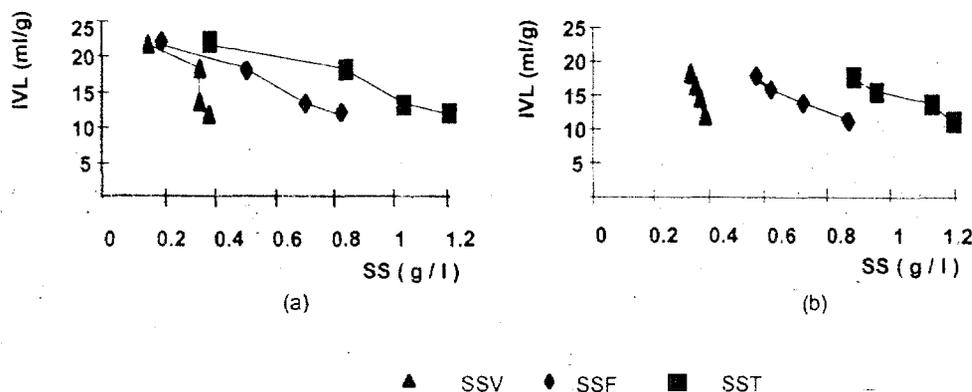


Fig. 4.14 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre el IVL a una velocidad de carga de 0.15 g/l-d (a) R1, (b) R2 a un TRH de 3 días.

A una velocidad de carga de nitrógeno amoniacal de 0.22 g/l-d, la Figura 4.15a muestra el perfil que corresponde al lodo del R1 y es sobresaliente que la concentración de sólidos suspendidos y el IVL tienen la misma tendencia, que en la velocidad de carga anterior, disminuir con el aumento en la concentración de sólidos. Sin embargo, el IVL en lugar de aumentar por la disminución de sólidos, mejoró a 14.84 ± 3.83 ml/g. Asimismo, en el lodo dos se aprecia que el IVL mejoró notablemente con un valor de 9.93 ± 2 ml/g. Se repite el mismo patrón del R1 con un mayor IVL que el R2. La concentración de sólidos aumentó más en el R2 que la velocidad de carga anterior y la dispersión fue menor.

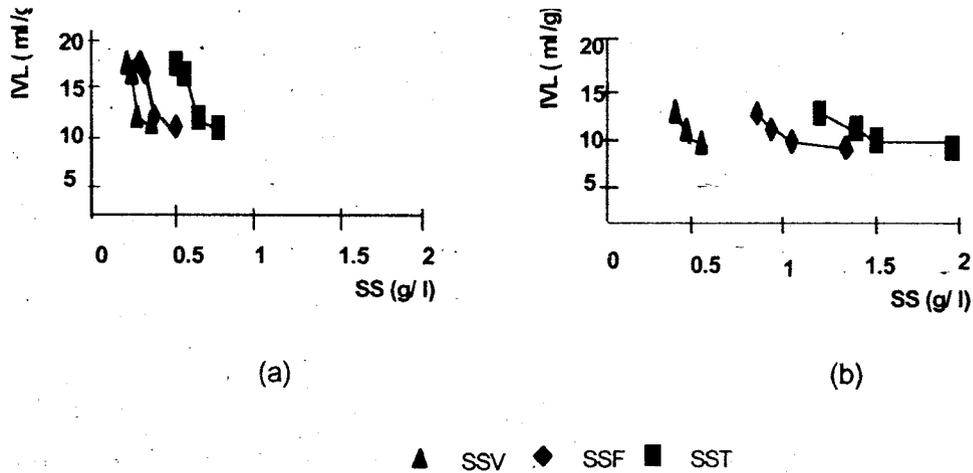


Fig. 4.15 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre el IVL a una velocidad de carga de nitrógeno amoniacal de 0.22 g/l-d (a) R1 (b) R2 a un TRH de 2 días.

En las velocidades de cargas nitrogenadas descritas, el IVL disminuye ligeramente mejorando la sedimentación del lodo. Esto se confirma con la última velocidad de carga que se aplicó de 0.44g /l*d de nitrógeno amoniacal. Se aprecia en el perfil de la Figura 4.16a que el IVL disminuye conforme aumenta la concentración de sólidos suspendidos, sólo que en esta carga hay una menor dispersión en los valores. En el R1 el IVL es de 11.8 ± 1.38 ml/g; en el R2 el IVL es de 10.35 ± 1.0 .

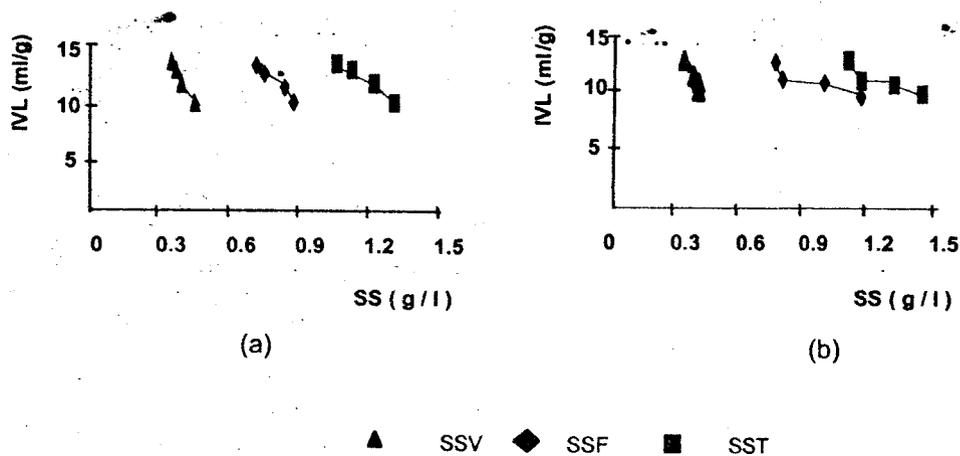


Fig. 4.16 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre el IVL en una velocidad de carga de nitrógeno amoniacal de 0.44g/l-d (a) R1 (b) R2 a un TRH de 1 día.

Se observa que al aumentar la concentración de sólidos suspendidos el IVL mejora, este comportamiento es semejante a lo que encontró Mamouni *et al.* (1995), en lodos anaerobios, a mayor concentración de sólidos suspendidos se obtiene un IVL menor lo que indica mejor sedimentación del lodo. Se esperaba que el patrón en el comportamiento del IVL en los dos reactores fueran iguales, ya que son dos lodos que se manejan bajo las mismas condiciones. Esta diferencia en los dos lodos, se podría explicar ya que el R2 fue inoculado con un lodo madre que tuvo diferente manipulación sufriendo posiblemente alteraciones en su microbiología y en consecuencia en su conducta nitrificante.

El contenido de SSV es diferente en cada lodo, aún en régimen estacionario y en cada carga nitrogenada. Cabe destacar que el porcentaje de sólidos suspendidos volátiles en los dos lodos y en cada carga evaluada, es aproximadamente del 40% y los fijos del 60%. Se apreció que cuando el contenido de SSV aumentó el IVL fue mayor, provocando disminución en la sedimentación del lodo. Esto coincide con lo que encontraron Echeverría *et al.* (1992), que al aumentar el contenido de materia orgánica, el IVL aumenta, disminuyendo la capacidad del lodo para sedimentar. En el lodo aquí evaluado se encontró que a medida que hay una mayor carga nitrogenada el contenido de sólidos suspendidos volátiles disminuyó mejorando el IVL, es decir un comportamiento contrario.

