



UNIVERSIDAD  
POLITECNICA  
DE VALENCIA

MASTER EN INGENIERÍA TEXTIL 2007-2008

MEMORIA PROYECTO

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN REACTOR CON

BIOMASA SOPORTADA

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

ALUMNO: LLUÍS DOMENE I FIGUEROLA

---

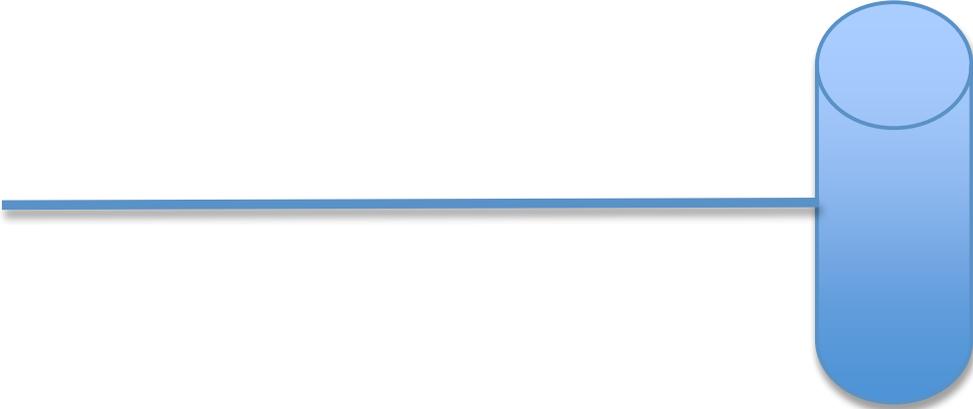


## ÍNDICE

1. EL PROBLEMA DEL AGUA .....	7
2. OBJETIVOS .....	9
3 DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES.....	10
3.1 INTRODUCCIÓN .....	10
3.2 TRATAMIENTO AEROBIO .....	14
3.3 TRATAMIENTO ANAEROBIO .....	15
3.4 SISTEMAS DE DEPURACIÓN EN FUNCIÓN DEL SOPORTE MICROBIANO .....	15
4. EL FANGO ACTIVO .....	17
4.1 ECOLOGÍA MICROBIANA DEL FANGO ACTIVO.....	17
4.2 MICROBIOLOGÍA DEL FANGO ACTIVO .....	18
4.3 CINÉTICA DE LA DEGRADACIÓN BIOLÓGICA.....	20
4.3.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA Y PH .....	22
4.3.2 MODELOS CINÉTICOS APLICABLES AL CRECIMIENTO BACTERIANO... ..	22
4.3.3 MODELOS DE CRECIMIENTO SOBRE VARIOS SUSTRATOS .....	23
5. BIOFILMS BACTERIANOS .....	25
5.1. COMPOSICIÓN Y ARQUITECTURA.....	27
5.2. ETAPAS EN EL CICLO VITAL.....	28
5.3 QUORUM SENSING.....	31
5.4 INTERCAMBIO GÉNICO .....	33
5.5 RESISTENCIA BACTERIANA.....	33
6 TÉCNICAS ANALÍTICAS.....	35
6.1 ANÁLISIS DE LA BIODEGRADABILIDAD .....	35
6.1.1 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO.....	35

6.2 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO .....	37
6.3 CARBONO ORGÁNICO TOTAL .....	37
6.5 MEDIDA DE LOS SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN (STS) .....	38
7 DISEÑO Y MONTAJE DEL REACTOR.....	41
7.1 TIPOS DE REACTORES .....	41
7.2 REACTORES MEDIANTE BIOFILMS.....	42
7.3 PRINCIPIOS BÁSICOS DE DISEÑO .....	43
7.4 COMPORTAMIENTO DE LOS BIOFILMS.....	45
7.5 BIOFILTROS SUMERGIDOS.....	48
7.5.1 DESCRIPCIÓN .....	48
7.5.2 FACTORES DE DISEÑO .....	50
7.5.2.1 Sentido del flujo .....	50
7.5.2.2 Pérdida de carga .....	51
7.5.2.3 Comportamiento hidráulico .....	51
7.5.2.4 Demanda de oxígeno/aire .....	51
7.5.2.5 Construcción .....	51
7.5.2.6 Material de relleno.....	52
7.5.2.7 Sistema de aireación:.....	55
7.5.2.8 Sistemas de lavado .....	55
7.6 EL MOVING BED BIOFILM REACTOR .....	56
7.6.1 APARICIÓN .....	57
7.6.2 FACTORES DE DISEÑO.....	57
7.6.2.1. Régimen hidráulico, flujo y oxigenación. ....	57
7.6.2.2 Soportes.....	58

8 REACTOR PARA DEPURACIÓN POR BIOFILMS .....	60
8.1 MATERIALES.....	60
8.2 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN .....	61
8.2.1 Reactor: .....	61
8.2.2 Estructura:.....	64
8.2.3 Equipo de bombeo:.....	64
8.3 PRINCIPIOS BÁSICOS DE FUNCIONAMIENTO .....	65
8.4 ACONDICIONAMIENTO DE LA BIOMASA Y FORMACIÓN DEL BIOFILM.....	65
9 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS MISMOS .....	70
10 OBJETIVOS FUTUROS .....	73
11 REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA.....	75





## RESUMEN

La presente memoria abarca las experiencias, resultados y discusión de los mismos, realizados a partir de la necesidad de diseñar y construir un reactor que permita estudiar los biofilms bacterianos formados sobre un soporte inerte utilizado como relleno en varios tipos de configuraciones. Para ello, y como primer acercamiento, se ha llevado a cabo el diseño, montaje y puesta en marcha del reactor, pasos necesarios para la caracterización del reactor, en el que se ha utilizado un relleno – arcilla expandida- que permita la formación de un biofilm bacteriano.

La primera fase de la investigación consistió en analizar las necesidades que eran necesarias para que el diseño del reactor respondiera a los escenarios que podamos encontrar en la investigación de los biofilms y los posibles reactores que queramos utilizar en el futuro. La siguiente fase fue la construcción del reactor, una de las premisas era que todos los materiales a utilizar fueran materiales de bajo coste y uso común, tuberías de PVC sanitario y resto de elementos de fontanería.

La siguiente etapa consistió en verificar el correcto funcionamiento del reactor e identificar posibles modificaciones necesarias -como la bomba, que se detectó que no disponía de caudal suficiente como para el funcionamiento como a Moving Bed Biofilm Reactor; problemas con la modificación del flujo para efectuar lavados, generación de espuma y expansión excesiva de lechos de muy baja densidad, han sido otros puntos a mejorar-.

Una vez montado el reactor se inocularon fangos activos procedentes de la estación depuradora de aguas residuales de Alcoy y se mantuvieron en condiciones para la formación del biofilm, ya formado el biofilm se pretende realizar las experiencias necesarias para calcular la cinética de la biodegradación de diferentes sustratos y ser comparado con otros procesos de depuración basados en cultivos en suspensión y biofilms de otra naturaleza.

En un principio se pretendía efectuar experiencias sobre los tres tipos de reactores -SBR, FBR y PBR- para un mismo sustrato y comparar las cinéticas obtenidas. No obstante y debido a la falta de tiempo y que esta es una primera fase del estudio, no ha

sido posible, y se ha realizado la parte de diseño, montaje y seguimiento de la formación del biofilm en la superficie del soporte de relleno.

Para estudiar y mejorar las posibilidades de los métodos de oxidación avanzada se pretende estudiar y caracterizar la depuración de efluentes contaminados mediante el uso de biofilms formados sobre diferentes biosoportos ideados para tal fin. Para llevar a cabo la investigación se ha partido de los diseños de los citados reactores y se pretende estudiar y caracterizar algunos biosoportos disponibles en el mercado así como distintas configuraciones para el reactor y flujos. Es por ello que la primera parte de estudio se ha dedicado al diseño y construcción de un reactor que permita experimentar sobre la formación de biofilm en un soporte de arcilla expandida y al mismo tiempo determinar el procedimiento experimental para el establecimiento y formación del biofilm que mejores resultados ofrece.

En un último punto del estudio se pretendía estudiar las mejores características en cuanto a la resistencia a posibles sustancias tóxicas de los desarrollos bacterianos en biofilms junto con la eficiencia demostrada por el proceso de depuración aerobia mediante reactores de lecho fluidizado a la degradación de compuestos tóxicos acoplando el reactor a un procedimiento de oxidación avanzada.



## 1. EL PROBLEMA DEL AGUA

Sin entrar en profundidad en el tema, y puesto que es un tema que no es desconocido por ninguno de nosotros y, probablemente, a nivel mundial podríamos hacer la misma suposición; podemos asegurar que la correcta gestión de los recursos de que dispone el planeta es una obligación, más que una necesidad, si queremos continuar desarrollando nuestra actividad. Y para ello uno de los recursos más importantes, por no decir el que más, es el agua.

El agua se encuentra presente en todos los lugares de la tierra, Marte e incluso fuera del sistema solar. Su presencia en la corteza terrestre ha permitido el desarrollo de la vida y del ser humano como consecuencia. Dicho desarrollo nos ha permitido establecernos como sociedad e implantar todas las actividades y capacidades que nos definen como a ser humano. Sin ella es imposible pensar en una sociedad como la actual y por ello es un bien, digamos, escaso, o al menos localizado. Ya en el 3000AC se constata la existencia de conflictos armados para disponer del preciado recurso, conflictos que no han dejado de aparecer hasta nuestros días. Antiguamente los conflictos eran por disponer de zonas con manantiales o afloramientos de agua, y enormes esfuerzos se realizaban con el fin de poder transportar el agua a los lugares dónde se necesitaba; acueductos y canalizaciones, minas de agua se construyeron con éste fin. Hoy en día la capacidad humana para extraer agua a grandes profundidades y transportarla a grandes distancias no se puede discutir, pero el problema al que nos enfrentamos es más preocupante...se trata de la poca calidad del agua, de la contaminación de los manantiales y reservas de agua por la actividad humana y aún peor, la presencia de contaminantes resistentes (recalcitrantes o refractarios) y tóxicos en concentraciones muy pequeñas así como que se aportan al medio a una velocidad superior a la que se degradan por procesos de autodepuración.

Al problema de la disponibilidad del agua, se le ha sumado el de la poca calidad de la misma en las zonas donde más se necesita. Así pues en el mundo hay 1100 millones de personas con tremendas dificultades para el acceso al agua potable, y en gran medida la poca calidad de las aguas y la presencia de contaminantes están directamente relacionadas con la actividad humana.

Como elemento clave para el desarrollo industrial, agrícola y humano; en nuestro entorno, el mundo desarrollado, se han establecido mecanismos para mitigar el problema. Ello es lógico si pensamos en la dependencia que tenemos del recurso, cada vez mayor en base a la industrialización alcanzada. No obstante dicho desarrollo ha redundado en la aparición de numerosas sustancias químicas de síntesis, alrededor de 30000, que se utilizan en la CE. La problemática asociada es la dificultad en la caracterización y estudio de éstas así como de los procesos más eficientes y eficaces en cuanto a su eliminación del entorno y la capacidad de tratar efluentes con gran diversidad de contaminantes.

Las primeras regulaciones para controlar los vertidos industriales se aprobaron en los EEUU en 1972 con la “Federal Water Pollution Control Act”, aunque ya en París del siglo XV se prohibió que los carniceros tiraran los restos al río Sena por el insoportable hedor que manaba del río. Más tarde se aprobarían nuevos textos legales complementarios. En España se aprobó en 2002 la Ley 16/2002, de Prevención y Control Integrado de la Contaminación con la que se pretende reducir el vertido de ciertos contaminantes y aplicar sistemas avanzados de tratamiento in situ.

En Europa, existen una serie de Directivas Europeas, la Water Framework Directive, 2000/60/CE ha fijado las bases a nivel de la comunidad para la protección de los recursos hídricos del continente. Con ella se definen las medidas que van a aplicarse a nivel europeo para reducir la contaminación del agua por los contaminantes que suponen un riesgo para el medio acuático. Con la publicación de la Decisión 2455/2001/CE aparecieron las primeras 33 sustancias prioritarias a controlar. Dicha lista se revisa cada cuatro años. Posteriormente se aprobó en 2006 la Directiva de Sustancias Prioritarias. Relacionado con todo esto está el registration, evaluation, authorisation & restriction (REACH), procedimiento integrado a nivel europeo con el que se pretende mejorar el control de las sustancias químicas, el REACH obliga a los fabricantes y/o importadores de productos químicos a evaluar los riesgos que el uso éstos puede llevar y por lo tanto a adoptar las medidas necesarias para afrontar los riesgos mencionados (es la propia industria la que ha de caracterizar los productos químicos empleados y no agencias estatales).



## 2. OBJETIVOS

El principal objetivo del proyecto objeto de esta Memoria está en conexión con futuras investigaciones en el campo de la depuración de aguas residuales encaminadas al estudio de distintos rellenos y configuraciones del reactor trabajando con biofilms bacterianos.

Es por ello que como objetivo inicial está la construcción de un reactor que responda a las necesidades identificadas. Trabajar en condiciones aerobias con una cantidad de agua residual que permita una manipulación sencilla y que a la par ofrezca resultados sólidos que puedan extrapolarse a reactores que no sean a escala experimental. El resto de requisitos identificados a priori;

- poder experimentar el resultado de varios rellenos.
- modificar entre recirculación en sentido ascendente y descendente.
- que pueda simular el Moving Bed Biofilm Reactor, los reactores de lecho fijo y fluidizado.
- que el diseño permita combinar el reactor a sistemas de tratamiento de efluentes previos o posteriores.
- poder ser instalado en el exterior

Una vez construido se tendrá que verificar que el biofilm se ha formado sobre los soportes, que posee capacidad para degradar la carga orgánica del agua residual y las condiciones de formación más favorables, pH, necesidad de añadir disoluciones minerales, alimento durante el desarrollo...

Finalmente, y aunque no constituye un objetivo, todo el montaje y estudio de la funcionalidad del reactor está encaminado a futuras investigaciones sobre biofilms y el posible acoplamiento a sistemas de oxidación avanzada de contaminantes tóxicos o inhibidores de la actividad bacteriana.

### 3 DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES

#### 3.1 INTRODUCCIÓN

La depuración de aguas residuales puede separarse en diferentes tipos según los métodos empleados; ello no implica que sean autónomos sino independientes en el tiempo. Normalmente el tratamiento de un agua residual, ya sea de origen urbano o industrial necesita de varios pasos antes de ser devuelta al curso hídrico.

Como este trabajo no pretende dar una descripción profunda de todos los métodos, sino que trata específicamente sobre el intento de hibridar dos de los tratamientos biológicos existentes, no se va a entrar en detalle en la descripción de cada uno, y sólo se pretende ofrecer una visión global a fin de saber situar el tratamiento estudiado dentro de una estación depuradora de aguas residuales (EDAR) .

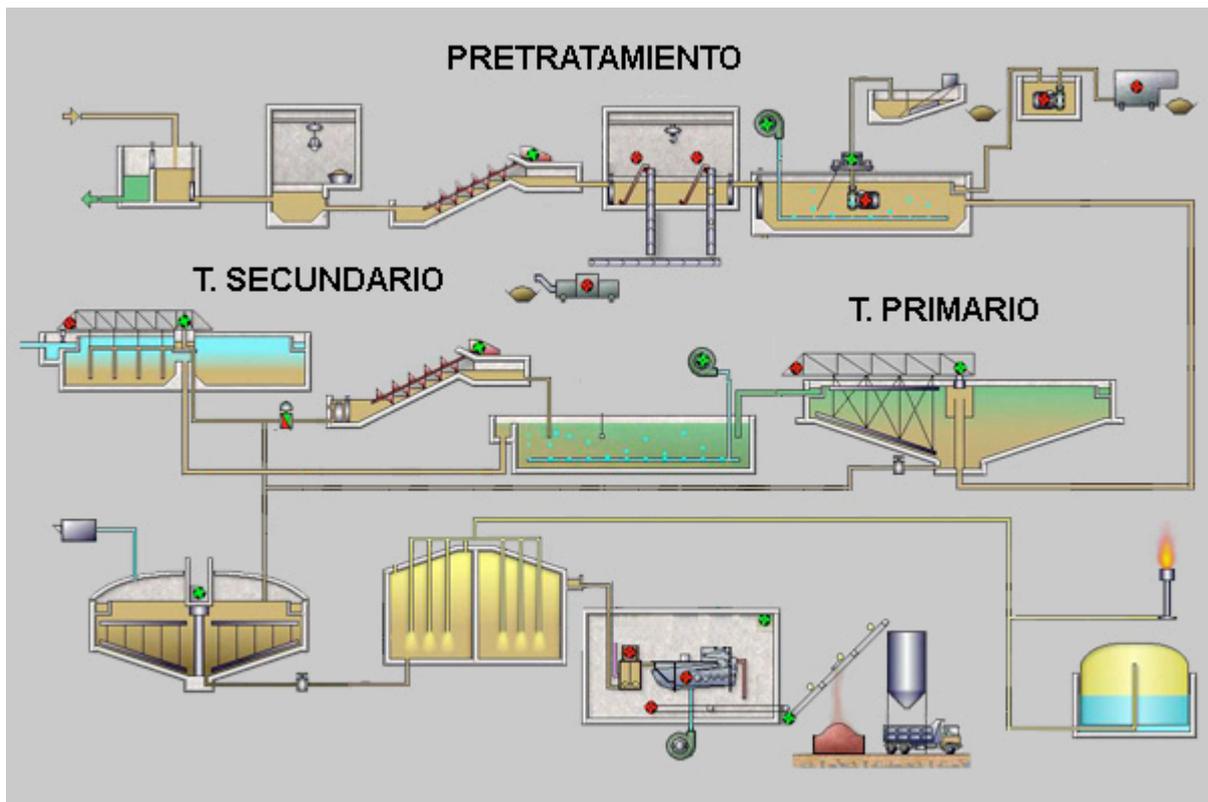


Figura 1 Diagrama básico de un sistema de una EDAR (Ingeniería de aguas Residuales, wikibooks, <http://es.wikibooks.org>)

La estación de depuración de aguas residuales la podemos entender como aquella instalación de tipo industrial dedicada a la modificación de las características de un influente de origen diverso, ya sea mediante métodos físicos, químicos, biológicos o la



combinación de varios o todos ellos, con la intención de que el caudal de agua residual, una vez tratado pueda reutilizarse o verterse al medio.

Basándonos en la definición dada, podemos ver la gran cantidad de tipos de EDAR existentes en función tanto del efluente a tratar como de las características que se pretende posea una vez tratado, o de los procesos físicos, químicos o biológicos y sus combinaciones a emplear.

Para explicar el funcionamiento de una EDAR podemos distinguir entre los procesos que en ella tienen lugar en función del momento en pretratamiento, tratamientos primarios, secundarios y terciarios o avanzados.

Pretratamiento sería la parte del proceso total de depuración en que se realizan las operaciones necesarias para dejar el efluente libre de objetos de tamaño grande mediante cribas y filtros grandes situados antes de la entrada al tanque colector de la EDAR.

Tratamiento primario es el que engloba las operaciones de tipo básicamente físico o fisicoquímico destinadas a la sedimentación de partículas presentes, ajuste del pH, retirar las grasas, etc... existen posibles mejoras a estos tratamientos usando productos químicos, como puede ser el uso de agentes quelantes.

El tratamiento secundario, elimina las partículas coloidales y similares y esta destinado a reducir la materia orgánica de agua. Podemos distinguir entre tratamiento aerobio y anaerobio. El tratamiento anaerobio consiste en reacciones de fermentación y digestión y suele encontrarse en tratamientos de aguas con gran contenido de materia orgánica y una DBO muy elevada que requerirían de un aporte demasiado elevado de oxígeno para llevar a cabo una oxidación aerobia y por lo tanto se encarece el coste del tratamiento.

