

RESUMEN

El nitrógeno que contienen las aguas residuales es un compuesto potencialmente contaminante para los ecosistemas acuáticos. Una de las alteraciones más graves que puede causar en el medio es la eutrofización. La eutrofización se inicia con el crecimiento excesivo de los productores primarios del ecosistema y desencadena una serie de cambios que pueden producir el agotamiento del oxígeno en el medio, toxicidad en agua y la pérdida de la biodiversidad.

Las estaciones depuradoras de aguas tienen un papel fundamental en la protección del medio ambiente. Estas instalaciones evitan la llegada de nutrientes (nitrógeno y fósforo) y otras sustancias contaminantes a los ecosistemas acuáticos. El sistema más utilizado para la eliminación de nitrógeno en las estaciones depuradoras de aguas residuales es el proceso biológico de nitrificación aerobia junto con la desnitrificación heterótrofa en condiciones anóxicas.

El rendimiento de los sistemas biológicos está directamente relacionado con la estructura de la comunidad bacteriana y su metabolismo. Por ello, es importante determinar las relaciones entre la comunidad bacteriana y los rendimientos de las instalaciones a escala real. Las técnicas moleculares, desarrolladas en las últimas décadas han permitido desvelar la gran diversidad microbiana presente en los sistemas de depuración. De manera particular, las técnicas de secuenciación genómica han permitido obtener información taxonómica y funcional de las comunidades microbianas. Estos avances han permitido ampliar los conocimientos existentes sobre la versatilidad metabólica de las bacterias del ciclo del nitrógeno. No obstante, la comprensión de las relaciones entre la estructura microbiana, su actividad y las cambiantes condiciones ambientales y operacionales de las plantas de tratamiento a escala real, es necesaria para asegurar tanto la calidad del efluente final, como la operación eficiente de estos sistemas.

En este trabajo se monitorizaron las variaciones temporales de las características físico-químicas del afluente, los parámetros operacionales y los rendimientos de eliminación del amonio en 6 reactores biológicos con sistemas de fangos activos, durante periodos mínimos de 11 meses. Para caracterizar las comunidades microbianas involucradas en el proceso de nitrificación e identificar los organismos clave en el proceso, se han utilizado diferentes técnicas de biología molecular: hibridación *in situ* con sondas marcadas con fluoróforos (FISH), la secuenciación de segunda generación Illumina y secuenciación de tercera generación SMRT de PacBio, la cual no había sido utilizada hasta la fecha para el análisis de la microbiota de sistemas convencionales de eliminación de nutrientes. Para valorar la actividad de la biomasa nitrificante y de la biomasa heterótrofa se utilizaron técnicas respirométricas y técnicas para la cuantificación del ATP de última generación. Finalmente, para analizar el gran volumen de datos generado tras la aplicación de las diferentes

técnicas, se utilizaron técnicas estadísticas de análisis multivariante, como los modelos de regresión lineal multivariante basados en la distancia (DISTLM). Estas técnicas estadísticas permitieron valorar la contribución de las variables ambientales a la variabilidad observada en la estructura de las comunidades de bacterias nitrificantes, los rendimientos de eliminación del nitrógeno y su actividad.

La combinación de las técnicas moleculares empleadas permitió determinar que *Nitrosomonas oligotropha*, *Nitrospira* spp. y *Nitrotoga* sp. fueron las principales responsable de los procesos de oxidación del amonio y del nitrito, respectivamente, en las EDAR analizadas. Los resultados alcanzados con las técnicas FISH e Illumina sobre la estructura de la población de bacterias nitrificantes fueron similares, y permitieron detectar los sesgos de la secuenciación SMRT de PacBio. Los modelos de regresión permitieron valorar la contribución de las bacterias nitrificantes a la eliminación del amonio y cuáles fueron los factores que influían en su abundancia en cada una de las EDAR. La carga orgánica, la concentración de sólidos volátiles, la concentración de oxígeno y la temperatura fueron las variables de mayor influencia en la abundancia de estas especies. Mientras que la carga de fósforo influenció, además, significativamente en su actividad. Este estudio reveló que la aplicación de ozono disminuye significativamente a los rendimientos de eliminación del amonio. Los resultados obtenidos ayudaron a mejorar la comprensión sobre el proceso de nitrificación en cada una de las EDAR y manifiestan la importancia de la dinámica poblacional de las bacterias nitrificantes en los rendimientos de eliminación del amonio en las EDAR. Estos resultados establecen que las técnicas moleculares para la identificación y cuantificación de las poblaciones nitrificantes, combinadas con respirometría y los modelos de ordenación multivariante empleados en esta tesis, son una herramienta fiable para la monitorización y el control del proceso de nitrificación en sistemas de eliminación biológica de nitrógeno.

Los resultados de esta tesis sugieren que la medida de los sólidos suspendidos volátiles activos mediante técnicas de determinación de ATP de segunda generación puede mejorar el cálculo de las variables de diseño y control más habituales de las EDAR.