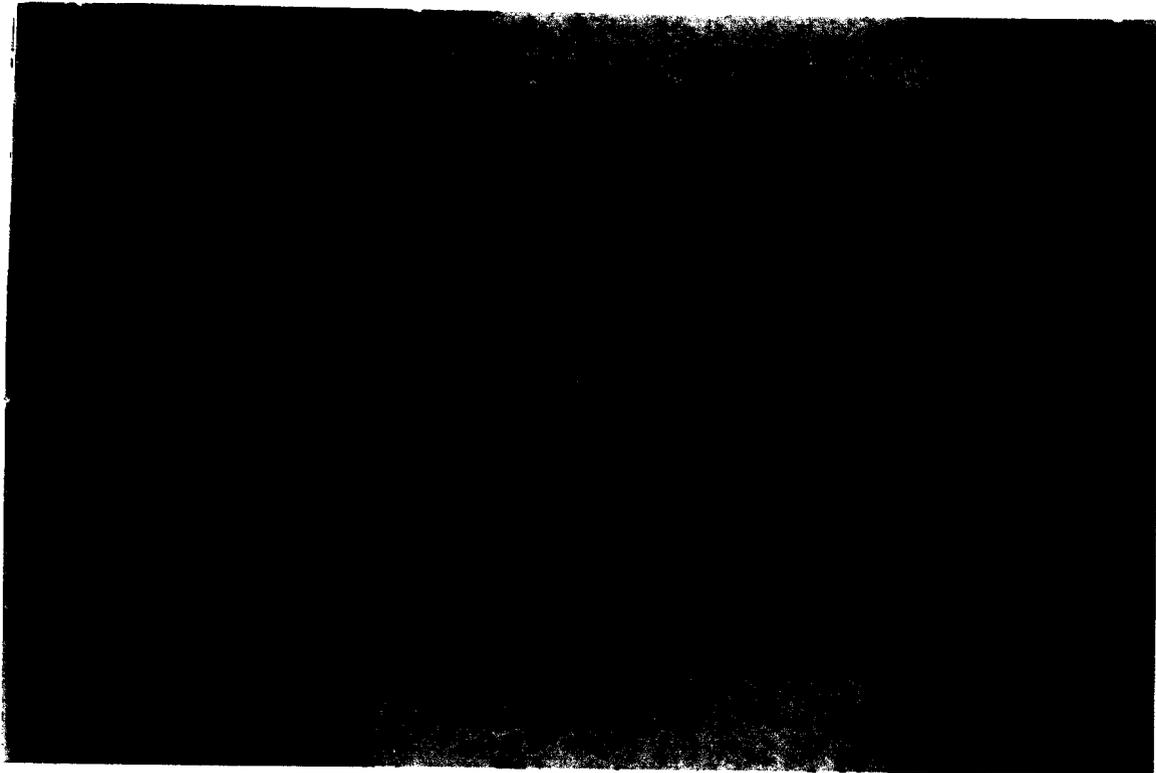
Otro aspecto importante que se observó, es la tendencia de los sólidos suspendidos totales que está influenciada por la concentración de sólidos suspendidos fijos y se podría inferir que la concentración de sólidos fijos influyen en el mejoramiento del IVL. Como mencionan Sato *et al.* (1980), en donde el contenido de cenizas en el lodo activado que ellos trabajaron, es considerable y que algunos metales como el Na, Fe, Ca y K se encuentran en mayor cantidad asumiendo que la adsorción de estos iones metálicos promueve la floculación. Podría ser también que los iones polivalentes aumentaron el grado de enlazamiento de los ECP y hacen más compactos a los flóculos. Cabe señalar que al aumentar la carga de $N-NH_4^+$ se cuidó que los demás constituyentes fueran también aumentados, para reducir problemas de tipo nutricional. Krzysztof y

Koscielniak (1995), mencionan que la influencia de la carga de sustrato es uno de los principales factores que afectan el tamaño y distribución de los floculos en lodos activados y por lo tanto afectan la sedimentación. Asimismo, se indica que la sedimentación es función de los parámetros geométricos de estas partículas, así como de su densidad y porosidad (Namer y Ganczarzyk, 1993). Magara *et al.* (1976), encontraron que el IVL se incrementó con incorporación de carga orgánica, pero en nuestro caso, el IVL mejoró incrementándose la carga nitrogenada.

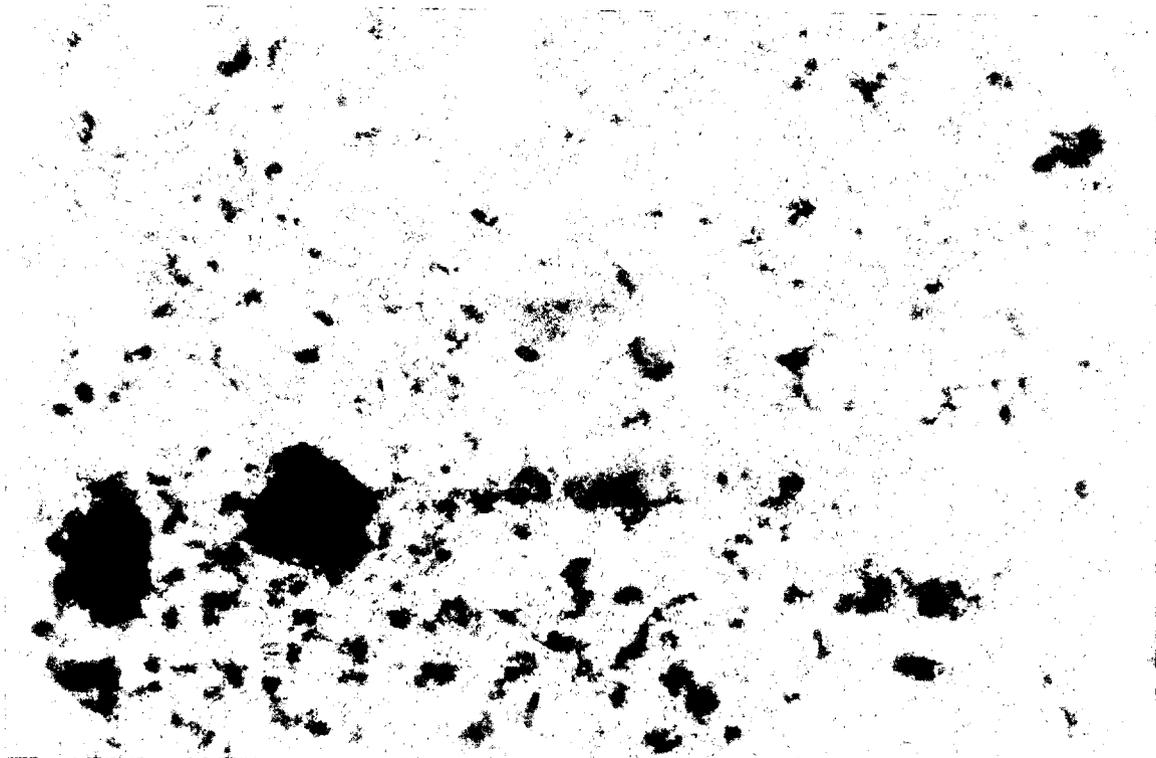
La concentración de biomasa se mantuvo constante por purgas, que se realizaban periódicamente al reactor, por lo que los sólidos suspendidos volátiles, no estuvieron influenciados al aumentar la carga de sustrato, caso contrario de los sólidos suspendidos fijos que podrían ser los que influyeron por acumulación. Con respecto al aumento en la concentración de sólidos suspendidos y con el aumento de carga, Mamouni *et al.* (1995), encontraron que con el aumento en la concentración de sólidos aumenta la velocidad de sedimentación.

Goodwin *et al.* (1985), Foster (1985) y Toerien *et al.* (1990) atribuyen la buena floculación a los exopolisacáridos uno de los componentes importantes extracelulares de los floculos y se menciona que la velocidad de producción de estos exopolisacáridos incrementa cuando se aumenta la velocidad de dilución (Sutherland, 1982), lo que podría indicar que las velocidades de carga ayudaron a que la producción de polisacáridos aumentara.

La Figura 4.17a muestra el floculo de un lodo activado nitrificante con una carga nitrogenada de 0.22 g/l-d, donde se observa que es más denso y grande y la Figura 4.17b muestra el lodo de un reactor tipo Hussman que contiene el lodo madre nitrificante con una carga de 0.15 g/l-d de nitrógeno amoniacal. Cabe destacar que no se hicieron mediciones puntuales del tamaño y densidad de los floculos ya que solo fueron observaciones al microscopio. Estas Figuras a simple vista, dan evidencia del efecto de la carga sobre la estabilidad del floculo.



(a)



(b)

Fig. 4.17 (a) lodo con una carga nitrogenada de 0.22 g/l-d y (b) flóculo con una carga nitrogenada de 0.15 g/l-d. Contraste de fases (100X).

4.8 PERFILES DEL COMPORTAMIENTO DE LA VELOCIDAD DE SEDIMENTACIÓN EN DIFERENTES VELOCIDADES DE CARGA NITROGENADAS.

La velocidad de sedimentación es un parámetro básico como indicador de las propiedades de sedimentación de los lodos activados. La Figura 4.18 evidencia el perfil de la concentración de sólidos suspendidos contra la velocidad de sedimentación en los dos lodos nitrificantes, a una velocidad de carga de nitrógeno amoniacal de 0.07g/l-d. En la Figura 4.18a se aprecia que la velocidad de sedimentación del R1 es mayor con el aumento de sólidos suspendidos, con una velocidad promedio de 0.76 ± 0.19 cm/min. Asimismo, se observa que la concentración de sólidos suspendidos en el R2, es mayor que en el R1 y la velocidad de sedimentación también tienen la misma tendencia de aumentar con un valor de 0.797 ± 0.21 cm/min.