El proceso secundario más habitual es un proceso biológico de tipo aerobio en el que se facilita que bacterias (y otras formas de vida como se verá más adelante) digieran la materia orgánica que llevan las aguas y la reduzcan. Este método de depuración se empezó a utilizar a principios del siglo pasado en Inglaterra, y no ha cambiado mucho desde sus inicios. De un modo muy esquemático se trata de la reducción de la carga orgánica del agua mediante el uso que hacen de ella la bacterias cuando la utilizan para su desarrollo, no solo en forma de energía sino de protoplasma, paredes celulares, excreciones mucosas... todos estos productos constituyen el alimento de otros organismos

constitutivos del fango activo. Esto es importante, puesto que demuestra que el fango activo no es una comunidad formada no solo por bacterias, sino por multitud de formas de vida que son las que finalmente propician el mantenimiento del ecosistema formado y por ende la depuración del agua residual.

El proceso se suele hacer llevando el efluente del tratamiento primario a tanques en los que se mezcla con agua cargada de lodos activos. Estos tanques tienen sistemas de burbujeo o agitación que garantizan condiciones aerobias para el crecimiento de los microorganismos. La actividad microbiana se mantiene a altos niveles mediante la reintroducción de la mayor parte del fango activo, por recirculación desde el tanque de sedimentación secundario (u otras procedencias en función del diseño).

Mientras el agua residual, junto con los fangos activos, se encuentran en el tanque de aireación se produce el desarrollo y crecimiento vigoroso de los microorganismos heterótrofos (la naturaleza heterogénea del sustrato permite el desarrollo de diferentes poblaciones bacterianas heterótrofas).

En las aguas residuales no tratadas predominan las bacterias en suspensión, pero durante el tratamiento en el tanque de aireación, disminuye su número. Al mismo tiempo, se produce un aumento muy elevado de las bacterias asociadas a los flóculos (*Casida 1968; Pike y Curds 1971*). La diversidad y densidad de bacterias en los lodos activos hace de éste un material muy popular como inóculo de diversos cultivos de enriquecimiento. En la tabla siguiente se muestran recuentos bacterianos típicos totales y viables en diversas etapas del tratamiento de aguas residuales.

Fase	Recuento de Bacterias				
	En muestras (nº/mL)		En Biomasa (nº/mL)		% Bacterias viables
	Total	Viables	Total	Viables	
Aguas residuales sedimentarias	6,8 e8	1,4 e7	3,2 e 12	6,6 e10	2,0
Líquido del fango activo	6,6 e9	5,6 e7	1,4 e 12	1,2 e10	0,85
Limos de los filtros	6,2 e10	1,5 e9	1,3 e12	3,2 e10	2,5
Efluentes Secundarios	5,2 e7	5,7 e5	4,3 e12	4,7 e10	1,1
Efluentes terciarios	3,4 e7	4,1 e4	3,4 e12	4,1 e9	0,12

*Fuente: Pike y Curds 1971, extraído de Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental.*



Durante el periodo de tratamiento en el tanque de aireación, se mineralizan parte de los sustratos orgánicos disueltos. La mezcla se mantiene en el tanque durante 5-10h y aunque no se mantiene el tiempo necesario para la oxidación total de la materia orgánica presente, mucha de ella queda capturada en el flóculo formado. Otra parte, como hemos dicho, se transforma en biomasa microbiana. En la fase avanzada de oxigenación, la mayor parte de la biomasa se encuentra asociada a flóculos que pueden extraerse por sedimentación. Las características de la sedimentación del flóculo serán críticas para su eliminación.

Una parte del fango sedimentado se recircula para volverlo a inocular, pero el exceso de fango ha de ser tratado, ya sea por incineración, o mediante digestión anaerobia o compostaje.

El sistema es eficaz y flexible y puede resistir variaciones considerables de flujo y concentración del efluente. Como se ha indicado, se utiliza ampliamente para el tratamiento de efluentes domésticos e industriales. No obstante, produce generalmente un gran volumen de fango, que ha de eliminarse por otros medios. Posteriormente se conduce este líquido a tanques cilíndricos, con sección en forma de tronco de cono, en los que se realiza la decantación de los lodos. Separados los lodos, el agua que sale contiene muchas menos impurezas y la carga orgánica se reduce en cerca de un 95%. También se consigue una reducción drástica del número de patógenos intestinales en las aguas residuales (antes de tratamientos terciarios destinados a la desinfección). Los efectos combinados de competencia, adsorción, depredación y sedimentación logran tal reducción.

La degradación anaerobia se produce en los llamados digestores de fangos, que son tanques cerrados que evitan la entrada de aire y por lo tanto de oxígeno a fin de que la carencia del mismo impida que proliferen bacterias aerobias que entren en competencia con los microorganismos anaerobios. Los procesos de digestión anaerobia son más complejos que los aerobios y requieren de la colaboración de multitud de microorganismos en ellos los componentes son atacados por las proteasas, polisacaridas y lipasas y se generan componentes orgánicos solubles, ya solubilizados fermentan, y se convierten en ácidos grasos, hidrógeno y  $\text{CO}_2$ . Los ácidos grasos se degradan a acetato,

H y CO<sub>2</sub> que constituyen el sustrato para que las bacterias metanogénicas que lo transforman en CH<sub>4</sub>.

Finalmente está el tratamiento terciario o avanzado que consiste en procesos físicos y químicos especiales con los que se consigue limpiar las aguas de contaminantes concretos: fósforo, nitrógeno, minerales, metales pesados, virus, compuestos orgánicos, etc. Es un tipo de tratamiento más caro que los anteriores y se usa en casos más especiales: para purificar desechos de algunas industrias, especialmente en los países más desarrollados, o en las zonas con escasez de agua que necesitan purificarla para volverla a usar como potable, en las zonas con peligro de eutrofización en las que los vertidos deben ser bajos en nitrógeno y fósforo, etc. El tratamiento terciario es el más completo para tratar aguas residuales que contienen contaminantes recalcitrantes. En función del compuesto recalcitrante podemos encontrar diferentes tratamientos que permitan degradarlo.

### 3.2 TRATAMIENTO AEROBIO

Es el más usual en nuestra zona y es viable porqué muchos de los compuestos que se encuentran en las aguas residuales son susceptibles de ser oxidados por vía aerobia (*Stephenson y Blackburn, 1997*). Las bacterias heterótrofas oxidan la materia orgánica hasta mineralizarla a CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O y energía. En los cultivos discontinuos, y agotada la materia orgánica disponible empieza el consumo endógeno, en el cual la propia biomasa se utilizan como fuente de materia orgánica.

A parte de la biodegradación de materia orgánica, algunas bacterias autótrofas son capaces de metabolizar los compuestos inorgánicos presentes en el medio. El compuesto inorgánico más importante es el amonio, que interviene en el proceso de la nitrificación

El proceso de nitrificación puede tener lugar simultáneamente con la degradación de la materia orgánica, pero la velocidad de crecimiento de las bacterias nitrificantes autótrofas es menor que el de las bacterias heterótrofas por lo que la nitrificación suele ser la etapa límite en el tratamiento biológico.

La principal desventaja del tratamiento aerobio es la elevada producción de fangos, que se convierten en un residuo que debe gestionarse adecuadamente y muchas veces se ha de estudiar cada caso en concreto (*Hospido y cols, 2004*) porque pueden contener



sustancias tóxicas presentes en el afluente a tratar como metales pesados. El tratamiento que sigue el fango se compone de procesos de espesado, deshidratación, estabilización y tratamiento principal (*Suh y Rousseaux, 2002*) para pasar a ser incinerado y depositado en vertederos y otros destinos posibles.

### 3.3 TRATAMIENTO ANAEROBIO

El tratamiento bajo condiciones anaerobias degrada la materia orgánica mediante una serie de reacciones bioquímicas que conducen a la producción de  $\text{CO}_2$  y  $\text{CH}_4$ . Normalmente se utiliza para la digestión de los fangos producidos en la fase de degradación aerobia.

Ahora bien, también puede ser utilizado para el tratamiento biológico general de aguas residuales con elevada carga orgánica (*Stephenson y Blackburn*).

Frente al tratamiento aeróbico convencional de los tanques de aireación posee la ventaja de no generar tantos fangos. Pero presenta ciertos inconvenientes que lo han mantenido relegado frente a la vía aerobia. Las bacterias anaerobias son más sensibles que las aerobias, presentan mayor sensibilidad a los cambios de pH y T en el entorno y también son más sensibles a posibles sustratos inhibidores del crecimiento bacteriano o tóxicos. Aunque esto último está empezando a dejar de ser un problema y se están realizando investigaciones encaminadas a la gestión de aguas residuales con compuestos tóxicos como fenoles mediante tratamientos biológicos en condiciones anaerobias

### 3.4 SISTEMAS DE DEPURACIÓN EN FUNCIÓN DEL SOPORTE MICROBIANO

Si analizamos los sistemas basados en la biomasa para la depuración de aguas residuales podemos diferenciarlos en base a dos criterios: uno es si la depuración es en medio aeróbico o anaeróbico; otro se basa en la distinción en función del medio en el que se encuentra la biomasa, así encontramos los medios de células en suspensión y los que se basan en la formación de una película microbiana sobre soportes destinados a ese fin

Los métodos de depuración de aguas residuales mediante células en suspensión son los que se basan en la formación de biomasa en suspensión en el seno del agua residual, se caracterizan porque la mayor parte de la biomasa se encuentra formando flóculos, agregados de materia orgánica y biomasa. Entre los métodos basados en células

en suspensión encontramos el método basado en fangos activos o las lagunas de aireación.

Como hemos dicho en estos, las bacterias se encuentran individualmente en suspensión libre, así como también agrupadas en flóculos. Dichos flóculos constan principalmente de biomasa microbiana cementada por diferentes excreciones mucosas bacterianas, como las producidas por la bacteria *Zooglea ramigera* y similares. El tratamiento por fangos activos es el más difundido para el tratamiento de aguas residuales domésticas e industriales. Actualmente se está investigando y utilizando el post-tratamiento mediante fangos activos del efluente procedente de la fermentación anaerobia, ofreciendo mejoras como la menor producción de fango o consumo energético.

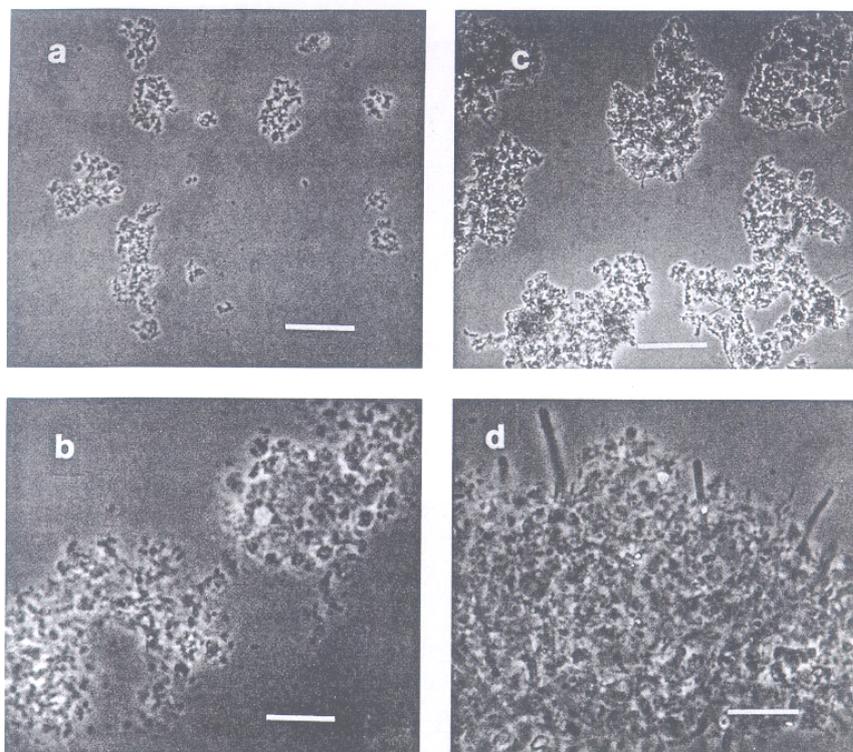
El proceso de reducción de la materia orgánica ocurre cuando un grupo de células microbianas, mediante una serie de reacciones bioquímicas, usa carbono y energía para el crecimiento celular y el mantenimiento de la célula. En función de la fuente de carbono que se utiliza se distingue entre organismos heterótrofos y autótrofos, los autótrofos obtienen el carbono a partir del  $\text{CO}_2$  de la atmósfera; los heterótrofos necesitan que el carbono proceda de otras fuentes. También la fuente de obtención de energía diferencia a los organismos heterótrofos y autótrofos; mientras que la fuente de obtención de energía para el mantenimiento de las funciones en los heterótrofos es la oxidación de materia orgánica o la fermentación de la misma, las células autótrofas pueden además utilizar la luz de sol como fuente de energía mediante procesos similares a la fotosíntesis.



## 4. EL FANGO ACTIVO

### 4.1 ECOLOGÍA MICROBIANA DEL FANGO ACTIVO

La vía aerobia contempla la actividad conjunta de muchos microorganismos que degradan la materia orgánica de una manera conjunta y mediante una serie de complejos mecanismos de degradación. El resultado del acoplamiento entre los procesos de degradación de los diferentes microorganismos tanto facultativos y anaerobios presentes es sinérgico yendo más allá que la suma de los mismos procesos por separado (*van Rijn y cols., 2006*).



*Distintos tipos de flóculos de fango activo. a) y b) flóculos iniciales y de pequeño tamaño, c) y d) flóculos con presencia de bacterias filamentosas. Fuente Microorganisms And Their Role In The Activated-Sludge Process*

Una vez introducida el agua residual en el reactor las bacterias hidrolizantes y fermentantes transforman los lípidos, polisacáridos, proteínas y otros compuestos orgánicos complejos en ácidos grasos volátiles, alcoholes, dióxido de carbono, amonio e hidrógeno. Posteriormente las bacterias acetogénicas, productoras de hidrógeno convierten los productos anteriores en  $H_2$ ,  $CO_2$ , ác. acético, metanol, etc....

En la tercera parte y final, las bacterias metanogénicas convierten el  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2$  en  $\text{CH}_4$ . Otras familias de bacterias tanto heterótrofas como autótrofas se encargan de la reducción de los compuestos inorgánicos de azufre y nitrógeno; reducen los sulfatos a sulfuros y los nitratos a nitritos y a  $\text{N}_2$  molecular, éste paso requiere condiciones anaerobias.

En lo que respecta al diseño del proceso, los procesos anaerobios requieren un tanque totalmente estanco que impida, o limite de manera efectiva, la entrada y difusión de oxígeno a su interior, además se tiene que controlar mejor la temperatura y el pH por la mayor sensibilidad de las bacterias. Los intervalos óptimos de temperatura se sitúan entre los  $30\text{-}38^\circ$  para las bacterias mesófilas y los  $49\text{-}57^\circ$  para las termófilas y el pH no puede descender en gran medida, si se acumulan muchos ácidos en el medio la fase metanogénica se ve inhibida, llegando incluso a detenerse (*Stephenson y Blackburn, 1997*).

En resumen, la mayor ventaja, a parte de la menor cantidad de fangos generados, reside en que al no tener que introducir oxígeno mediante difusores o agitación forzada se necesita menor energía (*O'Neill y cols. 2000*). Entre las desventajas; la necesidad de mayor tiempo de residencia para las mismas eficiencias. Otra desventaja es que si se quiere aumentar la velocidad a valores razonables tenemos que trabajar en un rango de temperaturas superior - lo que supone un incremento en el gasto energético, aunque inferior al de la vía aerobia-. También los fangos que se producen son más difíciles de sedimentar lo que requiere mejores diseños en la etapa de clarificación. Por último están los problemas de posible insalubridad y molestias por el ácido sulfhídrico  $\text{H}_2\text{S}$  y derivados.

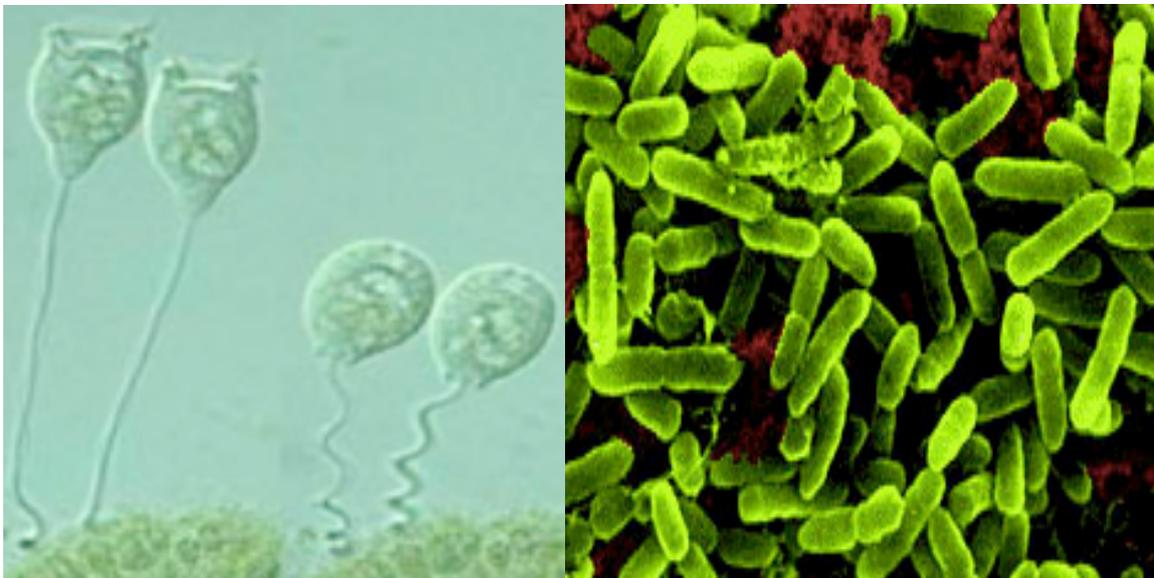
#### 4.2 MICROBIOLOGÍA DEL FANGO ACTIVO

Cuando se habla de fango activo, no se hace referencia a un único tipo de especie bacteriana, ni al reino al que pertenece. Cuando miramos un fango activo a través del microscopio óptico observamos un ecosistema formado por infinidad de seres vivos, incluso virus (en función de la idea de organismo vivo que tengamos) el sistema de depuración por fangos activos se convierte entonces en un ecosistema artificial, en tanto en cuanto se ha creado por la intervención humana, en donde los organismos vivos están representados con mayor o menor abundancia, por grupos de microorganismos que



constituyen comunidades complejas interrelacionadas entre sí y con el medio físico que las rodea en la planta depuradora.

En el fango activo predominan los bacilos Gram negativos, siendo los del tipo coliforme (*Escherichia*), *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium* y *Zooglea*, los que suelen encontrarse con mayor frecuencia. Otros organismos que podemos encontrar son los *Micrococcus*, *Arthrobacter*, diversos corineformes y micobacterias, junto con *Sphaerotilus* y otras bacterias filamentosas grandes. Normalmente los hongos y levaduras filamentosos se encuentran en bajo número, y desempeñan un papel secundario en lo referente a la depuración intrínseca del agua. Los protozoos están representados por los ciliados, junto con los rotíferos, representan los depredadores de bacterias más activos del ecosistema. La mayoría de los protozoos ciliados, como puede ser la *Vorticella*, se alimentan por filtración y se adhieren al sustrato. Los flóculos son demasiado grandes como para que los pueda absorber los ciliados y rotíferos; por lo tanto podemos considerarlo como un mecanismo de defensa de las bacterias, aunque no se muestra tan eficaz como los biofilms que se forman en la depuración de aguas residuales mediante películas bacterianas.