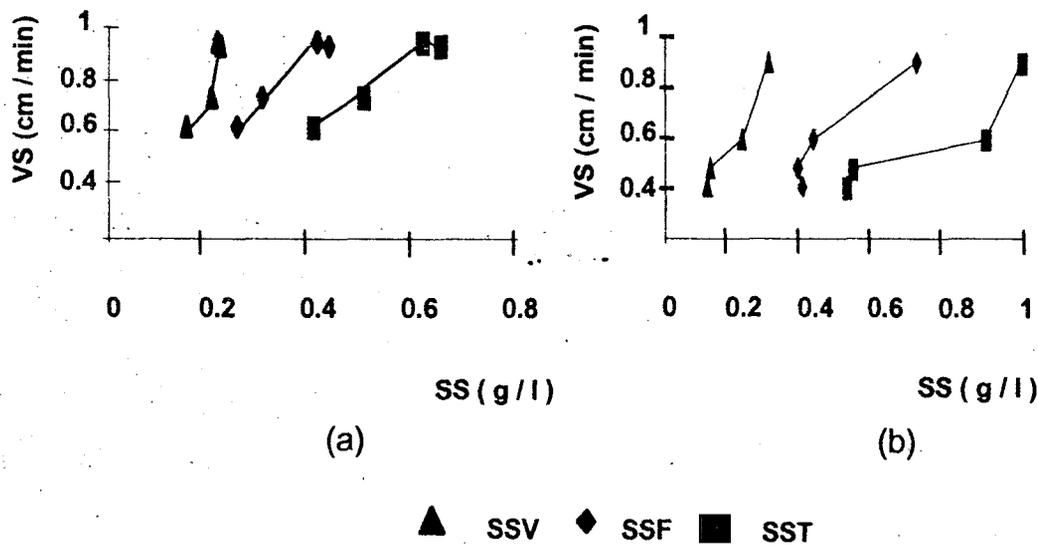


Fig. 4.18 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre la velocidad de sedimentación en una velocidad de carga de 0.7g/l-d, (a) R1 (b) R2 aun TRH de 1día.

La Figura 4.19 muestra los perfiles de velocidad de sedimentación en una velocidad de carga nitrogenada de 0.15g/l-d. Se observa la misma tendencia de la

velocidad. El R1 Figura 4.19a con un valor promedio de 1.13 ± 0.4 cm/min. En el lodo dos Figura 4.19b la velocidad es de 1.11 ± 0.4 cm/min. En esta velocidad de carga, la velocidad de sedimentación aumentó ligeramente en los dos lodos, además se observa que la dispersión de los valores aumentó, así como la concentración de los sólidos suspendidos.

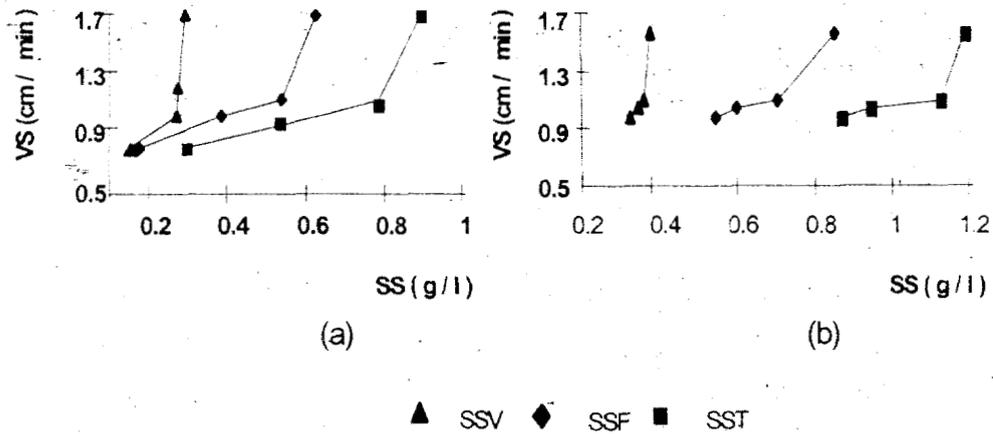


Fig 4.19 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre la velocidad de sedimentación en una velocidad de carga de 0.15g/l-d, (a) R1 (b) R2 a un TRH de 3 días.

En la velocidad de carga nitrogenada de 0.22g/l-d, la Figura 4.20a muestra el perfil de la velocidad de sedimentación en el R1, con un valor de 1.30 ± 0.27 cm/min. En el lodo R2 Figura 4.20b se tiene una velocidad de 1.33 ± 0.28 cm/min. En los dos lodos la velocidad tiende a aumentar por el incremento en la concentración de los sólidos suspendidos. Del mismo modo la velocidad de sedimentación aumentó ligeramente con el cambio en la velocidad de carga nitrogenada. Los dos lodos se comportan de modo similar en este parámetro.

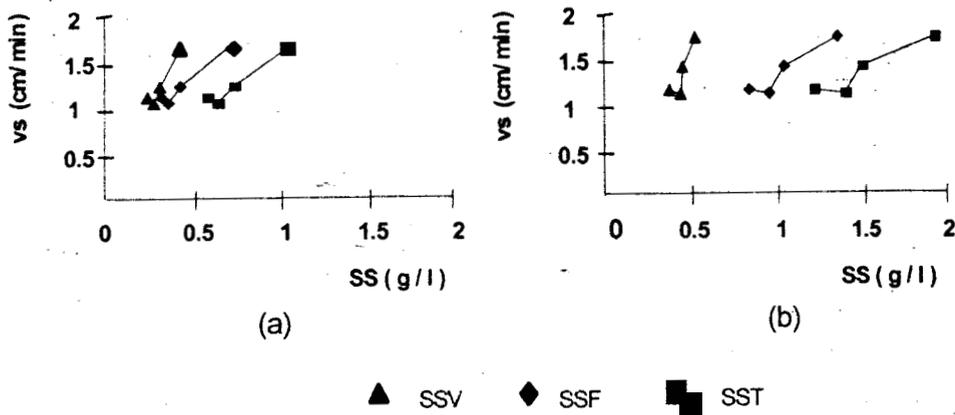


Fig. 4.20 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre la velocidad de sedimentación en una velocidad de carga nitrogenada de 0.22g/l-d, (a) R1 (b) R2 a un TRH de 2 días.

En la velocidad de carga nitrogenada de 0.44 g/l-d, los valores de velocidad de sedimentación disminuyeron ligeramente y la dispersión en los datos disminuyó aún más. La Figura 4.21a muestra los perfiles de sedimentación del R1 y se aprecia que la velocidad tuvo un comportamiento constante. Por el contrario los valores de la dispersión en el lodo dos son mayores, los dos reactores no se comportaron de forma similar en esta carga.

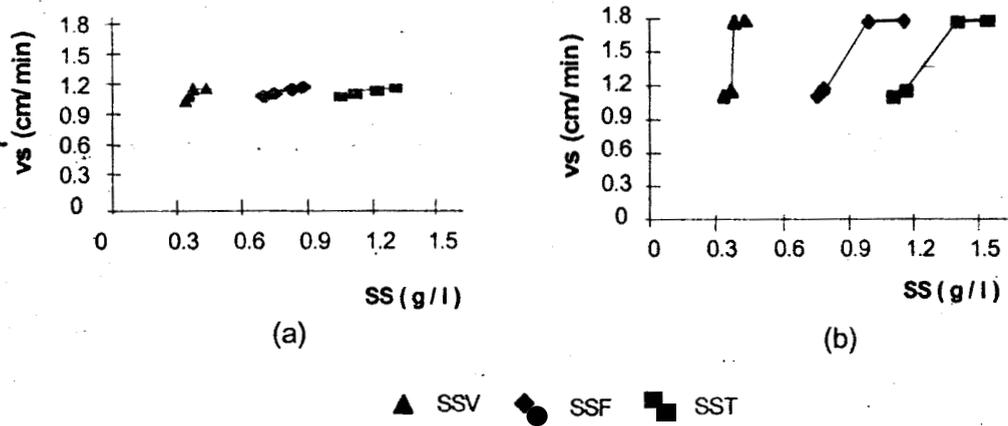


Fig. 4.21 Efecto de la concentración de sólidos suspendidos sobre la velocidad de sedimentación a una velocidad de carga nitrogenada de 0.44g/l-d, (a) R1 (b) R2 a un TRH de 1 día.

Cabe destacar que en los porcentajes de SSF y SSV en los dos lodos se observa que si aumentan los porcentajes de los SSV, la velocidad es menor, este patrón

se aprecia en cada una de las cargas que se evaluaron. Como los SSV se mantienen constantes, se puede apreciar que los SSF son los que influyen de la misma manera que en el IVL. Esto se corrobora con lo que menciona Echeverría *et al.* (1992), que al aumentar el contenido de materia orgánica la capacidad de sedimentación del lodo disminuye. Asimismo, Namer y Ganczarzyk (1993) reportan velocidades de 0.19 cm / min. con el 51 % de SSV en su lodo activado, valores de velocidad de sedimentación bajos y posiblemente se deba al contenido de SSV, ya que como podemos apreciar el porcentaje de SSV en los dos lodos nitrificantes es del 30% del contenido de los volátiles y posiblemente debido a esta materia orgánica el lodo nitrificante tenga mayor velocidad de sedimentación, a los reportados en la literatura como Magara *et al.* (1976) que reporta valores de 1 a 1.2 cm /min. valores muy parecidos a los encontrados en estos lodos nitrificantes. Al contrario Shall *et al.* (1989) reportan lodos activados con velocidades tan lentas de 0.01 cm / min.