*Vorticella* Y *Pseudomonas* Sp. Fuente: Observación Microscópica De Fangos Activados

Los microorganismos patógenos que se encuentran en el agua residual se reducen mediante la depredación por ciliados, rotíferos y *Bellovibrio* que es probablemente indiscriminada, y afecta tanto a patógenos como a heterótrofos no patógenos. No obstante, los patógenos crecen poco o nada en las condiciones que predominan en el

tanque de aireación, mientras que los heterótrofos no patógenos proliferan vigorosamente, por lo que la depredación no afectan tanto.

Otras bacterias pueden dar problemas, como los asociados a la escasa sedimentación por el llamado “esponjamiento”, entre ellas bacterias filamentosas, como la *Sphaerotilus*, *Beggiatoa*, *Thiothrix* y *Bacillus*, sí como de hongos filamentosos *Geotrichum*, *Cephalosporium* y *Penicillium*.

#### 4.3 CINÉTICA DE LA DEGRADACIÓN BIOLÓGICA

Las bacterias pueden reproducirse por fisión binaria , sexual o por gemación. Por lo general lo realizan por fisión binaria , es decir, por división, obteniendo de la célula original dos células idénticas. El tiempo empleado varia en función a diversos factores, pero puede llevar de 20 minutos a días.

La forma general de producirse el crecimiento en un cultivo discontinuo se muestra en la figura siguiente, obtenida representando el logaritmo de la concentración de células viables en función del tiempo. Podemos distinguir diferentes fases de crecimiento celular (*Panikov, 1995*) en función del autor se distinguen desde 3 a 6 fases Con el cálculo de la diferentes pendientes, obtenemos constante de la velocidad para la cinética del crecimiento bacteriano para cada fase. Si observamos la gráfica obtenemos podemos diferenciar las siguientes fases:

Fase de adaptación o jet lag: Representa el tiempo necesario por las bacterias para adaptarse al nuevo medio de cultivo. Inmediatamente después de inocular el cultivo no se observa crecimiento alguno, prácticamente la tasa de crecimiento es cero. En esta fase del crecimiento las células se están adaptando al nuevo medio en el que se encuentran, mediante la síntesis de las enzimas y componentes estructurales necesarios. La duración es muy variable, y normalmente se prolongará durante más tiempo en función de cómo de grande ha sido el cambio del entorno, del medio de cultivo.

Fase de aceleración del crecimiento: Una vez las células han sintetizado las enzimas y componentes estructurales necesarios para el nuevo medio de cultivo, la velocidad de crecimiento de células viables aumenta pero se mantiene por debajo de la velocidad específica de crecimiento máxima.



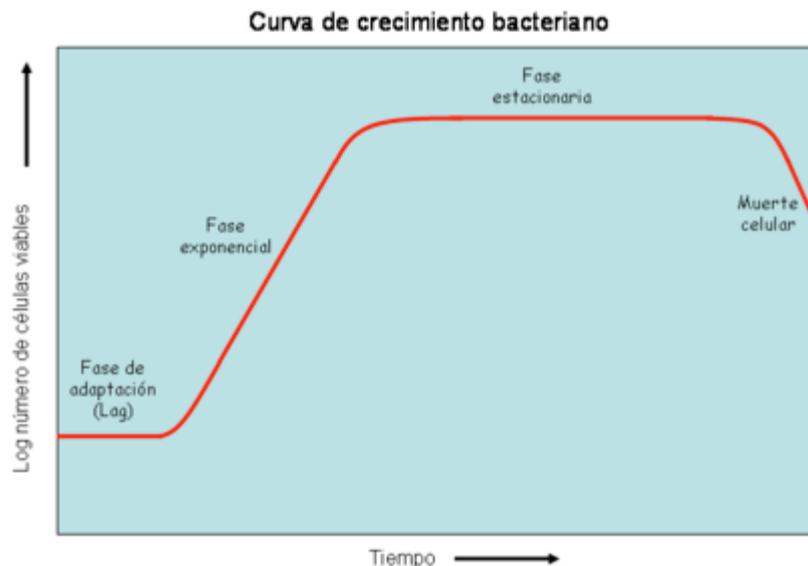
Fase de crecimiento exponencial. Es cuando se alcanza la mayor velocidad de crecimiento, la velocidad específica de crecimiento máxima.

Fase de desaceleración. Cuando empiezan a escasear los nutrientes, se acumula algún producto que inhiba el crecimiento bacteriano o se produce algún cambio en el entorno físico-químico el crecimiento se realentiza.

Fase estacionaria. Se caracteriza porque no hay cambio alguno en el recuento de células viables. No se produce crecimiento alguno, y por lo tanto la cantidad de biomasa permanece constante.

Fase de declinación. El recuento de células viables empieza a disminuir, la pendiente que observamos en la gráfica se vuelve negativa y disminuye la velocidad de crecimiento.

Fase endógena o muerte. Las células mueren, y la población disminuye.



*Curva característica del desarrollo bacteriano. Se distinguen las fases por las pendientes y las zonas de transición. Fuente <http://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>*

#### 4.3.1 EFECTO DE LA TEMPERATURA Y PH

Como hemos nombrado anteriormente, la velocidad de crecimiento de las bacterias se ve influida por muchos factores. Entre ellos y dentro de los más importantes están la temperatura del medio y el pH.

Para todos los microorganismos hay una temperatura óptima de crecimiento. Partiendo de una temperatura a la que se detiene el metabolismo celular, conforme aumenta las reacciones de la célula son más rápidas y se acelera el crecimiento celular. Ahora bien, a partir de cierta temperatura las proteínas empiezan a desnaturalizarse y alcanzada la temperatura óptima empieza a disminuir la velocidad. En función de las temperaturas óptimas de crecimiento se distingue entre tres grupos, microorganismos psicrófilos, mesófilos y termófilos, de menor temperatura a mayor.

Clasificación	Rango temperaturas de crecimiento óptimo
Psicrófilos	14°-20° C
Mesófilos	28°-37° C
Termófilos	50°-77° C

*Clasificación de microorganismos por temperaturas. Fuente: Ecología microbiana y microbiología ambiental.*

El pH también es importante, la mayoría de microorganismos se desarrollan adecuadamente en medios con pH neutro, pero al igual que con la temperatura hay microorganismos adaptados a pH ácido y otros a básico. Atendiendo a la misma clasificación que con la temperatura distinguimos microorganismos acidófilos, neutrófilos y alcalófilos, de pH menor a mayor. La capacidad de adaptarse a variaciones de pH se consigue mediante un sistema de transporte de protones localizado en la membrana citoplasmática, ahora bien si la variación de pH es grande el crecimiento se detiene porque éste mecanismo consume mucha energía. Otro efecto de la variación del pH es que la modificación del medio podría afectar a la composición y la naturaleza microbiana, al disociarse en ácidos y bases y esto afecta a los fenómenos de floculación.

#### 4.3.2 MODELOS CINÉTICOS APLICABLES AL CRECIMIENTO BACTERIANO

A fin de estudiar los parámetros cinéticos de los cultivos de bacterias podemos utilizar diferentes modelos matemáticos así como cultivos en continuo o discontinuos. Los cultivos discontinuos son aquellos en los que se suministra sustrato de una manera más o



menos continua en el tiempo, ofrecen mejores resultados cuando deseamos calcular la constante de Monod o de saturación. Los cultivos discontinuos, en los que se limita el sustrato para estudiar todas las fases del desarrollo celular descritas anteriormente, son más adecuados para el cálculo de la velocidad específica de crecimiento máxima mientras que para los cultivos continuos las posibles mutaciones que aparecen en largos lapsos de tiempo desaconsejan este tipo de cultivo.

Monod: Permite determinar el coeficiente de crecimiento para una determinada concentración de sustrato.

$$\mu = \hat{\mu} \frac{S}{K_s + S}$$

where  $\mu$  = specific growth rate coeff.  
 $\hat{\mu}$  = maximum growth rate coeff.  
 $S$  = concentration of limiting nutrient  
 $K_s$  = half-saturation coeff.

*Modelo matemático Monod*

Andrews: Es el modelo más sencillo aplicable al modelado del crecimiento bacteriano en un entorno con el sustrato como factor limitante del crecimiento por fenómenos de inhibición. Es un modelo aplicable para casos en que las bacterias tienen que degradar sustratos con posibles sustancial inhibidoras del crecimiento, como el caso de aguas con compuestos tóxicos o el estudio de los sistemas de tratamiento avanzados con procesos de depuración biológica acoplados. Se basa en el modelo de Monod pero añadiendo un factor que represente la inhibición,  $K_i$ .

#### 4.3.3 MODELOS DE CRECIMIENTO SOBRE VARIOS SUSTRATOS

Fuera de las condiciones de laboratorio y experimentales, es muy difícil encontrar situaciones reales en las que el efluente a tratar conste solo de un tipo de sustrato a degradar. Las aguas residuales se componen de multitud de compuestos químicos tanto orgánicos como inorgánicos si recordamos las más de 30000 sustancias químicas que se consumen en Europa podemos hacernos una idea de lo difícil que será encontrar un efluente con un solo contaminante. En la naturaleza se pueden encontrar en entornos extremos como las aguas sulfurosas o entornos volcánicos marinos.

Para los cálculos de crecimiento sobre varios sustratos se puede utilizar el modelo de Monod o el de Andrews para cada uno de los sustratos que pueden encontrarse siempre que el consumo de éste no afecte a la velocidad de consumo de otro. La velocidad específica de crecimiento máxima sería la suma de las velocidades específicas calculadas.

Como alternativa se puede utilizar el modelo Sum Kinetics with Interaction Parameters (SKIP) -modelo de suma de cinéticas con parámetros de interacción-. Refleja el grado en que el consumo de un sustrato por microorganismos afecta a la degradación de otro sustrato presente en el medio de cultivo. El modelo fue propuesto en 1977 por Yoon y colaboradores, y se ha utilizado por otros autores para estudios como el de la degradación de mezclas de diferentes sustratos inhibidores del crecimiento, por poblaciones bacterianas de *Pseudomonas Putida*.



## 5. BIOFILMS BACTERIANOS

Ya por los años '70, los microbiólogos plantearon que, probablemente, la mayor parte de las bacterias en la Naturaleza existía en estado de biofilm.

Aunque están formados por las mismas bacterias, las investigaciones sugieren que el comportamiento de las mismas difiere del mostrado cuando crecen en flóculos. Cuando las bacterias pasan a formar parte del biofilm, aunque no pueden alterar su genética, parece ser que utilizan otros pares genéticos por lo que se altera su bioquímica; por ejemplo, la *pseudomonas aeruginosa* una vez adherida sobre una superficie es capaz de producir una secreción mucosa de alginato para cementar su unión.

Entre el 30 y 40% de las proteínas presentes en la pared celular se ven alteradas versus la composición cuando se encuentran libres.

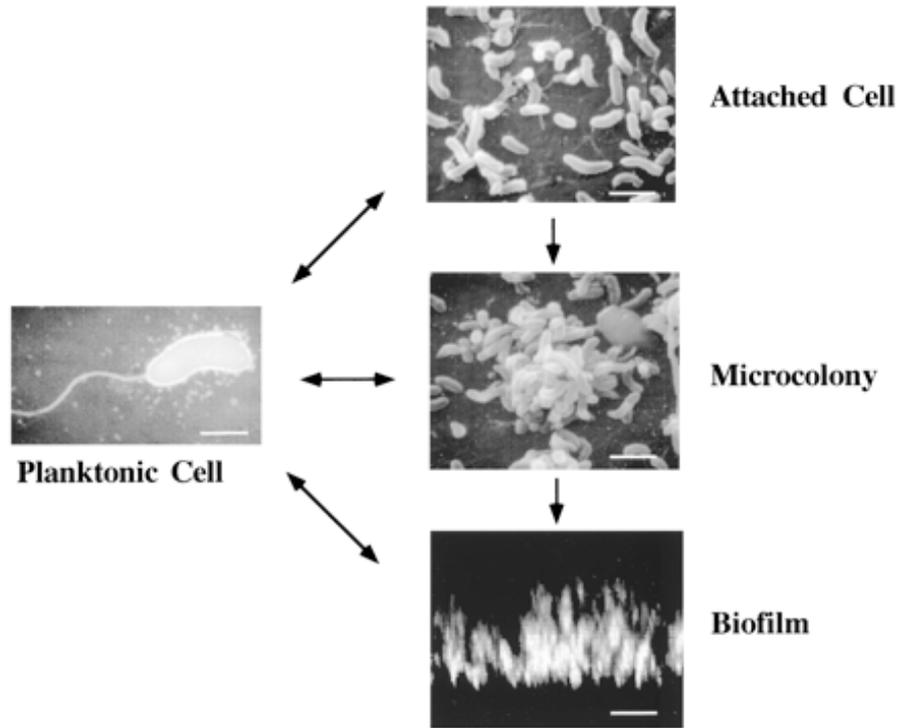
Está demostrado que las bacterias que forman biofilms son más resistentes a cambios en carga orgánica, pH, temperatura y sustancias tóxicas o inhibidoras del crecimiento bacteriano. Lo que es un problema para muchas industrias es un hecho que puede favorecer el uso de biofilms para procesos de depuración de aguas residuales con residuos tóxicos o acoplarlos a métodos de oxidación avanzada para abaratar costes.

Biofilms sometidos a cloro y otros desinfectantes pese a haber desaparecido aparentemente, se han vuelto a desarrollar pasado un tiempo y ya sin el agente oxidante. Además se ha comprobado que las bacterias formadoras del biofilm segregan mayor cantidad de matriz polimérica cuando se las ha expuesto a sustancias tóxicas como mecanismo de defensa.

La protección se logra por la dificultad que tienen las sustancias tóxicas para penetrar en el biofilm, además la propia matriz retiene los agentes tóxicos y caso que sean sustancias muy oxidantes amortigua el efecto porque éstas tienen que oxidarla.

Las bacterias presentes en el biofilm se acercan a la superficie a colonizar y se adhieren a ella mediante atracciones electroestáticas y físicas. Experiencias llevadas a cabo con *Pseudomonas aeruginosa* han mostrado que en 30 segundos ya se han adherido a la superficie de acero electropulido. Algunas bacterias se fijan a la superficie de manera reversible, pero otras se fijan irreversiblemente, son estas bacterias pioneras las que empiezan a segregar polisacáridos que forman la matriz polimérica extracelular que captu-

ran las partículas orgánicas en su estructura. Colonizada ya la superficie empiezan a adherirse al biofilm colonizadores secundarios. Estos colonizadores se alimentan de la materia orgánica presente así como de subproductos de otras bacterias formadoras del biofilm.



*Distintas fases en la formación de un biofilm a partir de una célula planctónica. [www.b.asm.org](http://www.b.asm.org)*

Cuando el biofilm se ha formado constituye una auténtica comunidad heterogénea de bacterias, constituyendo un sistema sinérgico. Los productos de deshecho de unas bacterias constituyen el alimento de otro nicho, e incluso moléculas de difícil metabolización son degradadas gracias a los diferentes tipos de enzimas segregados por cada comunidad. Los gradientes químicos e iónicos entre distintas zonas del biofilm permiten el transporte de nutrientes y deshechos en su interior.

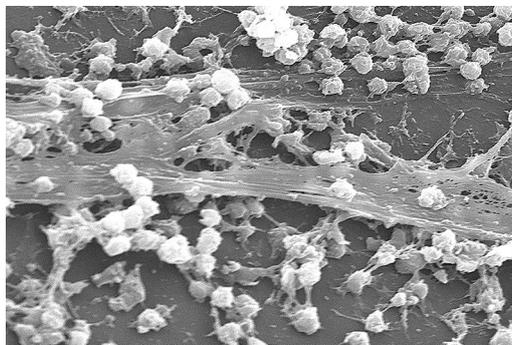
La madurez de un biofilm puede alcanzarse a las pocas horas de exponer el biosoporte o requerir semanas. Los factores enumerados para el crecimiento de las bacterias en suspensión, pH, temperatura, concentración de nutrientes...

Cuando ha llegado a la madurez se puede propagar hasta otros lugares mediante el desprendimiento de partes del mismo. (*Paula H. Dreeszen*).



## 5.1. COMPOSICIÓN Y ARQUITECTURA

Toda comunidad microbiana desarrollada en biofilm es única en su género, aunque algunos atributos estructurales pueden, generalmente, ser considerados universales. El término biofilm es, en cierto modo, un nombre inapropiado, puesto que los biofilms no constituyen un depósito superficial de una monocapa continua. Los biofilms están estructurados principalmente por grandes colonias de bacterias incrustadas en una matriz polimérica extracelular o glicocálix. Las células bacterianas, que componen el 15%-20% del volumen, no se dividen en el interior de los biofilms, lo cual podría atribuirse al hecho de adoptar un fenotipo alterado, diferente al de las mismas bacterias en estado de libre flotación. La matriz está muy hidratada debido a que incorpora grandes cantidades de agua dentro de su estructura, llegando este elemento a representar hasta el 97% de ésta. Además de agua y gérmenes, la matriz está formada por exopolisacáridos (EPS), los que constituyen su componente fundamental, producidos por los propios microorganismos integrantes. En menor cantidad se encuentran otras macromoléculas como proteínas, ácidos nucleicos, y diversos productos que proceden de la lisis bacteriana. El conjunto de polisacáridos, ácidos nucleicos y proteínas se conocen bajo el nombre de sustancias poliméricas extracelulares (SPE). En la matriz también puede hallarse materiales no bacterianos, tales como cristales de sales minerales, partículas de corrosión y/o de sedimento, según sea el medioambiente en el cual se desarrolla el biofilm. Además, los EPS pueden estar asociados con iones metálicos y cationes bivalentes. Pueden tener carga neutra o carga polianiónica, según el tipo de exopolisacárido, lo que les permitiría interactuar con distintos antimicrobianos, de forma tal que estos pueden quedar atrapados en la matriz sin capacidad para actuar sobre las bacterias. (*Julio Nazar C*).



*Biofilm de streptococcus aureus*

La producción de EPS está influida por la calidad nutricional del medioambiente. Se ha observado que un incremento en la concentración de nutrientes está correlacionado con un aumento en el número de células bacterianas adheridas. Además, una disponibilidad excesiva de carbono y/o limitación de nitrógeno, potasio o fosfato promueve la síntesis de EPS.

La arquitectura de la matriz no es sólida. Las bacterias biofilm viven en torreones celulares que se extienden en forma tridimensional desde la superficie a la cual están adheridas. Estos torreones están compuestos por microcolonias de diferentes células bacterianas, tanto aeróbicas como anaeróbicas, englobadas por exopolisacáridos, y separadas unas de otras por espacios intersticiales huecos, llamados canales de agua, que permiten el flujo de líquido y actúan como un sistema circulatorio primitivo para el transporte y difusión de nutrientes y oxígeno a las bacterias ubicadas en su interior, incluso aquellas situadas en las zonas más profundas del biofilm. Asimismo, constituyen un mecanismo para la remoción de productos de desecho metabólico. (*Costerton Jw*)

La existencia de estos canales de agua no impide, sin embargo, que dentro del biofilm se encuentren ambientes en los que la concentración de nutrientes, pH u oxígeno es diferente. Se genera, de esta manera, un gradiente de tensión de pH y de oxígeno, siendo metabólicamente más activas las áreas superficiales respecto a las más profundas.