La Tabla 4.2 Proporciona de manera resumida las variables que se midieron en ambos lodos. Si se equiparan los resultados se distingue que los lodos se comportan análogamente aunque con diferencias, a pesar de estar manejados bajo las mismas condiciones y en estado fisiológico de régimen estacionario, además a menor carga el IVL muestra la tendencia de aumentar y la velocidad de sedimentación a bajar. Del mismo modo, la concentración de sólidos suspendidos aumenta al cambio de carga nitrogenada y la concentración de SSV prácticamente se mantiene constante por purgas realizadas en los dos lodos. También es visible que la eficiencia nitrificante que es un parámetro que nos interesa, disminuyó de un 96% a un 86% considerándose de todas maneras buenas en cada carga nitrogenada, ya que la oxidación o consumo de $N-NH_4^+$ fue siempre 100%.

Tabla 4.2 Comportamiento de dos reactores nitrificantes a diferentes cargas nitrogenadas y en régimen estacionario.

Carga	Lodo (R1)			
	0.07 g/l-d	0.15 g/l-d	0.22 g/l-d	0.44 g/l-d
SST(g/l)	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.4	0.74 ± 0.2	1.16 ± 0.1
SSV(g/l)	0.2 ± 0.03	0.3 ± 0.09	0.3 ± 0.8	0.4 ± 0.04
IVL(ml/g)	14 ± 5	16 ± 5	15 ± 4	12 ± 1.4
VS (cm/min)	0.76 ± 0.19	1.1 ± 0.4	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.0
Efic. Nit. %	97 ± 1.3	89 ± 3	93 ± 5	87 ± 5
Carga	Lodo (R2)			
	0.07 g/l-d	0.15 g/l-d	0.22 g/l-d	0.44 g/l-d
SST(g/l)	0.72 ± 0.25	1.04 ± 0.15	1.5 ± 0.3	1.3 ± 0.2
SSV(g/l)	0.18 ± 0.08	0.35 ± 0.02	0.5 ± 0.06	0.4 ± 0.03
IVL(ml/g)	17.1 ± 2.42	15 ± 2.6	10 ± 1.6	10.4 ± 0.9
VS (cm/min)	0.79 ± 0.21	1.1 ± 0.4	1.3 ± 0.3	1.2 ± 0.04
Efic. Nit. %	95.7 ± 1.5	91.7 ± 2	89 ± 7	89 ± 5.2

4.9 Conclusiones.

El lodo nitrificante tiene la particularidad de ser tolerante a altas concentraciones de amonio en el influente 500mg /l.

El nitrato es el producto predominante del lodo nitrificante, obteniéndose eficiencias mayores al 80%.

A cada régimen de carga evaluado, fue posible alcanzar un régimen estacionario.

Cada velocidad de carga nitrogenada aplicada, muestra régimen estacionario. Sin embargo, los valores del IVL y velocidad de sedimentación no son constantes.

La concentración de sólidos suspendidos no fue constante en cada carga nitrogenada, encontrándose una dispersión mayor de éstos cuando se ensayaron velocidades de cargas nitrogenadas bajas.

El aumento de cargas nitrogenadas ayudo a que el IVL fuera mejor y la concentración de SSV se mantuvo constante mientras los fijos aumentaron.

La velocidad de sedimentación aumentó con el incremento de las velocidades de cargas nitrogenadas, presentándose una menor dispersión en sus valores. Es decir, a mayor carga, mayor estabilidad del lodo.

4.9 LITERATURA CITADA.

Anthoniesen, A. C., Loer, R. C., Prakasam, T. B. S. y Srinath, E.G. (1976). Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid. *Journal WPCF*. **48**, 835-852.

Azimi, A. A. y Horan, N. J. (1991). The influence of reactor mixing characteristics on the rate of nitrification in the activated sludge process. *Wat. Res.* **25**, 419-423.

Campos, J. L., Garrido, J. M., Mendez-Pampin, R. y Lema, J. M. (1996). Unidad de lodos activados nitrificantes de alta carga. En Congreso Ibérico de biotecnología. Edit. Fernández Polanco., García Encina Pedro, Gonzáles Gerardo Benito, Peña miranda MA. del Mar. Universidad de Valladolid España.

Echeverría, E., Seco, A. y Ferrer, J. (1992). Study of factors affecting activated sludge settling in domestic wastewater treatment plants. *Wat. Sci. Tech.* **25**, 273-279.

Forster, C. F. (1985a). Factors involved in the settlement of activated sludge - nutrients and surface polymers. *Wat. Res.* **19**, 1259-1264

Gómez, H.J., Lema, R.J., Méndez-Pampín, J.R. (1995). La nitrificación biológica con cultivos axénicos o lodos activados. *Ciencia*. **46**, 507-523.

Goodwin, J. A. S. y Forster, C. F. (1985). A further examination into the composition of activated sludge surfaces in relation to their settlement characteristics. *Wat. Res.* **19**, 527-533

Hall, E. R. y Murphy, L. K. (1985). Sludge age and substrate effects on nitrification kinetics. *Journal WPCF*. **57**, 413-418.

Henze, M. (1989). The influence of raw wastewater biomass on activated sludge oxygen respiration rates and denitrification rates. *Wat. Sci. Technol.* **21**, 603-607.

- Krzysztof, B. y Koscielniak, H. (1995). Influence of substrate loading intensity on floc size in activated sludge process. *Wat. Res.* **29**, 1703-1710.
- Magara Y., Nambu S. y Utosawa, K. (1976). Biochemical and physical properties of an activated sludge on settling characteristics *Wat. Res.* **10**, 71-77.
- Mamouni, R., Guiot, S.R., Leduc, R., Costerton, J. W. (1995). Characterization of different microbial nuclei as potential precursors of anaerobic granulation. *Journal of Biotechnology* **39**, 239-249.
- Námer, J. y Ganczarczyk J.J. (1993). Settling properties of digested sludge particle aggregates. *Wat. Res.* **27**, 1285-1294.
- Novák, L., Larrea L., Wanner, J. y Garcia-Heras, J. I. (1993). Non-filamentous activated sludge bulking in laboratory scale system. *Wat. Res.* **27**, 1339-1346.
- Patrick, T. S. y Sotiris, E. P. (1996). Shear-induced flocculation: The evolution of floc structure and the shape of the size distribution at steady state. *Wat. Res.* **5**, 1049-1056.
- Sato, T. y Ose, Y. (1980). Floc-forming substances extracted from activated sludge by sodium hydroxide solutions. *Wat. Res.* **14**, 333-338.
- Shall, H., M. Labbon y B. Scheiner (1989) Flocculation and Dewatering. Edited by Brij M Moud g.l. and Bernard J. Scheinerengineering Foundation Florida University
- Shieh, W. K., La Motta, E. (1979). Effect of initial substrate concentration on the rate of nitrification in a batch experiment. *Biotechnology and Bioengineering* **21**, 603-607.
- Sutherland, I. W. (1982). Bacterial exopolysaccharide synthesis. *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **45**, 40-56.

Stratford, M. (1992). Yeast flocculation: A new perspective. *Adv. in Microbial Physiology*. **33**, 2-58.

Tambo, N. (1991). Basic concepts and innovative turn of coagulation/flocculation. *Wat Res.* **13**, 429-439.

Toerien, D.F; Gerber, A. Lötter, L.H; Cloete, T.E. (1990). Enhanced biological phosphorus removal in activated sludge systems. *Adv Microbiol Ecol.* **11**, 173-230.

Urbain, V.; Block, J. C. y Manem. (1993). Bioflocculation in activated sludge by sodium hydroxide solution. *Wat. Res.* **27**, 829-838.

CAPITULO 5

EFECTO DEL FOSFATO

MADUREZ ES HUMILDAD. Es ser suficientemente grande para decir "me equivoque", y cuando se está en lo correcto, la persona madura no necesita experimentar la satisfacción de decir "te lo dije".

5.1 PROLOGÓMENO

Los estudios de morfología y bioquímica de formación del flóculo, indican que los polímeros exocelulares son, en su mayor parte, los responsables del fenómeno floculante en las bacterias (Sheintuch *et al.* 1986). Esta agregación de bacterias se atribuye principalmente a los polisacáridos exocelulares (Toerien *et al.* 1990).

Algunos iones que se encuentran en el medio, sirven como cofactores en la síntesis de polisacáridos. Como ejemplo se tiene a *Enterobacter aerogenes* que tiene una mayor producción de polisacáridos, cuando se agregan iones de Ca^{2+} , Mg^{2+} y K^+ . También se ha encontrado que en algunas bacterias, en presencia de bajas concentraciones de Fe^{3+} presentan mayor producción de polisacáridos (Sutherland 1982). Del mismo modo, concentraciones adecuadas de nitrógeno y fósforo, incrementan la producción de polisacáridos. De estos nutrientes el fósforo es un componente importante estructural celular, como los ácidos nucleicos, fosfolípidos y proteínas, así como en los nucleótidos involucrados en bioenergética celular. Kulaev (1985), menciona que los polifosfatos son importantes en funciones celulares como:

A) acumulan energía en forma de ATP y sirven como material de reserva a demás de ser osmóticamente inertes con fosfato activo, B) hace que las células sean más independientes de las condiciones ambientales; a través de la acumulación de reservas de fosfatos, C) regulan el ATP y otros niveles de nucleótidos en células, D) funcionan como ATP en algunos casos, por participación directa en reacciones de fosfoliración, E) se vincula a cationes (Mn^{2+} , Mg^{2+} , K^+), F) contribuyen con la homeostasis y regulación osmótica.

Polisacáridos producidos por algunos hongos están fosforilados, y se ha reportado que su formación, se afecta por la concentración de fósforo en el medio (Sutherland 1977). Como ejemplo se tiene que en *Aspergillus nidulans* la producción de polisacáridos fosforilados se estimula, por el contenido de fosfato en el medio (Toieren *et al.* 1990). El fosfato que está presente en levaduras, se

encuentra en bajas proporciones, pero con gran influencia sobre la superficie de carga y posiblemente en la formación de enlaces floculentos (Strafford 1982).

En lodos activados las bacterias pueden almacenar fósforo, en forma de polifosfatos, que son gránulos que se encuentran intracelularmente en sitios de oxidación y reducción. Se ha reportado que las bacterias nitrificantes como *Nitrosomonas europaeae*, almacenan intracelularmente polifosfatos en un 50 % (Natuscka *et al.* 1996); sin embargo, no es posible determinar qué tanta influencia tienen estos polifosfatos en los flóculos en las propiedades de sedimentación del lodo.

Por tal motivo, el principal énfasis en esta parte de la tesis, es evaluar y analizar los efectos de diferentes concentraciones de fosfato sobre el lodo nitrificante, y obtener información que nos permitan comprender mejor la sedimentación y la estabilidad del flóculo.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

5.2.1 Medir y analizar el efecto de las velocidades de cargas de fosfato (0.439 0.570 0.7426 (g/l-d)) sobre la sedimentación de un lodo activado nitrificante.

5.2.2 Estudiar y analizar la sedimentación de un lodo activado nitrificante en régimen estacionario.

5.2.3 Determinar y evaluar si las cargas de fosfato influyen, sobre el crecimiento del consorcio microbiano nitrificante.

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.3.1 Efecto de la carga de fosfato en la concentración de sólidos suspendidos.

La Tabla 5.1 muestra el comportamiento de los sólidos suspendidos totales, fijos y volátiles, el índice volumétrico del lodo y la velocidad de sedimentación de un reactor de tanque agitado, alimentado con un lodo activado nitrificante en régimen estacionario, a una velocidad de carga de 0.22 g/l-d de nitrógeno amoniacal que corresponde a un TRH de 2 días. La primer carga de fosfato, fue de 0.439 g/l-d. Se encontró una concentración de sólidos suspendidos totales de $0.742 \text{ g/l} \pm 0.27$; la concentración de sólidos suspendidos volátiles fue de $0.309 \text{ g/l} \pm 0.25$, la que se mantuvo constante por medio de purgas. El IVL bajo estas condiciones fue de $14.84 \text{ ml/g} \pm 0.25$, la velocidad de sedimentación fue de $1.30 \text{ cm/min} \pm 0.21$, y la eficiencia nitrificante fue del $93\% \pm 0.056$, es de suma importancia destacar que en esta primer carga las variables mencionadas, excepto la nitrificación, tienen una dispersión que estadísticamente se considera alta siendo mayor al 10%.

Tabla 5.1 Comportamiento de un lodo nitrificante con diferentes cargas de fosfato en un TRH de 2 días.

PO ₄ (g/l-d)	0.439	0.570	0.7426
SST (g/l)	0.742 ± 0.27	0.884 ± 0.056	1.24 ± 0.13
SSF (g/l)	0.583 ± 0.74	0.511 ± 0.09	0.870 ± 0.13
SSV (g/l)	0.309 ± 0.25	0.379 ± 0.068	0.373 ± 0.14
IVL (ml/g)	14.84 ± 0.25	22.13 ± 0.10	10.17 ± 0.06
VS (cm/min)	1.30 ± 0.21	3.52 ± 0.004	1.78 ± 0.0
Efic. Nit. %	93 ± 0.056	84.85 ± 0.06	74.75 ± 0.06

En la misma tabla se aprecia que al aplicar la segunda carga de fosfato (0.5702 g/l-d), se observaron dos etapas. En la primer etapa se apreció una concentración de sólidos suspendidos totales de 0.884 g/l \pm 0.056. La concentración de sólidos suspendidos fijos fue de 0.511 g/l y los sólidos volátiles de 0.379 g/l; el IVL aumentó a 22.13 ml/g \pm 0.10, y la velocidad de sedimentación aumento a 3.52 cm/min. \pm 0.004, en esta etapa la eficiencia nitrificante disminuyó un 8% con respecto a la que se tenía en la primer carga de fosfato. En esta misma carga de fosfato se aprecia que en la segunda etapa, la concentración de sólidos suspendidos totales aumentó a 1.45 g/l, los sólidos suspendidos fijos a 0.995 g/l y los volátiles a 0.459 g/l. El cambio más sobresaliente, es que el IVL disminuyó a 9.28 ml/g \pm 0.07. Sin embargo, la velocidad de sedimentación disminuyó a 1.77 cm/min. y su dispersión fue casi nula. Asimismo, la eficiencia nitrificante bajó alcanzando 77%, es notable que la dispersión disminuyó considerablemente. La tercer carga de fosfato de 0.7426 g/l-d que se aplicó al lodo nitrificante, no se observaron cambios importantes en los parámetros antes mencionados. Es importante destacar que el muestreo (purgas), para determinar los parámetros antes mencionados en estas dos últimas cargas de fosfato se realizó de modo más intenso.

Como se indico antes, el cambio notable se dió en la segunda carga de fosfato, donde se observaron dos etapas en la primera se apreció un aumento considerable en la concentración de sólidos suspendidos totales y que se debió principalmente a la concentración de sólidos suspendidos volátiles, los que aumentaron con respecto a la concentración de la primer carga como se observó en la Tabla 5.1. En la segunda etapa se aprecio un aumento de los sólidos suspendidos totales del 95% comparado con la primer carga de fosfato, aumentó asociado a los sólidos fijos; que posiblemente aumentaron por una saturación de fosfato. Muyima *et al.* (1995), mencionan que en sistemas aireados de lodos activados, hay captación de fosfato. Toerien (1990) encontró que si la aireación es prolongada en sistemas anaerobios hay liberación de fosfato al líquido, fenómeno

que atribuyen a la respiración endógena lo que provoca disminución en la biomasa activa dando como resultado liberación de fosfato. Asimismo, Harold (1963) encontró acumulación de fosfato cuando el crecimiento es lento y es resultado de una deficiencia nutricional. Pero, ambos casos no se consideran que den respuesta al comportamiento de los sólidos suspendidos volátiles del lodo nitrificante, ya que como se mencionó anteriormente, la extracción de biomasa del reactor fue periódica, sin ocasionar una alteración en la concentración de los sólidos en el reactor, por lo tanto el aumento de fosfato a la salida, como se muestra en la Figura 5.1, no fue ocasionado por la respiración endógena, si no por acumulación de fosfato en el lodo nitrificante.

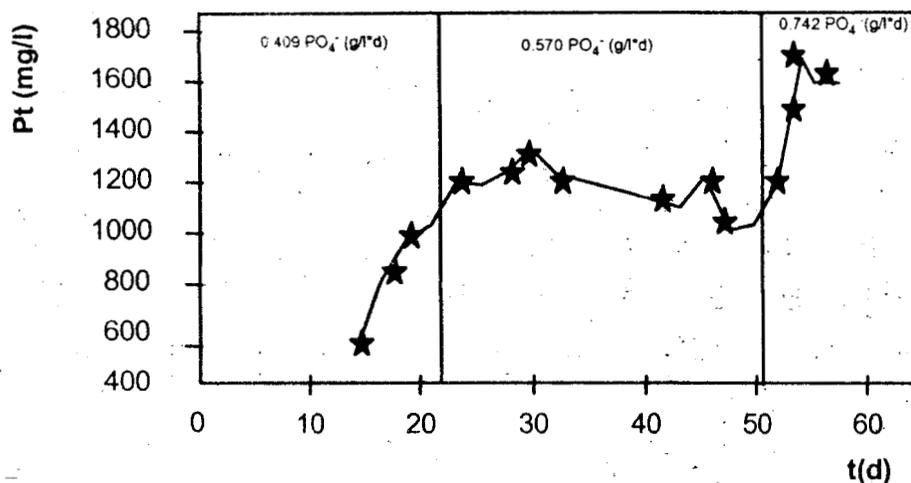


Fig.5.1 Aumento de la concentración de fósforo total (Pt) a la salida del reactor bajo tres diferentes cargas de fosfato evaluadas.