La formación y estructura de un biofilm depende de las características del substrato al cual se une y a otros aspectos del medio ambiente. Así, los biofilms en una superficie mucosa son fisiológicamente diferentes de aquellos formados en superficies inertes

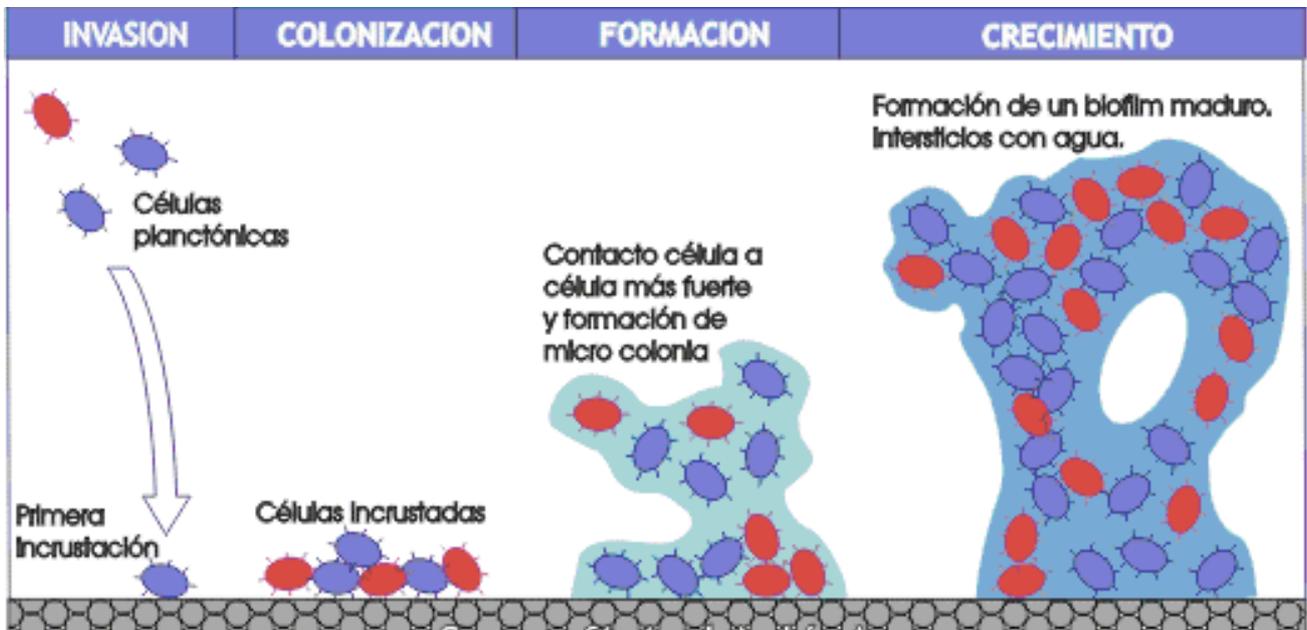
## 5.2. ETAPAS EN EL CICLO VITAL

La biología de los biofilms se centra en su ciclo vital e interacciones con el medio ambiente. El ciclo vital es un proceso dinámico que puede ser dividido en 3 partes: adhesión, crecimiento y separación o desprendimiento.

Durante la primera fase, el substrato tiene que ser adecuado para la adsorción reversible y, finalmente, la adhesión irreversible de la bacteria a la superficie. Las bacterias, una vez percibida una superficie, proceden a formar una unión activa vía apéndices, como fimbrias, flagelos o pili. Mediante microscopía electrónica se ha descrito que las bacterias adheridas se encuentran conectadas a la superficie por medio de finas fibrillas poliméricas



extracelulares. Las fimbrias, probablemente luego de superar la barrera de repulsión electrostática inicial que existe entre el germen y el sustrato, contribuyen a la adhesión bacteriana. (Fletcher M).



Etapas en la formación de un biofilm. Fuente: [www.unicolmayor.edu.co](http://www.unicolmayor.edu.co)

La motilidad, otorgada por flagelos, ayudaría a la bacteria a alcanzar la superficie en las etapas iniciales de la adhesión, siendo su función principal vencer las fuerzas de repulsión más que actuar como adherente. Sin embargo, la motilidad no parecería ser un requisito esencial, puesto que bacterias Gram positivas inmóviles, como estafilococos, estreptococos y micobacterias, también poseen la capacidad de formar biofilm. En el caso de las bacterias Gram positivas se ha descrito, en esta primera etapa, la participación de proteínas de superficie. La adhesión de bacterias a una superficie ocurrirá más fácilmente en aquellas más ásperas, más hidrofóbicas, y recubiertas por “films acondicionantes”.

Se ha descrito que la colonización microbiana parece incrementar a medida que aumenta la aspereza de la superficie. Esto sería debido a que están reducidas las fuerzas de deslizamiento, y el área superficial se torna mayor. Los “films acondicionantes”, compuestos habitualmente por polímeros, cubren inevitable y rápidamente la superficie de cualquier material que se encuentre en contacto con un líquido, y constituyen requisito indispensable para una ulterior adhesión microbiana. Las propiedades físico-químicas de la superficie también pueden ejercer una fuerte influencia en el grado y extensión de la adhesión. Se ha encontrado que se adhieren más rápidamente a superficies hidrofóbicas,

no polarizadas, como lo es el teflón y otros plásticos, en comparación con materiales hidrófilos, como vidrio o metales. Aparentemente se produciría algún tipo de interacción hidrófoba entre la superficie celular y la del sustrato que permitirían a la bacteria superar las activas fuerzas de rechazo a cierta distancia de la superficie del sustrato, y lograr adherirse irreversiblemente. En la adhesión bacteriana pueden también influir variaciones en la velocidad de flujo, temperatura del agua, y concentración de nutrientes. Se ha encontrado que un incremento en la concentración de diversos cationes (sodio, calcio, hierro) afecta la adhesión de *Pseudomonas spp* a superficies de vidrio.

Durante la segunda fase o de crecimiento, la bacteria, una vez adherida, comienza a dividirse y las células hijas se extienden alrededor del sitio de unión, formando una microcolonia, similar al proceso de formación de colonias en placas de agar. A medida que las células se dividen y colonizan la superficie, las bacterias comienzan a elaborar un exopolisacárido que constituye la matriz del biofilm, y éste comienza a desplegarse en una formación tridimensional, generando estructuras similares a setas.

La composición del exopolisacárido es diferente para cada bacteria: *alginato*, en *P aeruginosa*; celulosa, en *S typhimurium*; exopolisacárido rico en glucosa y galactosa en *V. cholerae*; poli-Nacetil-glucosamina, en *S aureus*, etc. Además, estudios recientes señalan que, incluso una misma bacteria, dependiendo de las condiciones ambientales en las que se encuentre, puede producir diferentes exopolisacáridos.

Finalmente, en la tercera etapa, luego que el biofilm ha alcanzado la madurez, algunas células, ya sea aisladamente o en conglomerados bacterianos, se liberan de la matriz para poder colonizar nuevas superficies, cerrando el proceso de formación y desarrollo del biofilm. El desprendimiento puede ser resultado de fuerzas externas al biofilm o de procesos activos inducidos por éste.

Los tres principales mecanismos para generar el desprendimiento serían:

- (a). erosión o deslizamiento: remoción continua de pequeñas partes del biofilm;
- (b) separación: remoción rápida y masiva;
- (c) abrasión: liberación por colisión de partículas del líquido circundante con el biofilm.



La separación es menos frecuente que la erosión, y se piensa derivaría de depleción de nutrientes u oxígeno al interior del biofilm. Se observa preferentemente en biofilms más voluminosos, que se han desarrollado en medioambientes otrora ricos en nutrientes. La separación proporcionaría un mecanismo para que las bacterias migren desde zonas densamente colonizadas a áreas que podrían favorecer mejor su desarrollo, logrando así formar nuevos biofilms en sitios distantes. La forma en que se produce la dispersión afectaría, aparentemente, las características fenotípicas de los gérmenes. Los conglomerados desprendidos desde el biofilm conservarían, probablemente, ciertas características de éste, tales como la resistencia antimicrobiana. En cambio, las células bacterianas liberadas aisladamente podrían rápidamente volver a su fenotipo planctónico.

### 5.3 QUORUM SENSING

Un avance importante en la comprensión de los biofilms ocurrió a comienzos de los '90 con el descubrimiento de proteínas responsables del mecanismo de *quorum sensing* o de auto-inducción. En los años siguientes se produjo una profusa publicación de nuevos conocimientos acerca de la genética de señalización célula-a-célula y translocación coordinada de genes responsables de factores de defensa y virulencia.

La unión de los microorganismos a una superficie y ulterior formación de un biofilm necesita que las bacterias se cercioren que han efectuado contacto. Para lograrlo requieren de señales químicas coordinadas que les permitan comunicarse entre ellas. El desarrollo de interacciones célula-a-célula se facilita por la estrecha proximidad existente entre las bacterias biofilm. Esta interrelación, vía mensajeros de pequeñas moléculas, denominada quorum sensing, beneficia a la bacteria al permitirle sentir la presencia de microorganismos vecinos, determinar la densidad de la población existente y responder a eventuales condiciones cambiantes. El proceso quorum-sensing funciona debido a que cada bacteria que se une a una superficie produce una molécula señal "yo estoy aquí", de manera tal que mientras más bacterias se unen, se incrementa la concentración local de esta señal. Su objetivo es coordinar determinados comportamientos o acciones entre microorganismos del mismo género, de acuerdo a su número. A menos que esté presente un número adecuado de células bacterianas en la vecindad, los costos de la producción de un biofilm para una bacteria individual superan los beneficios.

Las bacterias que utilizan quorum sensing elaboran y secretan moléculas señalizadoras, llamadas auto-inductores. Las principales moléculas empleadas para comunicarse con las demás bacterias son las acil-homoserina-lactonas, que predominan en bacterias Gram negativas, mientras que oligopéptidos modificados prevalecen en Gram positivas. Las bacterias también poseen un receptor que puede detectar específicamente el auto-inductor respectivo. Cuando éste se une al receptor, activa la transcripción de determinados genes, incluyendo aquellos para la síntesis del inductor. (Colón-González Mt, Membri-  
llo-Hernández J.)

Los primeros microorganismos en quienes se observó quorum sensing fueron especies de *Myxobacterias* y *Streptomyces*. Sin embargo, el ejemplo más conocido es la regulación de la producción de luz en el *Vibrio fischeri*, una bacteria bioluminiscente que vive como un simbiote en el órgano generador de luz del calamar hawaiano. Cuando el *V fischeri* se encuentra en estado planctónico, el auto-inductor está en baja concentración y, de este modo, carece de luminiscencia. En cambio, en el órgano luminoso del calamar están muy concentrados (sobre  $10^{11}$  células/ml), induciéndose la transcripción enzimática y generándose bioluminiscencia.

El estudio de esta relación simbiótica comenzó a revelar algunos de los misterios de señales célula-a-célula. En el *V fischeri* se identificaron dos sistemas quorum sensing: luxI y luxR. Estos sistemas de señalización se han encontrado en casi todas las bacterias Gram negativas, y moléculas mensajeras célula-a-célula han sido detectados en más de 30 especies de bacterias Gram positivas. Los sistemas lux se han estudiado extensamente en *Pseudomonas spp* y *Escherichia coli*, y se les considera necesarios para la maduración del biofilm y activación de numerosos genes.

Davies demostró que en la formación de biofilm en *P aeruginosa* están implicados dos sistemas diferentes de señalización célula-a-célula lasR-lasI y rhIR-rhII. Una vez conseguida una densidad suficiente de población, estas señales alcanzan las concentraciones requeridas para activar los genes implicados en la diferenciación del biofilm. Mutantes incapaces de elaborar ambas señales producen biofilms notoriamente más delgados y sin su arquitectura típica. Además, pueden ser removidos mucho más fácilmente de superficies mediante uso de surfactantes. La adición de lactona homoserina al medio que contiene los biofilms mutantes da origen a biofilms similares a los de bacterias no mutantes.



## 5.4 INTERCAMBIO GÉNICO

En los últimos años diversos grupos de investigadores han orientado sus esfuerzos intentando identificar tanto los genes responsables de la transición biofilm/planctónica, al igual que aquellos que están expresados únicamente en biofilms y que son indispensables para mantener su particular estructura. Las bacterias biofilms poseen una expresión génica diferente respecto a sus contrapartes planctónicas, originando bacterias fenotípicamente distintas respecto a aquéllas. Se ha encontrado que hasta el 30% de los genes puede expresarse de manera diferente entre la misma bacteria desarrollada en condiciones planctónicas o en un biofilm.

Los biofilms hospedan un medioambiente muy dinámico, donde se intercambia material genético tal como plásmidos (ácido desoxirribonucleico extracromosómico), enzimas y otras moléculas. Estudios recientes postulan que la matriz de biofilms de *P. aeruginosa* contienen ácido desoxirribonucleico como constituyente principal. Estos estudios, combinados con otros que muestran una tasa de transferencia génica, mediada por plásmidos, enormemente incrementada entre bacterias biofilms, sugieren que la redistribución de genes entre éstas es un proceso continuo con importantes consecuencias en su adaptación evolutiva. (*Davies Dg, Parsek Mr.*)

## 5.5 RESISTENCIA BACTERIANA

Las bacterias biofilm presentan una organización estructural que las hace resistentes, ventaja extremadamente importante desde el punto de vista de depuración de aguas residuales, en que las bacterias-biofilms son muy resistentes a los agentes tóxicos, siendo capaces, en el caso de los antibióticos, de sobrevivir frente a concentraciones miles de veces mayor respecto a las bacterias planctónicas. Por ejemplo, una cepa de *Klebsiella pneumoniae* en estado planctónico tiene una concentración inhibitoria mínima de 2  $\mu\text{g/ml}$  a la ampicilina. Esta misma cepa, al crecer como biofilm, exhibe 66% de supervivencia luego de terapia con 5.000  $\mu\text{g/ml}$  de ampicilina.

Para intentar explicar esta resistencia se han planteado diversas hipótesis:

(a) Penetración lenta o incompleta del tóxico en el biofilm: Se debería a que la matriz de exopolisacáridos constituye una barrera impidiendo este ingreso. Si bien estudios in vitro muestran que algunos antibióticos logran ingresar con cierta

facilidad, debido a que no existiría una barrera genérica a su difusión a través de la matriz, se postula que si el agente logra ser desactivado en ésta por acción de polímeros extracelulares, puede tener tan solo una difusión limitada dentro del biofilm.

(b) Causas metabólicas: Una baja actividad metabólica de las bacterias biofilm por limitación de oxígeno y nutrientes puede causar que ingresen en un estado estático o de cese de su mitosis, especialmente aquellas situadas más profundamente, con lo cual dejan de ser susceptibles a los agentes inhibidores. Finalmente, una eventual acumulación de productos ácidos en el biofilm puede conducir a diferencias significativas de pH entre el exterior y el interior de éste, interfiriendo con la acción.

(c) Cambios genéticos: Se producirían modificaciones en la fisiología de las bacterias biofilm y aparición de genes específicos, producto de cambios genéticos, que potenciarían mecanismos de resistencia a ciertas sustancias tóxicas. Según diversos investigadores, esta Resistencia se debería principalmente a modificaciones fenotípicas en las bacterias biofilm, las que serían de tipo protectoras, especialmente al generar cese de la mitosis. No obstante existir un respaldo mayoritario a esta hipótesis, aunque hay hechos que hacen dudar al respecto, señalando que cuando las bacterias son dispersadas desde un biofilm, con frecuencia se tornan rápidamente susceptibles a antibióticos, lo que sugeriría que tal Resistencia no sería adquirida vía mutaciones o elementos genéticamente movibles.

(d) Formación de esporas: Esta hipótesis plantea la posibilidad de génesis de una subpoblación de bacterias biofilm con un estado fenotípico muy especial y altamente protegido, con una diferenciación similar a las esporas. Este planteamiento es apoyado por investigaciones que muestran resistencia en biofilms recientemente formados, aun cuando estos son demasiado delgados para constituir una barrera a la penetración de agentes antimicrobianos.



## 6 TÉCNICAS ANALÍTICAS

### 6.1 ANÁLISIS DE LA BIODEGRADABILIDAD

En la primera fase del presente trabajo se pretendía llegar a el análisis de la capacidad de degradación frente a distintos sustratos del biofilm formado. Pero no ha dado tiempo a realizar dichas determinaciones.

Se ha dejado el siguiente apartado por considerarlo de utilidad y aún más, por ser el estudio de la capacidad de degradación de los biofilms cuando se exponen a sustancias tóxicas o que inhiben el proceso una futura fase de la investigación..

En lo referente al estudio de la capacidad de degradación de un sustrato, primero debemos estimar la biodegradabilidad intrínseca del mismo, todo ello con la intención de poder estimar hasta que grado es capaz de degradar cualquier proceso biológico un sustrato.

El grado de biodegradabilidad de los compuestos químicos presentes en un agua residual puede ser muy variable, en función de muchos parámetros. Ello se debe, fundamentalmente, a que la concentración de microorganismos, sus enzimas y capacidad de adaptarse a las sustancias químicas presentes en su entorno se ven muy afectados por la temperatura y el pH, la salinidad, oxígeno disuelto, concentración de sustrato y su propia estructura, presencia de metales pesados, etc...

Por lo expuesto anteriormente es importante conocer la biodegradabilidad potencial del sustrato para estimar la efectividad de la degradación. Para ello se han desarrollado diferentes técnicas para conocer la biodegradabilidad de los sustratos, así como para intentar predecirla.

Los modelos desarrollados para evaluar la biodegradabilidad de una compuesto se basan en su estructura química.

Otro tipo de cálculos para la biodegradabilidad se basan estimaciones experimentales del compuesto a caracterizar.

#### 6.1.1 DEMANDA BIOQUÍMICA DE OXÍGENO

Cuando la degradación de la materia orgánica contenida en un efluente se realiza por microorganismos de manera aerobia, éstos consumen el oxígeno del medio. La

medida de la DBO nos ofrece oxígeno requerido para degradar un volumen determinado del efluente.

Se basa en introducir un volumen determinado del agua residual que queremos estudiar en un recipiente cerrado, dejando un volumen libre, junto con un inóculo de fangos activos. Los microorganismos presentes empezarán a alimentarse y reproducirse y para ello consumen el sustrato orgánico contaminante y el oxígeno disuelto. Como el recipiente a utilizar se cierra herméticamente no puede entrar ni salir oxígeno y conforme disminuye el oxígeno disuelto, éste es reemplazado por el oxígeno que hay en la parte libre del recipiente, conforme va consumiéndose el oxígeno la presión parcial del oxígeno disminuye, y consecuentemente la total del interior del recipiente ya que el oxígeno consumido no se sustituye por otro gas -es importante añadir una trampa alcalina de hidróxido de sodio NaOH que capture el CO<sub>2</sub> procedente de la respiración celular formando carbonato sódico. La medida de la DBO consiste en calcular la cantidad de oxígeno consumido a partir de la diferencia de presión en el interior del recipiente, la medida más habitual es la DBO<sub>5</sub> que es la medida del oxígeno consumido a los 5 días y es la medida más utilizada. Otras medidas son la DBO<sub>st</sub> y la DBO<sub>7</sub>.

Actualmente se utilizan sensores piezoeléctricos incorporados a tapones que cierran herméticamente las botellas. Un dispositivo piezoeléctrico posee la capacidad producir una diferencia de potencial proporcional a la presión que se les aplica, por lo tanto las diferencias de presión provocan cambios en el potencial del dispositivo. Una vez disponemos del valor que refleja el dispositivo piezoeléctrico se aplica un factor en función de la dilución y la cantidad de agua introducida en la botella para obtener la DBO correspondiente. El fabricante proporciona tablas para que en función de la DBO esperada sepamos el volumen de agua residual a añadir, para estimar la DBO que esperemos encontrar se puede multiplicar la DQO de la muestra por 0,8 si esperamos mucha biodegradabilidad y por 0,5 si es media o baja. Si observamos el factor se puede observar que para mayores rangos y valores de DBO mayor es el factor a aplicar y por tanto el error de la medida aumenta.