Esto se corrobora con la tercer carga de 0.7426 g/l-d de fosfato, en la cual no se aprecian cambios importantes en la concentración de sólidos.

Esto nos lleva a considerar que el fosfato ayudó al lodo activado a incrementar su biomasa activa, debido a que aumentó la concentración de sólidos suspendidos volátiles.

5.3.2. Efecto de la carga de fosfato sobre la sedimentación del lodo activado nitrificante.

Como se mencionó en la sección 5.3.1 la segunda carga de fosfato, mostró tener dos etapas, resultados que corresponden a un reactor en régimen estacionario nitrificante. La primer etapa, se observa un aumento en el IVL, Figura 5.2.

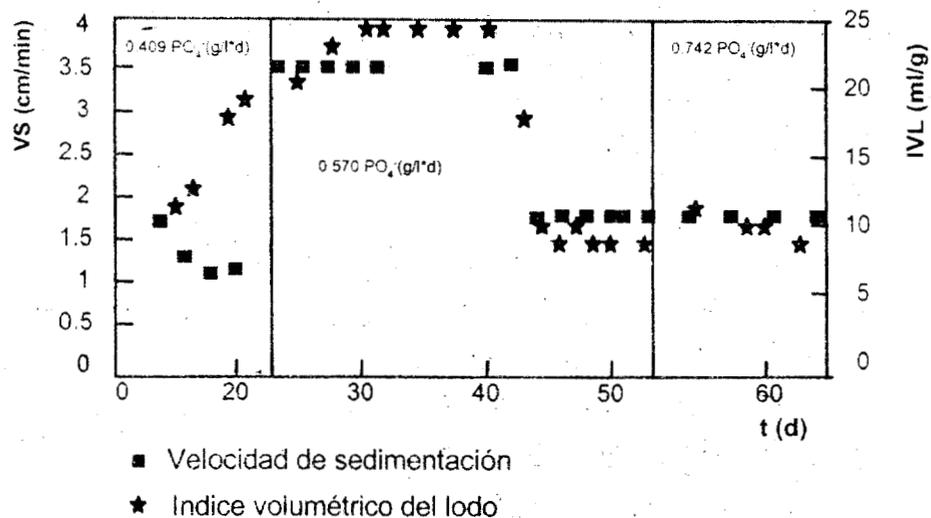


Fig. 5.2 Comportamiento de la velocidad de sedimentación e IVL, en el lodo nitrificante durante las cargas de fosfato.

Posiblemente, se debió al incremento en la concentración de biomasa y de sólidos suspendidos fijos. Bosch (1992) estipula que con incrementos de fósforo (disponible en plantas de tratamiento de agua residual), la eliminación del fosfato incrementa debido a la síntesis de biomasa y no a la captación de fosfato por la biomasa. También se sabe que los lodos activados, que eliminan fosfato, existen bacterias que acumulan fosfato en exceso, independientemente de sus requerimientos nutricionales (Toerien, 1990). Pero en este caso pudiera ser que hubiera aumentado la captación de fosfato, ya que las bacterias nitrificantes pueden almacenar fosfato dentro de las células en forma de gránulos de polifosfatos hasta en un 50% (Natuscka, 1996). Estos gránulos de polifosfatos se asocian al ADN y al nucleosplasma (Deinema *et al.* 1980) o en sitios de oxidación-

reducción. Esto podría explicar que el aumento del IVL se debió a la síntesis de polifosfatos, y haber contribuido a que la velocidad de sedimentación aumentará, ya que las bacterias nitrificantes forman flóculos (Gómez 1994) y estos unidos con los gránulos de polifosfatos le hayan dado mayor densidad. Por esta razón se podría elucidar que la velocidad de sedimentación aumentó, en lugar de disminuir. (Urbain *et al.* 1993, Magara *et al.* 1976, Sato y Ose 1980, Echeverría *et al.* 1992).

En la segunda etapa se aprecia un cambio importante, el lodo que se encuentra en régimen estacionario muestra disminución del IVL, posiblemente se debió a que no hubo producción de polifosfatos, provocado por síntesis de proteína, y por ende el IVL haya disminuido. Toerien (1990) menciona que la síntesis de polifosfatos, se favorece en ausencia de síntesis de proteína. Campos y Garrido (1996) mencionan que cuando se tienen altas concentraciones de biomasa, ésta se compacta y se tiene menos volumen muerto en el reactor, esto podría explicar la forma de como la velocidad de sedimentación disminuyó en paralelo con el IVL en esta etapa, aunque fue mayor a la que se tenía en la primer carga.

La Figura 5.3 (a) muestra el flóculo del lodo activado nitrificante a una carga de 0.22 g/l-d de nitrógeno amoniacal, donde se evaluaron las tres cargas de fosfato, se aprecia que el flóculo es de un tamaño mayor y más denso. La Figura 5.3 (b) muestra el flóculo de un lodo que se maneja con la misma carga nitrogenada y sólo con la concentración constante de fosfato en el medio y se observa que es un flóculo más pequeño y menos compacto y la Figura 5.3 (c) muestra el lodo de un reactor tipo Hussman que contiene lodo nitrificante con una carga de 0.15 g/l-d de nitrógeno amoniacal. Se observa que el flóculo está disperso; estas figuras nos dan información del efecto notable que tuvieron las cargas de fosfato en este tipo de lodos activados nitrificantes.

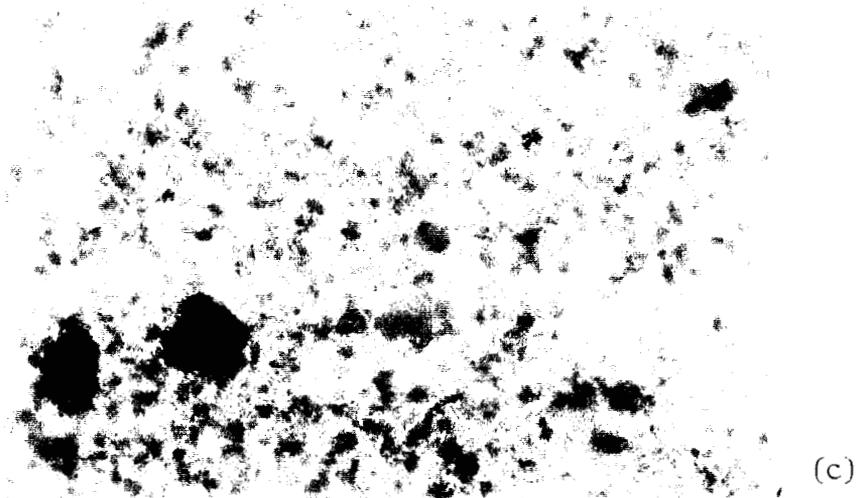
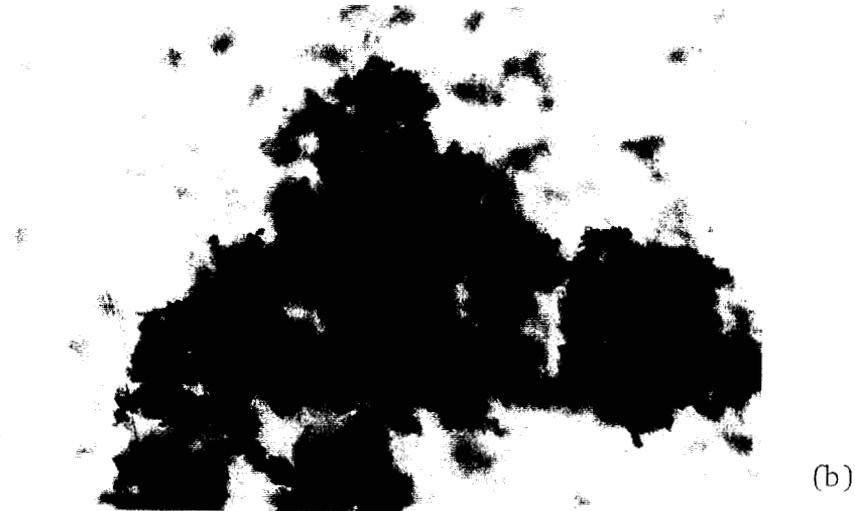


Fig. 5.3 (a) flóculo que se le aplicaron cargas de fosfato, 5.3 (b) flóculo con una carga constante de fosfato y 5.3 (c) flóculo de donde se obtuvo el inóculo. Fotografías tomadas en microscopio de contraste de fases a (100X)

5.4 COMPORTAMIENTO DE LA EFICIENCIA NITRIFICANTE CON LAS CARGAS DE FOSFATO.

Otro efecto importante que se apreció en las cargas de fosfato, es que la eficiencia nitrificante fue disminuyendo progresivamente. En la carga de 0.439 g/l-d de fosfato la eficiencia nitrificante se mantuvo en un 93%, posteriormente a la carga de 0.724 g/l-d de fosfato, esta eficiencia nitrificante disminuyó a 75%, habiendo una disminución de 18 %. La Figura 5.4 muestra el comportamiento de la eficiencia nitrificante.