Como precauciones a tomar está el mantener la temperatura estable, para ello se utiliza un incubador a 20° en el que se introducen los cultivos y se mantienen hasta el fin del ensayo. Regular el pH inicial a valores comprendidos entre 6,5 y 7,5. Si se quiere



evitar las reacciones de nitrificación se puede añadir N-alitiourea 20 gotas por litro de disolución 5g/L del reactivo. Se puede introducir un blanco y también un testigo que contiene una disolución de glucosa, acetato o algún compuesto muy biodegradable.

El instrumento comercial que se ha utilizado es el WTW-Oxitop® para 510ml.

## 6.2 DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO

La Demanda Química de Oxígeno (DQO) determina la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la materia orgánica en una muestra de agua residual, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo. Las sustancias oxidables presentes en la muestra se oxidan en solución fuertemente ácida con un exceso conocido de dicromato de potasio en presencia de sulfato de plata que actúa como agente catalizador. Después de dos horas de digestión a 148. C, la concentración de iones  $Cr_{3+}$  de color verde generados a partir del dicromato, son posteriormente determinados por espectrofotometría. La norma que regula el protocolo seguido en este método es la ISO 15705.

Procedimiento.

La determinación de la DQO se realiza con los kit Spectroquant<sub>(R)</sub> de Merck, el rango de medida empleado en todos los experimentos llevados a cabo es el de 10-150 mg  $O_2/L$  (ref: 1.14540.0001).

En primer lugar se homogeniza la muestra y se diluye, si es preciso, para que el valor esperado se encuentre comprendido entre los límites de detección. Se toma el tubo de reacción que contiene dicromato de potasio y sulfato de plata, y se agita por hasta que los sólidos depositados en el fondo (sulfato de plata) se disuelvan completamente. A continuación se añaden 3 mL de muestra, se agita vigorosamente y el tubo se introduce en un digestor durante dos horas a 148. C. Después, se deja enfriar a temperatura ambiente durante unos 30 minutos y se mide la absorbancia en un espectrofotómetro Spectroquant<sub>(R)</sub> NOVA 30 de Merck a una longitud de onda de 445 nm.

## 6.3 CARBONO ORGÁNICO TOTAL

La determinación del COD permite evaluar el grado de mineralización del contaminante. Para ello se ha empleado un Analizador de Carbono Orgánico Total

Shimadzu, equipado con un muestreador modelo Sh-ntoc. Este analizador mide el Carbono Total (CT) y el Carbono Inorgánico Total (CIT) disueltos en agua, la diferencia entre ambas medidas proporciona el Carbono Orgánico Disuelto (COD).

El análisis de CT se lleva a cabo mediante la combustión de las muestras en un tubo relleno de un catalizador de platino soportado sobre bolas de alúmina, a una temperatura de 680. C. El CT presente en la muestra se oxida dando lugar a CO<sub>2</sub> que es arrastrado por aire de alta pureza, enfriado y secado mediante un deshumidificador. A continuación, el CO<sub>2</sub> es analizado mediante un detector de infrarrojos no dispersivo (NDIR), generando un pico cuya área es proporcional a la cantidad de carbono presente en la muestra y es integrada por un procesador de datos.

En la medida de CIT, la muestra se introduce en un recipiente de reacción en el que se burbujea aire en presencia de ácido fosfórico (25% p/V). La descomposición de los carbonatos y bicarbonatos (CIT) presentes en la muestra genera CO<sub>2</sub>, que es arrastrado por el aire de alta pureza y procesado en el NDIR, de la misma forma que el CT.

La relación lineal existente entre el área calculada por el procesador de datos y la concentración correspondiente de CT y CIT permite una cuantificación basada en rectas de calibración internas. Para todas ellas los coeficientes de regresión lineal obtenidos son próximos a 1. La desviación estándar del equipo es del 1%.

Procedimiento.

La medida del COD requiere un pequeño tratamiento previo de la muestra, consistente en la filtración de unos 12 mL de la misma a través de un filtro de PTFE con un tamaño de poro antes de introducirla en el muestreador del equipo. De esta forma se retiran los sólidos en suspensión presentes en la muestra que puedan dañar al sistema. A continuación se produce la inyección automática de la muestra y se realiza la medida de COD por diferencia entre el CT y el CIT, tal y como se detalla arriba.

## 6.5 MEDIDA DE LOS SÓLIDOS TOTALES EN SUSPENSIÓN (STS)

Fundamento teórico La determinación de los sólidos totales en suspensión (STS, ó TSS que son las siglas en inglés), se ha empleado en la investigación desarrollada para esta tesis doctoral con el objetivo de determinar el momento en el que los fangos activos inoculados en el reactor biológico aerobio se han fijado totalmente en los soportes de



relleno utilizados. Una vez que el valor de STS es 0 se puede asegurar que se dispone de un reactor de lecho fijo con la biomasa totalmente soportada.

Los “sólidos totales” es el término empleado para la materia residual que permanece en el recipiente después de haber evaporado totalmente la muestra y de secar la materia en un horno a una temperatura previamente definida. Los sólidos totales engloban a los “sólidos totales en suspensión”, que se define como la porción de sólidos totales que quedan retenidos en un filtro. Estos residuos secados a una temperatura entre 103 y 105. C deben retener no sólo el agua procedente de la cristalización sino también algo del agua que mecánicamente se ha ocluido en los sólidos. En este análisis, la pérdida de materia orgánica por volatilización suele ser insignificante. La muestra bien homogeneizada se evapora en un filtro previamente secado en un horno hasta obtener un peso constante. El aumento en el peso del filtro con respecto a su peso una vez secado, representa los sólidos totales en suspensión. Las interferencias que se pueden detectar en este método provienen de muestras que contengan una alta concentración de calcio, magnesio, cloruro y/o sulfato, ya que son especies higroscópicas que requieren un tiempo de secado más prolongado y un rápido pesado del filtro. Además, una cantidad de residuo excesiva en el filtro puede formar una costra que atrape fácilmente el agua, con lo que se debe de establecer un límite de muestra de forma que el residuo obtenido no sea mayor de 200 mg.

En primer lugar se preparan los filtros lavándolos con agua destilada y secándolos en el horno a una temperatura entre 103 y 105. C durante una hora. Los filtros empleados están formados por una mezcla biológicamente inerte de acetato de celulosa y de nitrato. Una vez secados se almacenan en un desecador y se pesan justo antes de ser utilizados. Se escoge un volumen de muestra a filtrar que vaya a dar lugar a un residuo que pese entre 2.5 y 200 mg. Se toma el volumen elegido de la muestra perfectamente homogeneizada y se hace pasar a través del filtro previamente secado y pesado. El filtrado se lleva a cabo en un sistema a vacío con un matraz kitasatos. Se evapora y se seca la muestra retenida sobre el filtro en la estufa, de nuevo a una temperatura entre 103 y 105. C durante al menos 2 horas. A continuación el filtro con la materia seca se deja enfriar en un desecador y se pesa. Este proceso de secado, enfriado y pesado se repite hasta que el peso obtenido sea constante o se obtenga una variación inferior al 4% con

respecto al peso anterior. La ecuación siguiente permite realizar el cálculo de los sólidos totales en suspensión a partir del peso del filtro vacío y con el residuo.

$$\frac{(P_f - P_i)}{V} \cdot 1000$$

El control de calidad se lleva a cabo por realizando un análisis por triplicado para cada una de las muestras.



## 7 DISEÑO Y MONTAJE DEL REACTOR

### 7.1 TIPOS DE REACTORES

Dentro de los procesos biológicos de depuración de aguas residuales, y por lo tanto en las EDAR encontramos distintos diseños de reactores. Es obvio que el diseño debe hacerse en función del volumen de efluente a tratar, las características fisico-químicas del mismo y los límites de vertido. Otros factores de diseño serán las limitaciones de espacio y tiempos de retención hidráulica para alcanzar los valores de vertido de diseño. Además, para el diseño de un reactor destinado a una EDAR debemos establecer a priori el tipo de reactor a utilizar y los diferentes parámetros que nos van a permitir el correcto diseño y dimensionado.

Muchas de las EDAR de la actualidad disponen de reactores aerobios de mezcla completa en los que se consigue la homogeneidad y difusión del oxígeno creando un régimen turbulento en el seno del reactor. Para conseguirlo se necesita aportar mucha energía al sistema, ya sea para mover motores eléctricos o los compresores de los sopladores.

Los reactores con relleno del lecho, tanto fijo como fluidizado y sus hibridaciones, se encuentran dentro de los procesos de depuración biológica de aguas residuales mediante formación biofilms. Los primeros métodos de depuración mediante la formación de biofilms fueron los llamados filtros percoladores, en los que básicamente se disponía una capa de grava de mayor o menor tamaño que servía de soporte para la formación del biofilm. El biofilm se forma sobre la superficie de la grava, que al estar expuesta a la atmósfera permite que el oxígeno presente en el aire se difunda a través del biofilm, no obstante también se encuentran zonas anaerobias. Los percoladores no dejan de ser un reactor con lecho fijo o empacado. A diferencia de los reactores de lecho fijo, los reactores de lecho fluidizado se basan en la fluidización del lecho cuando se introduce la corriente a depurar por la parte inferior del reactor que empuja los materiales que constituyen el lecho y los pone en suspensión con lo que se comportan de forma similar a un fluido; o consiguiendo el mismo efecto si el relleno es de densidad menor a la del líquido.

Las ventajas de utilizar tal tipo de reactores son varias, y por ello están siendo, y han sido objeto, de numerosas investigaciones, tanto en procesos aerobios como anaerobios.

La principal ventaja respecto los métodos de cultivos en suspensión, es el ahorro en espacio que supone utilizar la depuración mediante lecho fluidizado al mostrar mejores eficiencias. Además también se evitan otros problemas que se dan a menudo con sistemas que utilizan la depuración mediante la formación de biofilms, como la colmatación en los biofiltros o las limitaciones en profundidad en los percoladores por el peso del soporte, llegando a estados límite dentro del diseño -por ejemplo no se suele superar la profundidad de 4m para los percoladores con lecho pétreo, ni los 12 para los percoladores de lecho plástico- además los diseños basados en el percolador necesitan poder invertir el sentido de circulación -el llamado backwashing- de la corriente a tratar para eliminar los agregados formados en los huecos que el soporte deja disponibles, aunque estos agregados mejoran la degradación por aumentar el tiempo de retención en el percolador, llega un momento en que son perjudiciales.

Teóricamente en los reactores de lecho fluidizado hay muchas ventajas, y parece ser, en un primer momento, que las limitaciones del tratamiento son menores que en otros tipos de reactor, teniendo el único inconveniente de que para introducir el agua contracorriente se requiere un diseño un tanto más complicado -pero no mucho- así como el incremento en la energía necesario para bombear el efluente a suficiente presión como para que fluidifique el lecho. El continuo movimiento del lecho, constituido por biosoportres, provoca la colisión de unos soportes con otros con lo que el efecto del rozamiento limita el grosor del biofilm, obteniendo unos grosores cercanos a las 100 micras en los que no existen zonas anaerobias. Además se mantiene una correcta edad del fango y tampoco no se necesita ningún tipo de backwashing -recordamos que la alimentación se introduce por la parte inferior del reactor-.

## 7.2 REACTORES MEDIANTE BIOFILMS

Uno de los factores limitantes en las reacciones aerobias es la poca solubilidad de oxígeno en el agua y la velocidad de difusión de éste a través del biofilm ( o del flóculo si son sistemas en suspensión). Es por ello que el diseño de reactores así como en las investigaciones se encaminan a la mejoras referentes a la mezcla de fases, transferencia



de oxígeno y separación de fases, así como un mejor entendimiento y control del grosor del biofilm que permita un incremento en la transferencia de materia.

La clasificación de los reactores se ha efectuado en base al estado de la fijación de la biomasa: reactores con biomasa en suspensión, los híbridos y los reactores con biomasa fija.

El diseño de los reactores para la depuración mediante formación de biofilms ha experimentado un gran avance en las últimas tres décadas, lejos de los antiguos filtros percoladores y con una aproximación diferente enfocada en el material del soporte y el manejo y control del reactor con respecto a la biomasa. En el mismo tiempo, el enfoque del diseño de las plantas de tratamiento de aguas residuales ha evolucionado dejando de estar basada en el pragmatismo y pasando al diseño basado en simulaciones mediante modelos matemáticos obtenidos del estudio en laboratorio.

Las investigaciones actuales se encaminan al mejor entendimiento de aquello que ocurre en el interior del biofilm y los fenómenos de mejora de la transferencia de materia en las distintas interfases que aparecen en éste.

### 7.3 PRINCIPIOS BÁSICOS DE DISEÑO

El principio básico en el diseño del reactor es que los procesos biológicos ocurren en el interior de la biomasa adherida. La cinética de las reacciones viene limitada por el hecho que los sustratos tienen que difundirse a través de las excreciones poliméricas que conforman la biomasa y llegar a las bacterias para que ocurran las reacciones bioquímicas necesarias; al mismo tiempo los productos que desechan las bacterias tienen que efectuar el camino contrario para llegar a otras bacterias que se alimenten de ellos o difundirse hasta el exterior del biofilm (Harremoës). Es por ello que el rendimiento de un reactor y por ello su diseño, depende de dos principios básicos:

Que los sustratos tienen que difundirse hacia las bacterias y que los productos tienen que transportarse hacia el exterior del biofilm.

Control de la biomasa para que no se produzcan obstrucciones que disminuyan el rendimiento.

Hay siete principios para el transporte de sustrato, que se centran en donantes y receptores de electrones. (Harremoës y Wilderer, 1993)

- 1 Sistema de tres fases: soporte del biofilm, masa de agua y aire. El soporte y el biofilm son fijos, mientras que el agua pasa a través de la superficie del biofilm y el aire se mueve en cualquier hacia arriba o abajo, indistintamente constituyendo la tercera fase; p.e. el filtro percolador
- 2 Sistema de tres fases formado por el soporte, agua y aire. El soporte y el biofilm son fijos y el agua circula a través del reactor junto con el aire.
- 3 Sistema de tres fases. El soporte se mueve libremente en el interior del reactor mientras que el agua circula a través del reactor junto con las burbujas de aire.
- 4 Sistema de dos fases. El soporte y la masa de agua. El soporte está fijo, y el agua circula a través actuando como donante y aceptora de electrones.
- 5 Sistema de dos fases. El soporte y la masa de agua. El soporte se mueve libremente en el reactor y el agua circula a través actuando como donante y aceptora de electrones.
- 6 Sistema de tres fases de membrana. Se trata de una membrana semipermeable con el biofilm y el agua en un lado y el gas en el otro.
- 7 Sistema de dos fases de membrana. Se trata de una membrana semipermeable con el biofilm y el agua en las dos caras, pero con el aceptor de electrones en una parte y el donante en la otra.

El sistema más utilizado ha sido el percolador, que pertenece a la configuración del grupo 1. Igualmente larga es la experiencia con un tipo de reactor perteneciente a la configuración número 3, el filtro rotativo o Rotating Biological Contactor, los modelos mencionados tienen en común los problemas asociados al control de la biomasa. En los últimos 15 años se ha mejorado el diseño de reactores pertenecientes a los grupos 2 y 4, sobre todo mediante la introducción de la técnica de lavado a contracorriente para el control de la biomasa. Otro grupo que ha mejorado fruto de las investigaciones es el perteneciente al grupo 3 y 5, se trata del reactor de lecho expandido en movimiento o Moving Bed Biofilm Reactor, es un reactor en el que se ha logrado una gran mejora en el control de la biomasa mediante el régimen hidráulico creado y en el que las colisiones entre los soportes para el biofilm limitan el grosor del mismo con las mejoras en la transferencia de materia que supone.



## 7.4 COMPORTAMIENTO DE LOS BIOFILMS

En todos los reactores con biomasa fija sobre un soporte los procesos metabólicos suceden, como ya se ha indicado con anterioridad, en el interior del biofilm. El transporte del sustrato ocurre mediante los nombrados procesos de difusión, inicialmente a través del líquido y la interfase líquido/biofilm luego debe difundirse en el biofilm. Los productos de la oxidación y reducción son transportados en la dirección opuesta hacia el exterior del biofilm. En resumen; tanto el sustrato, así como el aceptor de electrones deben penetrar en el biofilm para que los procesos bioquímicos puedan darse.

La mejora de las limitaciones en la transferencia de materia son determinantes en el comportamiento de un proceso que ocurre en un sistema heterogéneo en el que los fenómenos de transferencia de materia limitan la velocidad global. (*L. G. T. Vieira y cols.*)

En muchos sistemas aeróbicos, la tasa de transferencia de oxígeno hacia el interior de las células del sistema formado por el biofilm suele ser el factor limitante de la eficiencia del proceso de conversión bioquímica del sustrato. La disponibilidad de oxígeno para los microorganismos depende de la solubilidad y la transferencia de materia, así como de la velocidad con la que el oxígeno disuelto es utilizado por el sistema. En los reactores de biomasa fija sobre soporte para el post-tratamiento de efluentes de procesos anaerobios los fenómenos de transporte engloban el oxígeno y las diferentes formas de nitrógeno (amoniacal, nitritos y nitratos) se definen las etapas de transferencia de materia que se numeran a continuación:

- Transferencia de oxígeno desde la fase gaseosa al medio líquido.
- Transferencia de oxígeno, amonio y nitratos desde la fase líquida al biofilm.
- Transferencia de oxígeno, amonio y nitritos en el interior del biofilm.
- Transferencia de los productos intermedios de la oxidación de los nitritos y los nitratos finales hacia el líquido.

El oxígeno es muy poco soluble en el agua y con normalidad constituye la fase de transferencia limitante de la velocidad de los procesos que tienen lugar en reactores aerobios mediante formación de biofilms (*Chisti y colaboradores*). En la lista siguiente se muestran de manera esquemática los tipos de transporte de oxígeno en los que

identificamos ocho posibles estructuras que limitan la difusión del mismo. Las resistencias que encontramos en un sistema de tres fases son:

1. En la interfase gaseosa dentro de la burbuja de gas, entre el núcleo de la burbuja y la interfase gas-líquido.
2. interfase gas-líquido.
3. en el líquido, en las proximidades de la interfase gas-líquido, entre esta interfase y el medio líquido.
4. en el seno del líquido.
5. en el seno del líquido, entre la fase líquida y la interfase líquida-sólido (resistencia externa).
6. interfase líquido-sólido.
7. en la fase sólida (resistencia interna).
8. fenómenos de difusión ya en el interior del microorganismo.

La magnitud de las resistencias numeradas depende de los fenómenos hidrodinámicos de las burbujas de gas, de la solubilidad del oxígeno y de los productos derivados del nitrógeno, de la temperatura, actividad microbiana, composición de la fase líquida y fenómenos que ocurren en las interfases (*Bailey y Ollis*). Con lo visto es obvio que la profundidad de la penetración de los sustratos en el biofilm es fundamental en la eficiencia global del reactor. La situación ideal sería aquella en la que los sustratos penetran de manera completa en el biofilm.

No obstante, la situación más habitual es aquella en la que aparece una penetración parcial de al menos uno de los componentes del sustrato (el sustrato incluye tanto la carga orgánica como el oxígeno necesario para su conversión) determinada por una velocidad de conversión y resistencia a la difusión en el biofilm bastante elevada; en este caso se observa que solamente la capa más externa del biofilm será la que tenga actividad importante, disminuyendo muy rápidamente conforme penetramos en la estructura del biofilm pasando de una reacción bioquímica de orden cero a una de medio orden.