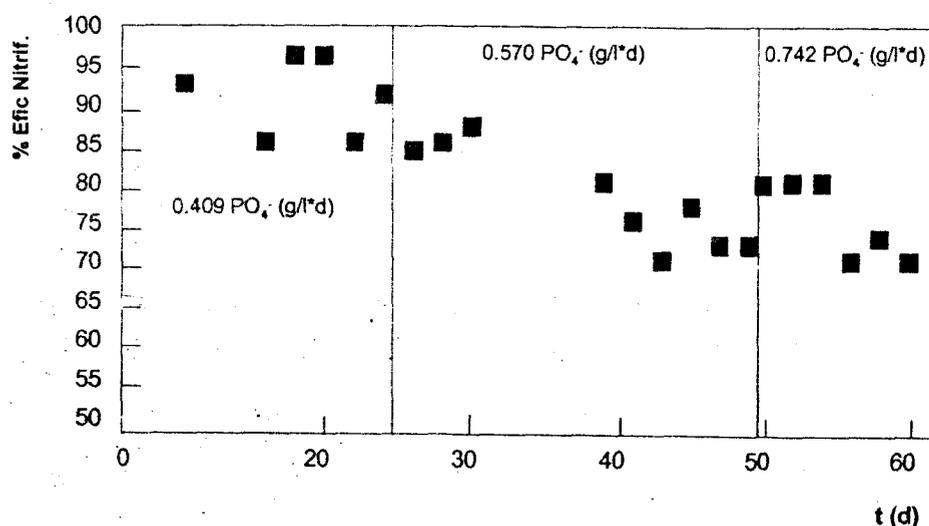


Fig. 5.4 Comportamiento de eficiencia nitrificante en las diferentes cargas de fosfato aplicadas al lodo nitrificante a una carga de 0.22 g/l-d de nitrógeno amoniacal y TRH de 2 días.

La disminución de la eficiencia nitrificante, en primer instancia pudo deberse a que la biomasa heterotrófica haya aumentado en lugar de la autotrófica, ya que el lodo nitrificante se compone de dos tipos de biomasa autotrófica y heterotrófica (Gómez 1994). Nowak (1996) mencionó que la amonio oxidación se vio afectada por la alta demanda de fósforo, de la biomasa heterotrófica aunque no queda clara por que. Sin embargo, Toerien (1990) menciona que en las bacterias nitrificantes, particularmente *Nitrosomona europaeae*, la concentración de polifosfatos en régimen estacionario depende del balance entre el rendimiento de ATP y la utilización del ATP. Anteriormente Terry y Hooper (1970) mencionaron

que la síntesis de polifosfatos se favorece cuando la oxidación de N-NH_3 ocurre en ausencia de síntesis de proteína. Esto podría dar una explicación de que si en lugar de que el nitrógeno de entrada se utilizará para generación de biomasa y oxidación de N-NH_4^+ a NO_3^- , se utilizará sólo para síntesis biomasa, entonces la eficiencia nitrificante disminuiría, por la generación de biomasa, pero cual biomasa ¿la autotrófica o heterotrófica?. Sin embargo, como se mencionó en el Capítulo I las bacterias nitrificantes son quimilitotróficas es poco probable que la biomasa heterotrófica haya aumentado, no obstante algunos estudios como el de Nowak (1996) indica que la biomasa heterotrófica aumenta con el fosfato y para intentar entender más estos resultados, se hicieron algunas pruebas, que a continuación se mencionan.

5.5 COMPARACIÓN DE LA POBLACIÓN HETEROTRÓFICA DE DOS LODOS ACTIVADOS NITRIFICANTES.

Para verificar si la población heterotrófica había aumentado por efecto del aumento de la velocidad de carga de fosfato, se comparó con otro reactor que se maneja bajo las mismas condiciones, pero con la concentración de fosfato constante del medio, como se describió con anterioridad. Se cuantificó la microflora mediante conteo total al microscopio, acompañadas de cultivo en medio de cultivo heterotrófico en placa, por el método de dilución. Cabe destacar que son dos métodos distintos, pero que son válidos para comparar dos sistemas parecidos, además se utilizaron debido a que la biomasa nitrificante es de crecimiento lento y lleva meses para poder crecerla en placas. Los resultados se muestran en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2 Comparación de la población en dos lodos nitrificantes.

	Cámara Neubauer	Conteo en placa	Proteína
Reactor 1 prueba	5.7×10^7 células/ ml	6.2×10^6 células / ml	215 g/l.
Reactor 2	5.2×10^7 células/ ml	6.2×10^5 células / ml.	223 g/l

Se aprecia que en el reactor 1 (reactor de prueba) con una carga de 0.724 g/l-d de fosfato tiene un conteo total 5.7×10^7 células/ ml, en cámara de Neubauer, y el conteo de heterótrofos fue de 6.2×10^6 células/ml relacionando las proporciones, los dos muestreos dan un 89 % de autótrofos y 10.8 % de heterótrofos, con una concentración de proteína de 215 g/l. En el reactor 2 sin aumento de fosfato se tiene un conteo total de 5.2×10^7 células / ml y el conteo de heterótrofos es de 6.2×10^5 dando un total de 98.8% de autótrofos y un 1.19 % de heterótrofos con una concentración de proteína de 223 g/l. Aunque cabe destacar que debido a la acumulación de biomasa en el reactor 1 este se purgó con más frecuencia que el reactor 2, con lo que se corrobora que la biomasa heterótrófica no aumento más que la autótrófica y entonces confirma que la eficiencia nitrificante haya disminuido por generación de biomasa y no por efecto del fosfato. No obstante se realizo otra prueba, en paralelo que a continuación se menciona.

5.6 COMPARACIÓN DE LA VELOCIDAD DE CONSUMO DE OXÍGENO EN CADA SISTEMA NITRIFICANTE.

En la Figura 5.5 que corresponde al reactor uno R1, al cual se aplicaron la cargas de fosfato y la Figura 5.6 que corresponde al R2, el cual se mantuvo con una velocidad de carga de fosfato constante. Se aprecia que las dos curvas del consumo de oxígeno son muy parecidas. Este experimento se realizó para verificar si la respiración nitrificante se había afectado por exceso de la carga de fosfato, o por los posibles cambios en la proporción de las fracciones microbianas dentro del lodo. Vale decir que esta prueba y la descrita arriba se realizaron en paralelo, y en principio deben arrojar resultados que lleven a una misma conclusión. Se encontró que ambos lodos tuvieron casi la misma velocidad de consumo de oxígeno y se evidencia, que la eficiencia nitrificante disminuyó porque el $N-NH_4^+$ de entrada se desvió a la síntesis de biomasa y no para oxidación de amonio a nitrato.

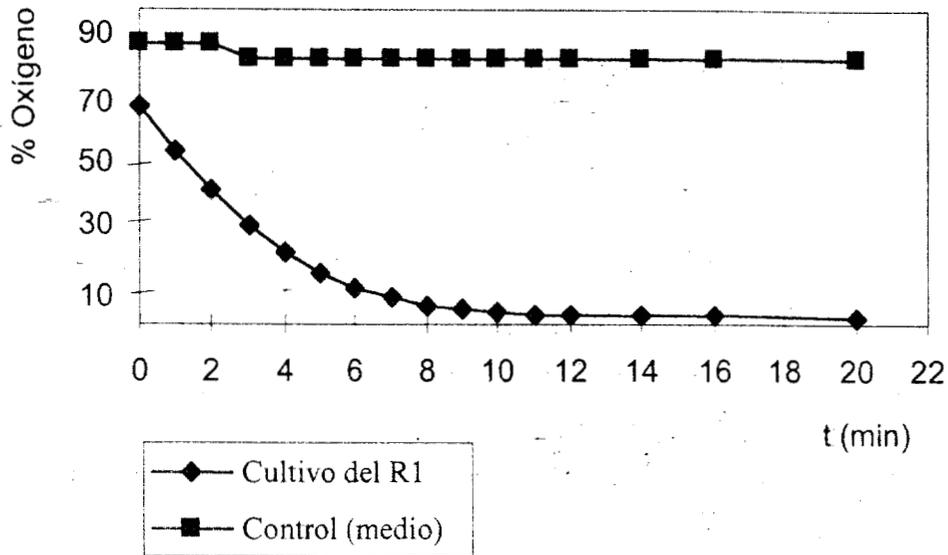


Fig 5.5. Consumo de oxígeno del reactor 1 (prueba) con cambios en las velocidades de cargas de fosfato y la prueba control de consumo de oxígeno sin biomasa. Con una velocidad de carga de 0.22 g/l-d de nitrógeno amoniacal.

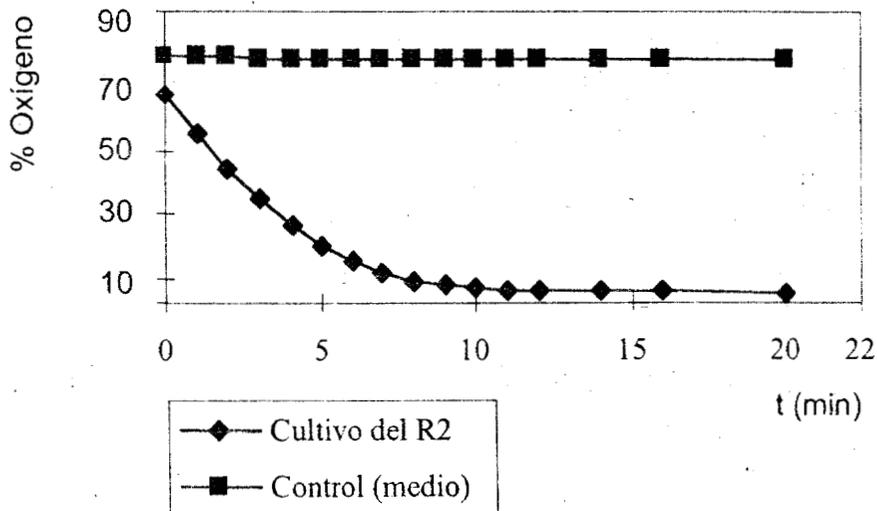


Fig. 5.6 Consumo de oxígeno del reactor 2 sin cambio en su contenido de fosfato y la prueba control de consumo de oxígeno sin biomasa. Operado a una carga de 0.22 g/l-d de nitrógeno amoniacal.

5.7 CONCLUSIONES.

Las cargas de fosfato de (0.439, 0.570, 0.7426 g/l-d) aplicadas al lodo nitrificante en régimen estacionario, modifica el IVL y la VS, mejorando las condiciones de sedimentación del lodo.

La carga de fosfato de 0.570 g/l-d influye en el aumento de concentración del lodo, hasta con un 95% más de su concentración normal.

La eficiencia nitrificante del lodo, disminuyó hasta un 70% con las cargas de 0.570 y 0.7426 g/l-d de fosfato.

Las pruebas de conteo total y dilución en placa indican que la microflora nitrificante aumento con las cargas de fosfato, sin que el aumento de la microflora heterotrófica afectará la nitrificación.

La velocidad de consumo de oxígeno en los dos lodos activados es muy parecida, lo que indica que la microflora nitrificante no se vio afectada por las cargas de fosfato y que la disminución de la eficiencia nitrificante fue motivada, por que el nitrógeno amoniacal se fue a síntesis de biomasa y no a producción de nitrato.

5.8 LITERATURA CITADA.

Bosch, M. (1992). Phosphorus uptake kinetics of *Acinetobacter* in activated mixed liquor. M. en C. Tesis, University of Pretoria, Africa.

Campos, J. L., Garrido, J. M., Mendez-Pampin, R. y Lema, J. M. (1996) Unidad de lodos activados nitrificantes de alta carga. En III Congreso Ibérico de biotecnología. Edit. Fernández Polanco., García Encina Pedro, Gonzáles Gerardo Benito, Peña Miranda Ma. del Mar. Universidad de Valladolid España.

Deinema, M. H., Habets, L. H. A., Scholten, J., Turkstra, E. y Webers, H. A. (1980). The accumulation of polyphosphate in *Acinetobacter* spp. *FEMS Microbiol. Lett.* **9**, 275-279.

Echeverría, E., Seco, A. y Ferrer, J. (1992). Study of factors affecting activated sludge settling in domestic wastewater treatment plants. *Wat, Sci. Tech.* **25**, 273-279.

Gómez, H.J. (1994). Obtención de microflora nitrificante: Nitrificación en diferentes medios de cultivo. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, España.

Harold, F. M. (1963). Accumulation of inorganic polyphosphates in *Aerobacter aerogenes*, I. relationship to growth and nucleic acid synthesis. *J. Bacteriol.* **86**, 216-221.

Kulaev, I. S. (1985). Some aspects of environmental regulation of microbial phosphorus metabolism. *FEMS Symp.* **23**, 1-25.

Magara Y., Nambu S. y Utosawa, K. (1976). Biochemical and physical properties of an activated sludge on settling characteristics *Wat. Res.* **10**, 71-77.

Muyima, N. y Cloete, T. (1995). *Acinetobacter Calcoaceticus*. cells in a full scale activated sludge plant. *J. Ind. Microb.* **15**, 19-24.

- Natuscka, M. L., Hans, C., Henrik, A., Thomas, W. y Bengt, A. (1996). Stability and variation in sludge properties in two parallel systems for enhanced biological phosphorus removal operated with and without nitrogen removal. *Wat. Sci. Tech.* **34**, 101-109.
- Nowak, k. Svardal y H. Kroiss. (1996). The impact of phosphorus deficiency on nitrification case study of a biological pretreatment plant for rendering plant effluent. *Wat. Sci. Tech.* **34**, 229-236.
- Sato, T. y Ose, Y. (1980). Floc-forming substances extracted from activated sludge by sodium hydroxyde solutions. *Wat. Res.* **14**, 333-338.
- Sheintuch, M., Lev, O., Einav, P., Y Rubin, E. (1986). Role of exocellular polymer in the design of de sludge activated, *Biotech. Bioeng.* **28**, 1810-1818.
- Sutherland, I. W. (1977). Microbial exopolysaccharides synthesis. *Am Chem. Soc. Symp. Ser.* **45**, 40-56.
- Sutherland, I. W. (1982). Bacterial exopolysaccharide synthesis. *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.* **45**, 40-56.
- Stratford, M. (1982). Yeast flocculation: A new perspective. *Adv. in Microbial Physiology.* **33**, 2-58.
- Terry, K. R. y Hooper, A. B. (1970). Polyphosphate and orthophosphate content of *Nitrosomonas europaea* as a function of growth. *J. Bacteriol.* **103**, 199-206.
- Toerien, D.F; Gerber, A. Lötter, L.H; Cloete, T.E. (1990). Enhanced biological phosphorus removal in Activated sludge systems. *Adv. in Microbial Ecology* **11**, 173-230.
- Urbain, V.; Block, J. C. y Manem. (1993). Bioflocculation in activated sludge by sodium hydroxide solution. *Wat. Res.* **27**, 829-838.

CAPITULO 6

CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES

MADUREZ es el arte de vivir en paz y armonía con las personas y las cosas que nos rodean.

6.1 CONCLUSIONES.

A pesar de mantener una concentración en el influente de 500 mg/l de nitrógeno amoniacal en cada velocidad de carga evaluada, no se presentaron problemas de inhibición, ya que el producto predominante fue el nitrato y se mantuvo la eficiencia nitrificante por encima del 80%.

Los valores de sólidos suspendidos, IVL y velocidad de sedimentación, no fueron constantes. Sin embargo, se encontró una menor dispersión en sus valores cuando se ensayaron velocidades de cargas nitrogenadas altas, en particular de 0.22 y 0.44 g/l-d. Es decir, a mayor velocidad de carga nitrogenada, mayor estabilidad del lodo.

Las velocidades de carga de fosfato evaluadas, en particular 0.57 y 0.75 g/l-d, contribuyeron a mejorar las condiciones de sedimentación del lodo y aumentar la concentración de biomasa.

La disminución de hasta el 70 % de la eficiencia nitrificante cuando se evaluaron las velocidades de carga de fosfato, fue provocada por síntesis de biomasa, como lo indicaron el conteo total y la velocidad respiratoria.

6.2 RECOMENDACIONES.

Dada la importancia que la formación del flóculo tiene en la nitrificación, es recomendable profundizar en el estudio de este fenómeno, haciendo una evaluación puntual del ión fosfato en la formación del flóculo de esta microflora. Se observó que el flóculo aumentó de tamaño al inicio de la velocidad de carga de fosfato y posteriormente disminuyó de tamaño, es necesario precisar si el fosfato influyó en la formación de alguna sustancia exopolimérica y si es así determinar que o cuales sustancias fueron las responsables de este comportamiento. También es importante destacar que otros factores pudieron haber influido, como el caso de los gránulos de polifosfatos los que se almacenan en la célula como reserva de fosfato y que pudieron haber influido en la estabilidad del flóculo.

Otro aspecto visible, es que el lodo mostró capacidad para soportar altas concentraciones de nitrógeno amoniacal y que el IVL y la velocidad de sedimentación mejoraron a altas velocidades de cargas nitrogenadas, aunado a esto el lodo presento mejor estabilidad y esto se mostró con las dispersiones en los valores del IVL y velocidad de sedimentación, las cuales fueron bajas a mayores velocidades de cargas nitrogenadas. Esto nos abre el camino para estudiar el impacto que tienen estos parámetros en la formación del flóculo.