En los sistemas con reacciones de nitrificación, el ratio entre el oxígeno y el amonio presentes deberá estar entre 0,3 y 0,4 (*Harremoës*).

Como se ha visto, la concentración y capacidad de transporte de materia asociada al oxígeno será determinante en la mayoría, por no decir todos, los casos que nos podamos encontrar. Por ejemplo para una concentración de 2mg/L de oxígeno en la fase líquida del reactor la concentración límite de amonio sería cercana a los 6mg/L. En el caso de la oxidación simultánea de materia orgánica y nitrificación del sustrato, la competición entre las bacterias autótrofas y heterótrofas por el oxígeno determina la distribución de las bacterias aerobias en el biofilm. Cuando el ratio O<sub>2</sub>/COD es muy pequeño, el biofilm estará principalmente formado por bacterias heterótrofas y la nitrificación no ocurrirá en el biofilm.

La comprensión de los mecanismos de transferencia de materia se refleja en la configuración/diseño de las nuevas generaciones de reactores destinados a la formación de biofilms. Es el caso de los filtros aerobios sumergidos donde prevalecen los medios granulares con elevada superficie específica que maximiza el área efectiva para la transferencia de materia y la cantidad de biomasa por unidad de volumen; en ellos se consiguen edades del fango grandes sin la necesidad de realizar excesivos lavados del reactor.

En la otra mano las características hidrodinámicas que encontramos en los nuevos reactores propician el desarrollo de un biofilm muy fino (mejora la difusión, el sustrato accede a todo el biofilm y la transferencia de materia hacia y desde el biofilm). Caudales de 2m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·h de agua y 15m<sup>3</sup>/m<sup>2</sup>·h de aire son habituales provocando muchas turbulencias.

La asociación de la turbulencia y la elevada velocidad controla el grosor de la capa formada por el biofilm no permitiendo que se desarrollen zonas donde no penetra el oxígeno y por ende mejorando la transferencia de materia, además de las turbulencias creadas, la elevada cantidad de aire introducida en el sistema asegura que la fase líquida esté, sino saturada, muy próxima de oxígeno disuelto (*Harremoës*)

La estabilidad del proceso versus variaciones de temperatura o carga orgánica, así como a posibles agentes tóxicos o inhibidores, es también una consecuencia de los fenómenos de transferencia de materia en el biofilm. El grosor de la capa activa del biofilm se incrementa cuando la temperatura desciende y por ello no se observan descensos

significativos en la actividad del biofilm frente a cambios no extremadamente elevados en la temperatura de la fase líquida (*Okey y Albertson*).

En lo referente a la resistencia frente a sustancias tóxicas o inhibitoras de la actividad microbiana sucede algo similar. Si la concentración de un cierto compuesto tóxico excede puntualmente la concentración límite para la correcta actividad del biofilm, la amortiguación asociada al gradiente de concentración que se crea en el biofilm atenúa el impacto en el tratamiento, incluso si la capa externa del biofilm se ve afectada, las capas más internas continúan degradando el sustrato debido al gradiente de la sustancia tóxica que crea la resistencia a la transferencia de materia en el interior del biofilm.

La capacidad mostrada para tolerar éste tipo de shocks junto con el poco tiempo de retención hidráulica (alrededor de 20min.) se consigue gracias a la elevada cantidad de biomasa que encontramos. La concentración suele ser superior a los 20g TSS/L en los medios con superficies específicas cercanas a los 600m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>.

## 7.5 BIOFILTROS SUMERGIDOS

Hoy en día constituyen una opción sólida y estudiada. Una de las mayores ventajas es el poco impacto que tienen en el entorno, así como que son equipos compactos, con un reducido tiempo de aclimatación de la biomasa, con resistencia a shocks de temperatura, composición y sustancias tóxicas, y sin necesidad de instalar módulos clarificadores del efluente resultante. (*Gonçalves y Rogalla*)

Este tipo de reactores por biofilm poseen la capacidad de alcanzar distintos objetivos; oxidar materia orgánica, realizar procesos de nitrificación y desnitrificación. (Pujol y col.)

### 7.5.1 DESCRIPCIÓN

En la práctica están constituidos por un tanque con relleno de materiales porosos o con una muy elevada superficie específica a través de los cuales pasa la fase líquida y el aire introducido en el sistema. En la mayoría de los procesos el soporte se mantiene totalmente sumergido en el agua a tratar constituyendo un sistema de tres fases enumerado anteriormente en el apartado 7.3.

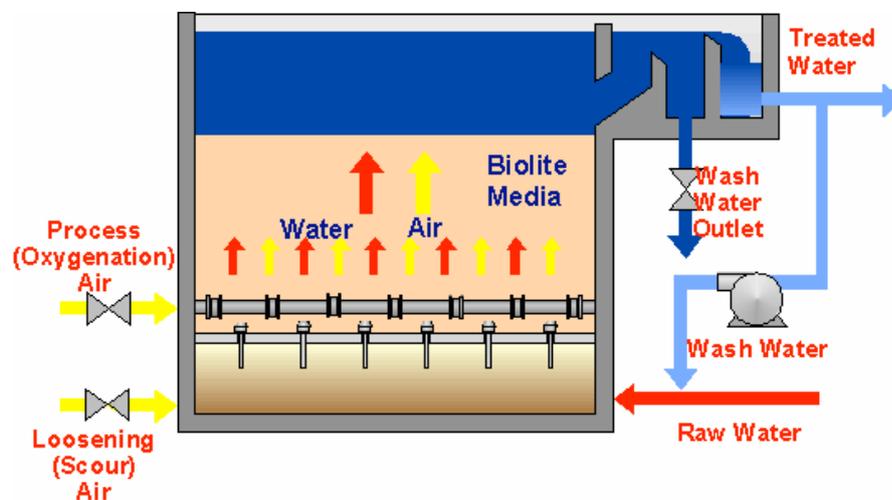


Fase sólida: el soporte y las colonias de microbios formando el biofilm.

Fase líquida: la forma el líquido con el sustrato en disolución.

Fase gaseosa: formada por la aireación forzada así como por posibles subproductos de la oxidación bacteriana que abandonan la célula en forma gaseosa.

Los Sumbmerged Airedated Biofilters (SAB) con medio granular realizan las funciones de eliminar las partículas orgánicas en suspensión y al mismo tiempo eliminan los compuestos orgánicos disueltos. En ellos el material de relleno actúa como soporte para el biofilm y al mismo tiempo actúa como filtro para las partículas orgánicas en suspensión. En este tipo de reactores se necesita de un lavado periódico que elimine el exceso de biomasa acumulada, un exceso provoca pérdidas de carga elevadas que a la larga reducen en demasía la efectividad del tratamiento. Durante los ciclos de lavado, que pueden ser con detención o no de la entrada de agua residual, se realizan fuertes descargas de aire o efluente en contracorriente para fluidificar el lecho y eliminar la biomasa acumulada.



*Diseño Biofor 4 patentado de biofiltros sumergido. Fuente [www.dep.state.pa.us](http://www.dep.state.pa.us)*

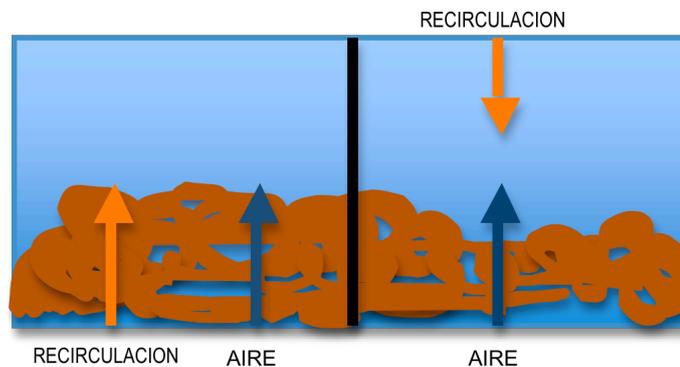
Por otro lado encontramos los Submerged Aereated Biofilters con lecho estructurado. Estos se clasifican semejantemente a los percoladores.

## 7.5.2 FACTORES DE DISEÑO

### 7.5.2.1 Sentido del flujo

El sentido seleccionado para los caudales de entrada en el reactor, tanto para el aire como para la fase líquida son determinantes en las características del reactor diseñado e influyen de manera directa los siguientes fenómenos: retención de sólidos en suspensión, transferencia gas-liquido, aparición a medio/largo plazo de pérdidas de carga, necesidad o no de lavado y tipo, consumo energético y generación de olores. (*Paul Stoodley y cols.*)

Las distintas configuraciones aparecen en la siguiente figura.



El sentido de circulación del aire solamente puede ser en sentido ascendente. Una corriente de aire en sentido descendente solo se puede obtener en medios granulares que no están sumergidos, como e caso de los percoladores, por ello las opciones quedan limitadas a que la fase líquida y la gaseosa se introduzcan en el mismo sentido, ascendente para ambos, o que se introduzcan con sentidos opuestos, ascendente para el aire y descendente para el líquido. Con las ventajas e inconvenientes siguientes:

Capacidad de retención de sólidos en suspensión:

es mayor en las configuraciones con sentido descendente en medios con densidad superior a 1kg/L y viceversa, para medios con densidad inferior a la de líquido se obtienen mejores resultados en sentido ascendente. El sentido con mayor eficiencia será aquel que coincida con el sentido en el que se comprime el lecho filtrante. En las configuraciones con circulación en sentido ascendente con soportes empacados con densidad superior a



1Kg/L se produce la expansión del lecho lo que provoca una mejor distribución de los SS a lo largo del mismo.

#### **7.5.2.2 Pérdida de carga**

Va asociada con las configuraciones que mejores eficiencias para la retención de SS ofrecen. Es por ello que los sistemas con sentido descendente con lecho de elevada densidad y los de sentido ascendente con soportes de baja densidad. Los sistemas que menores pérdidas de carga ofrecen sin necesidad de instalar un clarificador a continuación del reactor son los de medio de elevada densidad con flujo en sentido ascendente (en la práctica se diseñan lechos cercanos a los 3m).

#### **7.5.2.3 Comportamiento hidráulico**

En los procesos en sentido descendente a contracorriente se favorece la formación de burbujas de aire que quedan atrapadas en el medio de relleno (fenómeno embólico. En los procesos con sentido ascendente pueden aparecer de distribuciones ineficientes del efluente que disminuyen la eficiencia.

#### **7.5.2.4 Demanda de oxígeno/aire**

Los fabricantes aseguran que los procesos en sentido descendente necesitan menor aire y la pérdida de carga es menor debido al menor grosor del lecho filtrante. Mientras, los fabricantes de equipos que funcionan a contracorriente con sentido ascendente de la fase líquida aseguran que el poseer un lecho de mayor grosor aumenta la eficiencia en la transferencia de oxígeno en valores próximos al 23-30% en condiciones ideales y de laboratorio. Los datos experimentales obtenidos de plantas a escala real indican que la eficiencia indicada ronda el 10%.

#### **7.5.2.5 Construcción**

En los diseños a contracorriente en los que el agua a tratar se introduce en sentido descendente, las conducciones de aireación solamente entran en contacto con el agua tratada y está menos expuestas a posibles bloqueos por sólidos. En el caso contrario como el agua tratada es la que entra en contacto con la atmósfera, no se producen o se ven considerablemente reducidos los olores.

#### 7.5.2.6 Material de relleno

El material de relleno debe cumplir con dos funciones: debe ser el soporte para el desarrollo del biofilm y en la medida de o posible debe retener los sólidos en suspensión. Los factores determinantes son la relación directa entre una elevada superficie específica y la mejor remoción de los SS como factores positivos, y la mayor pérdida de carga asociada a este tipo de rellenos.

La elección del material de relleno debe solucionar el compromiso entre una buena efectividad en la retención de los SS y la periodicidad en el lavado. Los materiales de relleno habitualmente responden a las siguientes características:

Tamaño entre 2 y 6 mm para tratamiento de aguas residuales asimilables a efluentes domésticos en reactores con sentido descendente. Tamaño comprendido entre 1 y 2 mm para tratamientos terciarios de nitrificación en reactores con sentido ascendente, mientras que para la eliminación de carbono orgánico por deben acercarse a los 2,5 mm de diámetro. En todos los casos la superficie específica está comprendida entre los 200m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup> y los 600 m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>.

Densidad. Densidades elevadas implican mayores consumos energéticos para expandir el lecho. Además limitan el grosor del lecho por problemas del peso que debe soportar la base del reactor en el caso de utilizar piedras u otros materiales de densidad muy elevada.

Homogeneidad en tamaño. Importante para evitar que partículas demasiado pequeñas favorezcan los fenómenos de pérdida de carga.

Resistencia a la abrasión y que sean inertes y no biodegradables son otras características necesarias, sobre todo si queremos asegurar que el proceso se muestre estable y no varíe por problemas asociados a la disgregación del material o destrucción del mismo.

En lo referente al material, hasta hace poco venían utilizándose materiales tipo mineral como arcilla expandida, esquistos o silicatos. También rocas puzolánicas y rellenos de carbon activo. Actualmente los rellenos se encaminan al uso de materiales sintéticos sobre todo en los sistemas de lecho estructurado o flotante. las densidades son inferiores a las del agua, variando de los 0,3 kg/L a los 0,9 kg/L, reduciendo el gasto energético, obtenidas mediante el uso de PVC, PET, PP, PU...En común tienen que



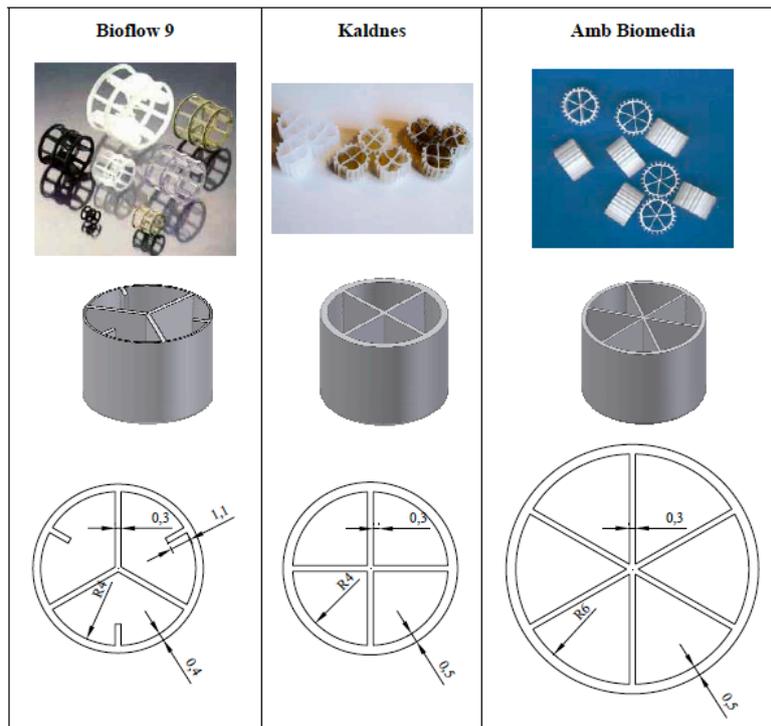
están patentados y los precios son bastante más elevados que los asociados al costo de producción siendo la patente el factor determinante para el precio.

Aunque en muchas publicaciones se relega aun lugar sin importancia la forma y el diseño del soporte, las más recientes investigaciones han profundizado en el diseño y estudio de las propiedades en función de la forma. Conclusión de ellas es que la forma del relleno también tiene su importancia, siendo el factor determinante la superficie específica y que en el caso de que la forma del soporte tenga orificios internos el tamaño de los mismos.

El análisis de los portadores comerciales, ya patentados, permite agruparlos en dos grandes bloques, los que derivan de formas cilíndricas y aquellos que presentan formas más complejas.

La diferencia fundamental entre estos dos grupos estriba en que los portadores que se basan en formas complejas requieren tamaños mayores para ser competitivos desde el punto de vista económico y deben ser realizados en materiales más duros. Lo que hace que sean más pesados y por lo tanto requieran una mayor potencia de bombeo, no siendo adecuados para esta tecnología.

Por el contrario, las formas cilíndricas presentan mejores condiciones hidrodinámicas y menores pérdidas mecánicas por choque. Además, casi en su totalidad presentan aletas centrales como demuestra la figura, donde se representan los modelos comerciales de mayor difusión en el mercado: Bioflow , Kaldnes y Amb Biomedia.



*Modelos comerciales de biosoportes*

Los soportes deben cumplir las expectativas siguientes:

1. Forma que permita una buena hidrodinámica y proporcione una gran movilidad.
2. Relación Superficie/Volumen Ocupado entre 160-850m<sup>2</sup>/m<sup>3</sup>.
3. Relación entre superficie real y superficie aparente o superficie del volumen ocupado, siendo ésta la superficie del elemento suponiendo que fuese macizo, superior al 150%.
4. Densidad próxima a la del agua, de forma que se reduzca al máximo cualquier movimiento ascensional o de descenso inducido por el peso y volumen del portador.
5. Porcentaje de ocupación en el medio no superior al 60%, para facilitar un movimiento constante que permita la aireación óptima de todas las superficies.
6. Radio mínimo del hueco no inferior a 2,5mm. para que no sea obstruido por elementos o bolas de suciedad presentes en el agua a tratar.

Existen otros factores que pueden aconsejar el uso de un modelo u otro. Así, hay modelos con una hidrodinámica perfecta, pero en cambio se puede producir en el interior una zona de poca renovación puesto que la entrada es estrecha. A cambio otros modelos



presentan problemas hidrodinámicos puesto que al no ser simétricos es posible que adopten posiciones fijas dificultando el intercambio.

#### **7.5.2.7 Sistema de aireación:**

Muchos de los SAB y SAF dispone de un sistema de aireación compuesto por sopladores y tuberías de transporte. En algunos casos en los que el efluente está muy diluido la aireación se obtiene fuera del reactor, conteniendo el efluente el oxígeno necesario para degradar la poca materia orgánica que contiene. Aunque son más interesantes los casos en los que el efluente presenta una elevada carga orgánica. Conviene citar que en los reactores anaeróbicos mejoran las características hidráulicas a tratarse de sistemas de dos fases. Tests realizados inyectando oxígeno puro muestran que la mejora obtenida no justifica el costo necesario.

#### **7.5.2.8 Sistemas de lavado**

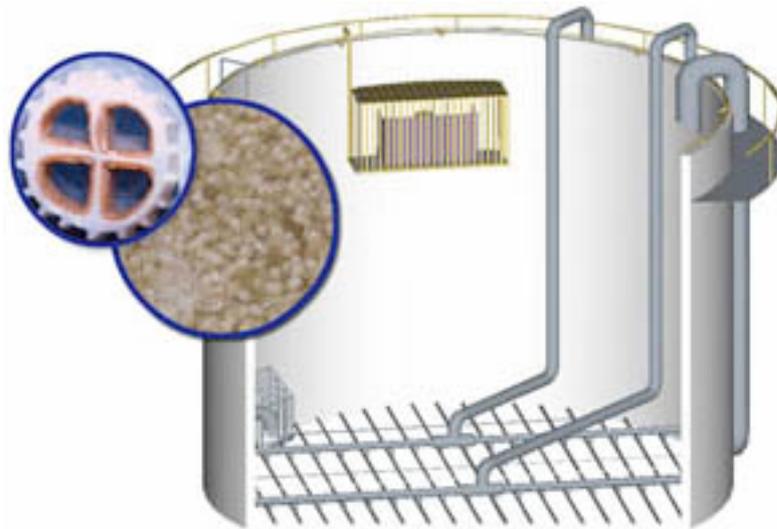
El lavado periódico del medio filtrante es un paso obligatorio en el manejo de los reactores SAB si queremos controlar el desarrollo excesivo de biomasa que acabe por colmatar el lecho filtrante. La duración de los ciclos de lavado depende de varios factores, De la granulometría del lecho, de las cargas aplicadas, de las características del agua y la naturaleza del biofilm. Los ciclos entre lavado para los diseños industriales suelen ir de las 24 a las 48 horas.

La cantidad de agua tratada y la energía consumida son los factores a estudiar en la definición del proceso de lavado. El volumen de agua de lavado utilizada ronda cifras que van del 3% al 8% del volumen total de agua tratada.

De acuerdo con los resultados de Pujol y colaboradores (1992) el volumen de agua necesario para el lavado es aproximadamente tres veces el volumen del lecho filtrante.

## 7.6 EL MOVING BED BIOFILM REACTOR

Los MBBR o reactores de lecho en movimiento se empezaron a desarrollar en Noruega a principios de los 90. En los últimos años se han realizado grandes avances en el manejo, operación y estudio de los mismos, llegando al actual estado del arte en la construcción y diseño. Fruto de las investigaciones han surgido diversas patentes sobre los mismos.



*Modelo patentado de reactor MBBR. Fuente: [www.cleanwatertech.com](http://www.cleanwatertech.com)*

Básicamente los MBBR son una modificación de los reactores con lecho fluidizado o expandido para mitigar los problemas relacionados con la necesidad de efectuar lavados de los mismos, con el inconveniente que supone al perder el régimen de flujo. Consisten en la utilización de soportes para la formación del biofilm de unas características determinadas y de un estudiado sistema de flujo y aireación (caso que se trate de reactores aerobios) que crean un patrón de flujo en el que los soportes del biofilm están en continuo movimiento en el reactor; el resultado: un sistema de tratamiento de alta eficacia, con tasas de reducción de la carga orgánica cercanas al 95% y todo ello sin la necesidad de invertir el flujo para realizar el backwashing así como un grosor idóneo del biofilm, controlado por las colisiones entre los soportes.

Prueba de la fiabilidad de los reactores MBBR es la existencia de unas 400 plantas en 22 países alrededor del mundo a escala industrial, de tratamiento de efluentes mediante esta tecnología.

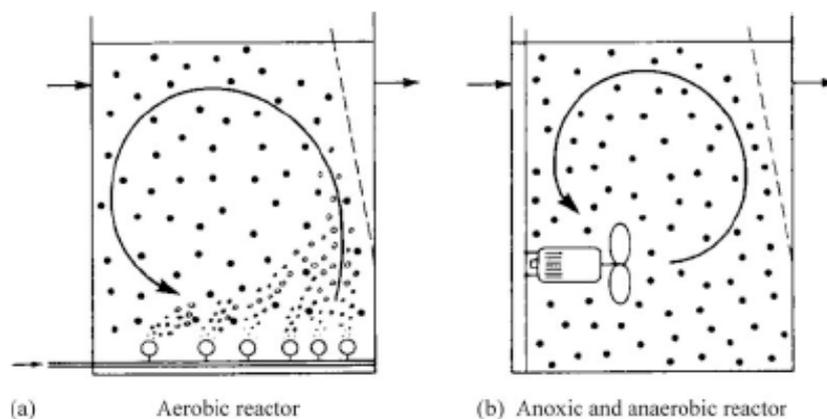


### 7.6.1 APARICIÓN

El MBBR surgió a partir del concepto de hibridar los procesos mediante fangos activos y los de biofiltros, intentando obtener las características positivas de ambos y evitando las desventajas relacionadas con la línea de tratamiento de fangos y la necesidad de recircularlos hacia el reactor de fangos activos en suspensión. Con relación a los filtros biológicos en los que el relleno actúa como soporte de la biomasa, la mejora se obtiene por no necesitar de lavado alguno y no reducir sustancialmente las pérdidas de carga. La primera planta construida basándose en el MBBR no ha tenido problema alguno de colmatación ni pérdidas de carga asociadas al excesivo crecimiento de la biomasa, todo después de 15 años de funcionamiento.

### 7.6.2 FACTORES DE DISEÑO

Básicamente responden a las mismas necesidades que las encontradas en los reactores de lecho fluidizado. En los reactores MBBR, el diseño y estudio de los patrones de flujo creados por la corriente de agua residual son determinantes en la eficacia, y se debe dedicar tiempo al estudio y mejora de los diseños. (*Odegaard*)



*Principios básicos del flujo en un MBBR*

En lo referente a las pérdidas de carga y oxigenación, las consideraciones son las mismas que en los reactores de lecho fluidizado que trabajan en condiciones aerobias.

#### 7.6.2.1. Régimen hidráulico, flujo y oxigenación.

Si nos centramos en los reactores para tratamiento en condiciones aerobias, lo habitual era un diseño como el presentado en la figura anterior, en la que el movimiento

de los soportes se consigue mediante una distribución especial de los sopladores de aire. Como sea que debe asegurarse una concentración de oxígeno disuelto de al menos 3mg/L, la turbulencia creada por los sopladores se utiliza para crear el patrón de movimiento. Esta sería la configuración básica, pero estudios recientes muestran que es aconsejable utilizar la corriente de recirculación del efluente, si es que contamos con un reactor con recirculación, para asegurar el correcto movimiento de los soportes. (*Odegaard, 2000*)

Otra característica es que en el diseño debe incluir una rejilla o dispositivo deflector del flujo, y que además evite que los soportes escapen del reactor (problema que se ha dado con el reactor de lecho fluidizado llegando incluso a pasar la arcilla expandida a la recirculación y obstruir la bomba). En función de si la operación será en condiciones anaerobias o no, se sustituirá la rejilla por una tapadera deflectora estanca con toberas para reintroducir el agua y crear el movimiento deseado. Se ha comprobado mediante estudios que la disposición ideal es una rejilla o deflector con un ángulo de 45° y recirculando por el centro. (*Dupla*)

#### **7.6.2.2 Soportes.**

Para los soportes podemos hacer las mismas observaciones que las de la sección anterior (7.5.2.6). La tecnología MBBR, como se ha señalado anteriormente, está regulada por varias patentes, y el relleno del reactor no es una excepción, los modelos disponibles están regulados por patentes, aunque estudios realizados demuestran que se pueden diseñar multitud de soportes en materiales plásticos (preferiblemente en polietileno de alta densidad) sin pérdidas considerables de efectividad, incluso superiores a las obtenidas con modelos patentados.

Una consideración que debe hacerse es que deben permitir el libre movimiento en el interior del reactor, y que por las colisiones entre ellos se regule de manera importante el grosor del biofilm, pero al mismo tiempo debe proporcionar huecos que faciliten la disponibilidad de superficie suficiente en su interior para la formación del biofilm pero sin que llegue a obturarlos.

En conclusión el Moving Bed Biofilm Reactor es un reactor con lecho fluidizado con ciertas características –y sobre todo por la cantidad de patentes que regulan su producción- que lo hacen un interesante objeto de estudio para la formación de biofilms. Los re-



llos para el reactor están patentados, por lo que se sugiere estudiar las diferencias entre distintos soportes. Por lo que respecta al régimen hidráulico y oxigenación las exigencias son las mismas que para los reactores de lecho fluidizado (debido a que es el régimen de transferencia de materia desde y hacia el interior del biofilm continua siendo el factor determinante del proceso). Es el estudio de los sopladores de aire o de las toberas de recirculación lo que debe de cuidarse al máximo para conseguir que el movimiento de los soportes sea idóneo.

## 8 REACTOR PARA DEPURACIÓN POR BIOFILMS

Se ha diseñado y construido un reactor que permita realizar los estudios necesarios sobre las características de los biofilms en la depuración de aguas residuales y de la capacidad de soportar aguas con sustancias tóxicas sometidas a procesos de oxidación avanzada.

Como se ha señalado con anterioridad los reactores para biofilms con biosoportos pueden operar con varios tipos de flujo para el agua y el aire. Además existen diferentes lechos (fijo, expandido, fluidizado...) y con diferentes tipos de relleno con sus formas, materiales y densidades. Es por ello que entre los parámetros de diseño se establecieron las siguientes necesidades:

1. Que permita trabajar con el flujo de agua en sentido ascendente y descendente.
2. Que el tipo de relleno pueda sustituirse por otro a fin de poder analizar diferentes soportes fijos o no. (Así se pueden simular lechos empacados o fluidizados, también se pretende analizar el Moving Bed Biofilm Reactor).
3. Que sea fácil de lavar y manipular.
4. El reactor será instalado en la azotea de la universidad por lo que también se ha construido una estructura en acero galvanizado.

### 8.1 MATERIALES

Para la construcción del cuerpo del reactor se utilizó una conducción de PVC de desagüe. EL PVC es un material ligero y resistente tanto a los agentes químicos como a la exposición a la intemperie. Además el que se parta de materiales que se encuentran en el mercado en grandes cantidades y a bajo coste lo hace indicado para las primeras fases de la investigación. Las características del PVC permiten manipularlo con cierta facilidad permitiendo obtener planchas de PVC a partir de secciones cilíndricas llevándolo a la temperatura de transición vítrea; también permite realizar uniones con adhesivo especial que constituye verdaderas soldaduras de unión. Otra característica es la maquinabilidad que permite perforarlo y cortarlo sin dificultad con herramientas adecuadas.



Al igual que el cuerpo del reactor, el resto de piezas; codos de 90°, casquillos reductores, adaptadores a rosca, tapa del reactor y reducción excéntrica también son de PVC y material de uso habitual en instalaciones hidráulicas



*Accesorios de PVC y tubería de 2500mm y 5m original de partida*

Las conducciones son de PET y los adaptadores para la conexión racor o directa a la conducción de PET son de latón.

Densidad	1,37 a 1,42 Kg/dm <sup>3</sup>
Coefficiente de dilatación lineal	0,000.060 a 0.000.080 m/°C/m.
Temperatura de ablandamiento	> 80°C
Módulo de elasticidad a 20° C	> 28.000 Kg./cm <sup>2</sup>
Tensión de rotura a tracción	> 500 Kg./cm <sup>2</sup>

*Propiedades del PVC*

## 8.2 DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN

### 8.2.1 Reactor:

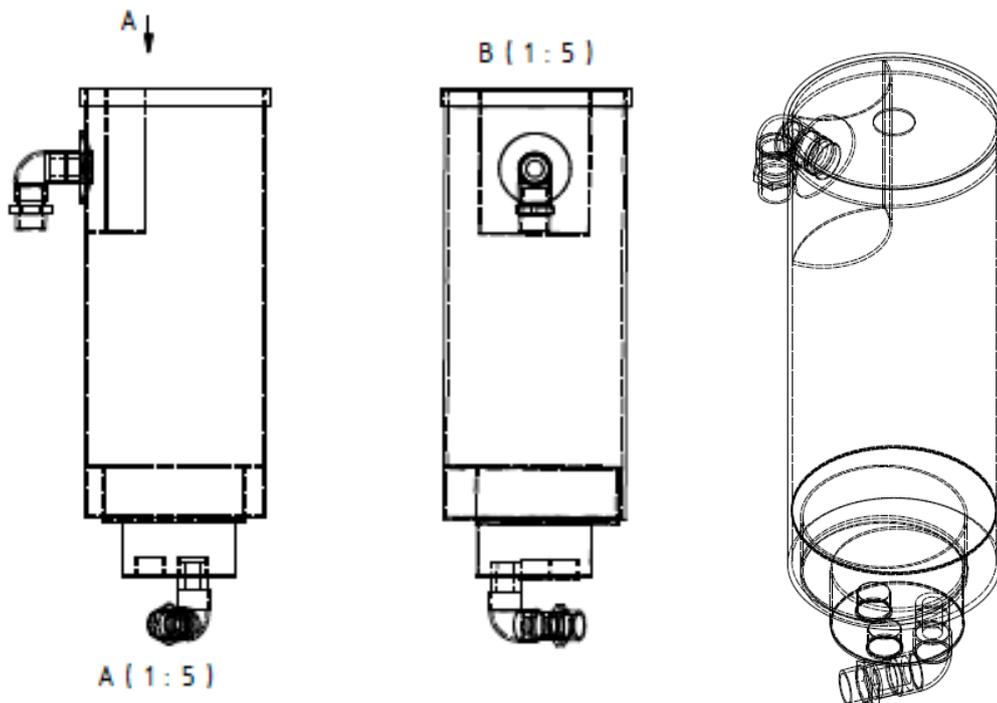
En un principio se partió de un diseño troncocónico de 20L de volumen. Posteriormente y para reducir el precio y la disponibilidad de materiales se sustituyó la reducción cónica inicial por un casquillo reductor excéntrico de 250mm a 200mm y a continuación una reducción excéntrica de 200mm a 160mm.



*Toma superior y lateral del reactor sin los soportes*

El cuerpo cilíndrico tiene una altura de 500mm y un diámetro interior de 250mm con lo que nos aseguramos una capacidad de 20L dejando un margen de seguridad para el volumen que pueda desplazar el relleno. Para obtener el volumen final hay que incluir el de las reducciones y casquillos.

La recirculación se asegura instalando una salida en la parte inferior a 90° de 40mm de diámetro con un adaptador a rosca de 2" sobre la que se rosca la reducción de latón. Del mismo modo se dispone de un injerto en la parte superior a 40mm para acoplar un codo de 90° y el adaptador a rosca de 2" y reducción roscada de latón.

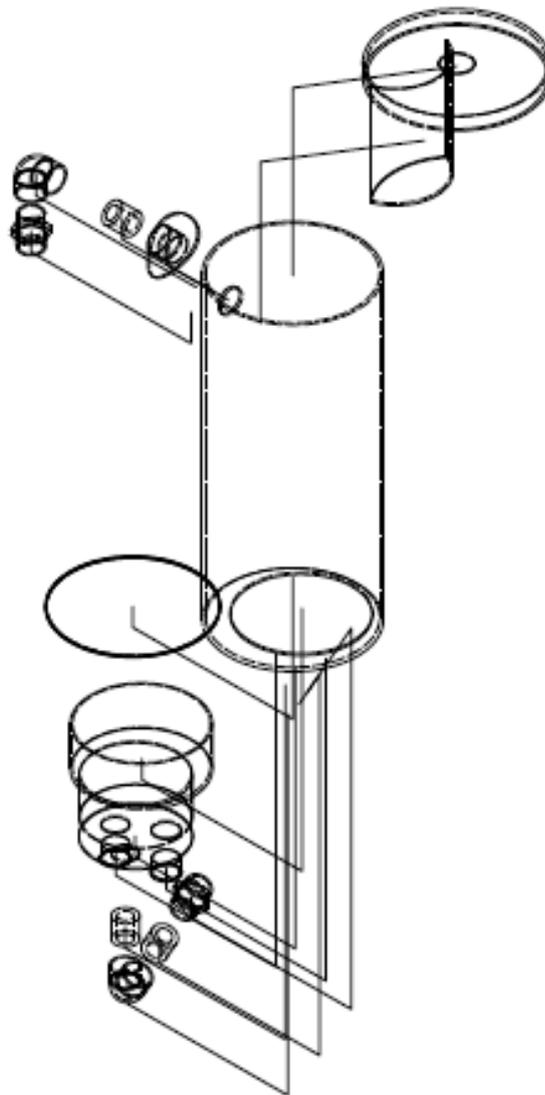


*Diferentes vistas del diseño final. Fuente: Diseño propio*



Para evitar que los soportes muy pequeños o que en un primer momento fangos o flóculos de fango produzcan obstrucciones o dañen la bomba se ha incluido una malla de fibra de vidrio de 1mm de luz en el casquillo reductor de 250mm a 200mm y una sección con perforaciones de 4mm de diámetro entre el seno de la disolución y el injerto de la parte superior.

Para evitar excesivas pérdidas por evaporación y al mismo tiempo permitir la instalación de una sonda multiparamétrica (permite seguir y registrar la evolución de pH, nitritos, oxígeno disuelto, turbidez, y otros en función de las sondas que se montan) hay un agujero en la parte superior de la tapa.



*Despiece del reactor. Fuente: diseño propio*

### **8.2.2 Estructura:**

Para instalar el reactor sin problemas de estabilidad y de un modo fiable se dispone de una estructura realizada en acero galvanizado de 2mm de grosor.

Es una estructura cúbica con cuatro patas de apoyo regulables individualmente en altura, lo que permite regular la altura adecuada a la ubicación y adaptar la estructura a futuros reactores.

A parte de la estabilidad y posibilidad de regulación se suma que al ser una estructura modular se puede ampliar en caso de necesidades futuras, ya sea ampliar el sistema con depósitos de estabilización, reactores de digestión de fangos o lo que se necesite en un más adelante.

### **8.2.3 Equipo de bombeo:**

Un factor importante para poder operar con distintos rellenos en el reactor y tipos de lecho, es el equipo de bombeo para el agua a tratar.

Se necesita que sea capaz de trabajar con caudales que permitan fluidificar o expandir lechos de distintas densidades.

Es deseable que la misma bomba disponga de un sistema de regulación electrónica del caudal y mejor aún si puede operar de manera reversible, aunque eso significa un aumento considerable en el precio.

Para reducir el coste se ha partido de un montaje con una bomba centrífuga de 60 L/min. de compartimento estanco, que estaba disponible de anteriores investigaciones. Para regular el caudal se utilizan válvulas de paso y para invertir el flujo se utiliza un bypass y dos válvulas antirretorno.

Más adelante conviene seleccionar la bomba adecuada si la disponible no cumpliera con las necesidades de operación del reactor.

Por otro lado se necesita que el agua este si no saturada muy próxima a la saturación de oxígeno en disolución. Para introducir el oxígeno desde la parte inferior hay tres difusores porosos de los utilizados en los acuarios, que se pueden conectar a uno o



varios compresores que son los encargados de bombear el aire al interior del reactor con un caudal de 2,2L/min. con lo que se obtienen cerca de 6gr/O<sub>2</sub> min.



*Cuerpo de la bomba y rotor desmontado por una obstrucción*

### 8.3 PRINCIPIOS BÁSICOS DE FUNCIONAMIENTO

En un principio y para las primeras experiencias se necesitaba operar con flujo en sentido ascendente, es decir tanto el aire como la recirculación se introducen por la parte inferior del reactor.

El caudal de la bomba en las condiciones de trabajo es de 30L/min. por lo que no es necesario ninguna regulación para reducir el mismo. Por el contrario no permite trabajar con lechos expandidos o fluidizados en el caso de utilizar rellenos con densidad superior a la del medio.

Considerando las limitaciones iniciales el relleno elegido y con la intención de no operar de manera semejante a la del clásico percolador, fue arcilla expandida. Además al flotar el relleno no se necesita lavar el lecho.

El funcionamiento descrito es el básico y se puede modificar si se invierte el flujo, ya sea con ayuda de un circuito o mediante una bomba.

### 8.4 ACONDICIONAMIENTO DE LA BIOMASA Y FORMACIÓN DEL BIOFILM

El primer paso para trabajar con los biofilms es acondicionar correctamente los microorganismos presentes en una muestra de fangos activos de la EDAR de Els Algars

en Alcoy. Lo que se pretende proporcionar unas condiciones que permitan el desarrollo y crecimiento de un biofilm sobre los biosoportres de relleno del reactor.

Se utilizó una muestra de fangos activos procedentes de la EDAR de Alcoy obtenida la misma mañana de la inoculación para minimizar la pérdida de biomasa y evitar la necesidad de alimentar y mantener oxigenada la muestra.

En un primer momento se pretendía estabilizar la muestra, retirar posibles sólidos de gran tamaño, y posteriormente decantar cuando los sólidos sedimentables reposaran (*l. Oller*). No obstante cuando en la caracterización inicial se observó que no había sólidos sedimentables, el valor a los 45 minutos de transvasar a cono Imhoff era 0.

Siguiendo las recomendaciones de los fabricantes y artículos disponibles se rellenó cerca del 60% del reactor con un lecho poroso de arcilla expandida (arlitita). Para ello se calculó el volumen útil del reactor que resultó ser aproximadamente de 20L – el límite se estableció entre la obertura superior de recirculación como mínimo, y el borde del reactor como máximo (desaconsejable)-.

Señalado el volumen se procedió a rellenar el interior con 9L de relleno que se lavó por 4 veces para retirar las partículas de tierra y otros posibles sólidos. Antes de inocular los fangos era necesario verificar el volumen de líquido que era posible tratar, para hacerlo se llenó el reactor con agua y se midió el volumen ideal que situaba el nivel a la altura de la toma para la recirculación. Visto que la cantidad de relleno era demasiada para el volumen de agua que se quería añadir (16L) y que debido a ello el relleno rebosaba por encima del reactor; se retiraron 2L de relleno quedando en 7L. Solventado el problema se rellenó el reactor con la muestra de fangos directamente.

Como no se detectaron posibles sustratos inhibidores de la degradación biológica no fue necesario efectuar un lavado del fango obtenido a fin de liberarlo de restos de sustrato ni por lo tanto efectuar una centrifugación.

El volumen del reactor, contando el de las conducciones para la recirculación, se ha ajustado a 16L, se inocula el reactor con fangos de la procedencia indicada.



*Vistas superiores del reactor con el relleno y los fangos.*

Con anterioridad, en la caracterización inicial del agua residual de la EDAR, se pretendía determinar el contenido en carbono, tanto orgánico como inorgánico, con el fin de añadir al reactor la cantidad justa de las disoluciones minerales preparadas con anterioridad. Con ello nos aseguramos de que las condiciones para el desarrollo del biofilm son las ideales. Pero el TOC estaba pendiente de calibrar por haber dado con anterioridad resultados incoherentes (negativos) y no se efectuó el cálculo.

Al día siguiente, 5 de diciembre, se alimento el reactor con 140gr de sacarosa (azúcar comercial) y con 25 mL de la parte mineral del agua residual sintética representada más abajo.

El sistema se mantuvo con recirculación a bajo caudal durante 5 días. Durante este periodo solo se controló la evolución del pH, manteniéndolo entre valores de 6,5-7,5 y la correcta aireación del reactor manteniendo el OD a valores próximos a la saturación no inferiores a 4 mg/L.

Durante este tiempo se siguió la evolución de los sólidos sedimentables como parámetro indicativo de la formación del biofilm, conforme se forma la matriz polimérica extracelular quedan atrapados en ella y sirven de alimento para los microorganismos. El valor de sólidos en suspensión de partida es de 2,76gr/L, que corresponde a una DQO DE 3,76 gr O<sub>2</sub>/L. Un aumento en la cantidad de sólidos en suspensión indicaría que se está

degradando la matriz polimérica que constituye el biofilm, como en el caso de la presencia de agentes tóxicos.

Pasados los cinco días se volvió a calcular el valor de los sólidos en suspensión obteniendo un valor de 0,279 gr/L, dato que indica la formación de un biofilm. También se calculó la DQO sobre una muestra diluida 1:5 obteniendo 386mg/L lo que significa una DQO de 1930mg/L. Inferior a la calculada para el momento de inocular el reactor, además hay que considerar el efecto de los 140gr de sacarosa añadida el viernes.

A fin de poder asegurar que se ha formado el biofilm y que es efectivo frente a la degradación de materia orgánica se añadieron al reactor 3,230gr de  $\text{CH}_3\text{COONa}$ , fácilmente biodegradable. A los 10 min de añadirlo al reactor, tiempo suficiente para que la muestra tomada sea representativa y homogénea se calculó la DQO de una muestra filtrada en un filtro de 0,45 micras, el valor obtenido es de 1930mg las 2h se volvió a calcular la DQO obteniendo un valor de 1430 que indica que las biomasa fija en el soporte ha degradado la materia orgánica.

El sistema descrito se volvió a inocular con 5L de fangos de la misma procedencia pasados los 5 días que coinciden con la estabilización de los SS a valores cercanos a 0 con lo que, aparte de proporcionar una nueva fuente de carbono, se conseguirá un aumento importante de la concentración de biomasa.

Cuando el valor de los SS se estabilice se procederá al vaciado del sistema, con precaución de no dañar el biofilm. En este punto se debería haber formado un biofilm en la superficie de los biosoportes. Para comprobar la efectividad del biofilm formado se debe efectuar una prueba sobre un agua residual sintética con la composición de la figura, se calcularán la DBO5 , DQO y COT iniciales y la evolución temporal. La muestra se recirculará en el reactor 100 veces y luego se dejará hasta que se estabilice la DQO. Con los datos obtenidos se calculará la tasa de eliminación.

La misma experiencia se repetirá con posterioridad sobre una muestra procedente de los tanques de homogeneización de la EDAR de Els Algars. Se caracterizará el efluente (DBO5, DQO, COT). Para ambas experiencias se controló el pH entre [6.5-7.5]. También se seguirá la evolución de la DQO hasta que se estabilice y cada 100 ciclos. Una vez demostrada la efectividad del biofilm se continuará con la caracterización del reactor, y con varios rellenos, operando de igual modo para asegurar la formación del biofilm.



Para el agua residual sintética se utilizarán las siguientes sustancias para 1L de agua residual.

16 g de Peptona

11 g de extracto de carne

3 g de urea

0,7 g de NaCl

0,4 g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

0,2 g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$

2,8 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$

*composición del agua residual sintética*

Los resultados obtenidos en otras investigaciones han permitido aplicar el diseño a estaciones de depuración de aguas residuales que necesitaban ser ampliadas para tratar mayores caudales y no disponían de espacio suficiente para realizarla, o con la intención de disminuir el coste de las obras de ampliación. Un ejemplo es la ampliación de la EDAR de Olite, en Navarra en la que se ha sustituido el tanque de aireación por un reactor de lecho fluidizado con relleno de biosoportres consiguiendo un aumento en la eficiencia del proceso que permite tratar mayores volúmenes de agua residual sin necesitar un redimensionado de las instalaciones.

## 9 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS MISMOS

Acostumbrados a gran cantidad de datos y análisis con la intención de entender mejor muchos procesos físico-químicos, es extraño el análisis de los resultados obtenidos, porque en realidad el resultado del proyecto ha sido la materialización de un reactor.

No parece gran trabajo, pero me ha llevado más tiempo que el que lleva “pegar un cilindro a una tapadera” como yo mismo definía el reactor coloquialmente.

La selección de materiales, adquisición de los mismos, búsqueda de proveedores... ya han llevado su tiempo, la labor de un ingeniero contempla múltiples facetas, y personalmente quería reducir los costos al mínimo, y como en el caso de los colectores solares cilíndrico-parabólicos es importante poder construir el reactor con material habitual en almacenes de fontanería, incluso frente a la necesidad de hacer pedidos de pieza se modificó el diseño para poder continuar con los materiales más habituales.

Otro de los puntos complejos ha sido aprender la técnica para manejar el PVC, lograr obtener planchas introduciendo secciones tubulares en un horno, mecanizar la superficie para obtener formas concretas que respondan a las necesidades detectadas, acoplar piezas al reactor sin pérdida de agua.

Finalmente está la selección del equipo de bombeo. Es obvio que para operar en condiciones de lecho expandido o Moving Bed Biofilm Reactor es necesaria una bomba que permita manejar un mayor caudal, pero gracias a las pruebas que se han realizado hasta el momento, también es interesante adquirir una bomba que pueda funcionar de manera inversa o que permita la regulación -mejor si es electrónica- del caudal mediante modificación de la frecuencia. Si se hubiera adquirido el modelo de bomba que parecía más adecuado, se habría perdido tiempo, dinero e ilusión...(también algo de mi credibilidad).

Para terminar con el diseño y construcción y discutir el resultado de la colonización del soporte, creo que la estructura para sostener el reactor, aunque sencilla, también ha llevado su tiempo de trabajo. En un principio partí de una estructura realizada con perfiles metálicos y soldada mediante arco eléctrico, pero la verdad es que el no convencía por lo poco flexible del diseño. La estructura final es modulable, y se puede modificar frente a posibles necesidades futuras, además para ello sólo es necesario un par de llaves.



Acerca de los resultados obtenidos con el primer ensayo de formación del biofilm y frente a las dificultades encontradas y limitación de tiempo los resultados permiten realizar algunas consideraciones:

El tipo de relleno, arcilla expandida, es de costo reducido, pero presenta una densidad demasiado baja flotando sobre el agua. Para solventar el problema se añadieron uniones atornilladas a la tapa superior para poder empujar el relleno al seno del líquido y mejorar el contacto.

Una vez en funcionamiento aparecieron los problemas derivados de la formación de espuma, para evitar el problema se añadió una tapa deslizable a la tapa principal reduciendo los fangos que aparecían por el agujero destinado a la instalación de una sonda multiparamétrica.



*Se puede apreciar la espuma formada sobre el relleno*

El problema de la espuma se solucionaba cambiando el sentido de flujo a descendente, pero pasados unos minutos el relleno se salía literalmente del reactor, parece ser que introducir la recirculación por la parte inferior se mejoraba la distribución de aire y las burbujas formadas eran más finas y se mejoraba la distribución. Por ello se volvió a la configuración original.

Finalmente destaca la poca flexibilidad del sistema ante la necesidad de limpiar la bomba de partículas que penetren en su interior. Pese a los dos filtros encontré una partícula de arcilla expandida en el interior del circuito de recirculación, parece ser que se introdujo al rellenar el reactor, por lo que no es un problema de diseño de importancia.

La solución ha sido instalar dos válvulas semiesféricas en las dos conexiones del reactor para poder cerrar el circuito y reducir las pérdidas.

Frente a los resultados en depuración de aguas residuales no puedo llegar a conclusiones debido a que aún no dispongo de los resultados. Aunque será parte de futuras investigaciones.

Las conclusiones a extraer respecto al diseño son pequeñas variaciones para mejorar la toma de muestras y retener rellenos de baja densidad como el utilizado (relleno de materiales plásticos). También, aunque era un factor que se iba a evaluar empíricamente, era el de sustituir la bomba por una de mayor potencia (caudal y columna de agua) ya que al hecho de la poca potencia de la disponible se unió la elevada pérdida de carga asociada a la arcilla expandida habrá que estudiar otros rellenos y formas de trabajar con el reactor como puede ser el MBBR.



## 10 OBJETIVOS FUTUROS

Una vez se ha comprobado el correcto funcionamiento del reactor y que, en efecto, los fangos activos obtenidos de la EDAR de els Algars se han adaptado sin dificultad al nuevo medio y han formado un biofilm sobre los soportes introducidos se puede pasar a la siguiente fase de investigación.

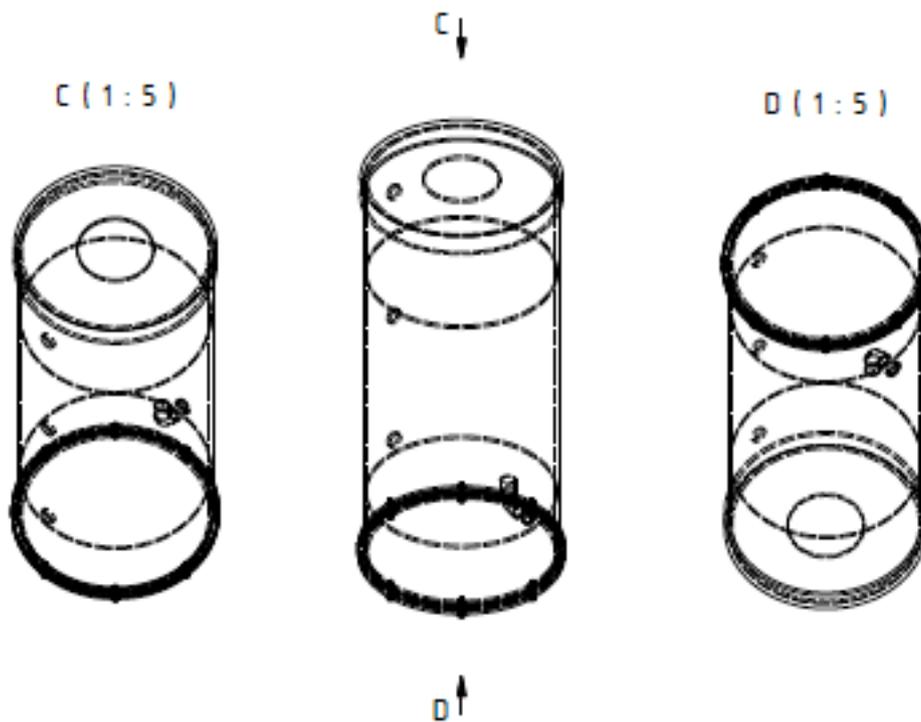
En un principio y para las experiencias futuras a realizar conviene saber cual es el objetivo final. Así pues, y en relación con los contenidos y líneas de investigación del Departamento de Ingeniería Textil y Papelera, y sobre todo, centrándonos en la descontaminación de aguas con residuos recalcitrantes y/o tóxicos para la vida bacteriana mediante procesos de oxidación avanzada; sería interesante estudiar el comportamiento de los biofilms cuando se asocian a uno de los tratamientos anunciados.

Ya se han realizado investigaciones similares en la Planta Solar de Almería, por la Dra. Isabel Oller Alberola *Depuración de Aguas Contaminadas con Tóxicos Persistentes Mediante Combinación de Fotocatálisis Solar y Oxidación Biológica*, 2008. en el caso enunciado se trataba de un tratamiento con relleno de Pall Rings y el lecho era fijo, no fluidizado ni expandido. Es por ello que es interesante determinar el comportamiento de distintas configuraciones del flujo en el reactor, así como posibles modificaciones del reactor como puede ser añadir otros reactores en serie, prefiltros clarificadores, trabajo en lecho fluido, lecho expandido y con diferentes soportes para la formación del biofilm...personalmente considero que sería interesante la modificación del reactor, sustituir los materiales por metacrilato, para poder analizar el flujo creado en un Moving Bed Biofilm Reactor, y caracterizar las configuraciones de flujo, caudales y sentido, para determinar la más favorable.

Como primer paso se determinaría para distintos flujos y caudales el coeficiente volumétrico de transferencia de materia por el método dinámico o por alguna de las modificaciones existentes. También para diferentes rellenos a fin de determinar si es un factor influyente o no. Para continuar con la caracterización del reactor se intentará establecer la cinética para la degradación mediante biofilms y cuál es el más efectivo de los sistemas.

Finalmente se podrá analizar el acoplamiento a procesos de oxidación avanzada de compuestos tóxicos, inhibidores y/o recalcitrantes.

Para todo ello sería interesante trabajar con el reactor objeto del presente trabajo y construir otro reactor que se adapte a las necesidades que no han sido cubiertas por este. Entre las necesidades que se han identificado para el futuro está, instalar placas deflectoras para alterar la distribución del flujo y que el material de construcción sea metacrilato, más caro pero permitirá estudiar el recorrido que siguen los portadores en los reactores de lecho en movimiento.



*Nuevo diseño para el Moving Bed Biofilm Reactor. Fuente: diseño propio*



## 11 REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

Bjorn Rusten, Bjørnar Eikebrokk, Yngve Ulgenes, Eivind Lygren. Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors. *Aquacultural engineering*. 2006. Vol 34, 322-331

C. O'Neill, F. R. Hawkes, D. L. Hawkes, S. Esteves, S. J. Wilcox. Anaerobic-aerobic biotreatment of simulated textile effluent containing varied ratios of starch and azo dye. *Water Research*, Volume 34, Issue 8, June 2000, Pages 2355-2361.

Colón-González Mt, Membrillo-Hernández J. Comunicación entre bacterias. [http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO\\_04/Capitulo04.pdf](http://www.microbiologia.org.mx/microbiosenlinea/CAPITULO_04/Capitulo04.pdf)

Costerton Jw, Geesey Gg, Cheng Kj. How Bacteria Stick. *Sci Am* 1978; 238: 86-95.

Davies Dg, Parsek Mr, Pearson Jp, Iglewski Bh, Costerton Jw, Greenberg Ep. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science* 1998; 280: 295-8.

Fletcher M. Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium-substratum separation distance. *J Bacteriol* 1988; 170: 2027-30.

Gonçalves, R.F., Le Grand, L. y Rogalla, F. (1994) Biological Phosphorus Uptake in Submerged Biofilters with Nitrogen Removal. *17th IAWQ Biennial International Conference*. Budapest, pp 257-265

Harremoës P. (1978): 'Biofilm Kinetics', En: Mitchell, R. (Ed.), *Water Pollution Microbiology*. Tomo 2, pp. 71 -109.

Harremoës, P. (1982): Criteria for nitrification in fixed film reactors. *Water Science and Technology*, 14, (1/2), 167-187.

Harremoës, P. y Rauch, W. (1996): Integrated design and analysis of drainage systems, including sewers, treatment plant and receiving waters. *Journal of Hydraulic Research*, 34, (6), 815-826.

Hospido A., Moreira, M. T., Fernández-Couto, M., Feijoo, G. Environmental performance of a municipal wastewater treatment plant. Ecomed Publishers. 2004.

<http://es.wikipedia.org/wiki/Bacteria>. Imagen de las fases del desarrollo bacteriano.

Isabel Oller Alberola. Depuración de Aguas Contaminadas con Tóxicos Persistentes Mediante Combinación de Fotocatálisis Solar y Oxidación Biológica, 2008. Tesis doctoral.

Jaap van Rijn, Yossi Tal, Harold J. Schreier. Denitrification in recirculating systems: Theory and applications. *Aquacultural Engineering*, Volume 34, Issue 3, May 2006, Pages 364-376

James E. Bailey, David F. Ollis. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2nd ed 1986. McGraw-Hill & Co.

Julio Nazar C., Biofilms bacterianos, *Rev. Otorrinolaringología Cir. Cabeza Cuello* 2007; 67: 61-72

L. G. T. Vieira<sup>1</sup>, M. Zaiat<sup>1</sup>, E. Foresti<sup>1</sup> and C. O. Hokka. Estimation of intrinsic kinetic parameters in immobilised cell systems for anaerobic wastewater treatment. *Biotechnology Techniques*. 1996 Vol 10 635-638.

- Lasa I. , Del Pozo JI, Penadés Jr, Leiva J. Biofilms bacterianos. Recurso web [www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/](http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/)
- M.M. Vilaseca. Observación Microscópica De Fangos Activados. Boletín Intexter (U.P.C.) 2001. N° 119.
- Marianne Dupla, Yves Comeau, Serge Parent, Richard Villemur, Mario Jolicoeur. Water Research. 2000. Vol. 40 249-258.
- Metcalf and Eddy Inc.,. Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse, (1985) 3rd ed., McGraw-Hill.
- Odegaard, H., Gisvold, B., Strickland, J., 2000. The influence of size and shape in the moving bed biofilm process. Water Sci. Technol. 41 (4-5), 383–391.
- Odegaard, H., Rusten, B., Westrum, T., 1994. A new moving bed biofilm reactor - applications and results. Water Sci. Technol. 29 (10–11), 157–165.
- Okey, R.W., and Albertson, O.E. (1989). Evidence for Oxygen-Limiting Conditions during Tertiary Fixed-Film Nitrification. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **61**, 510.
- Ødegaard, H., Rusten, B., Siljudalen, J., 1999. The development of the moving bed biofilm process—from idea to commercial product. Eur. Water Manage. 2 (3), 36–43.
- Ødegaard, H., Rusten, B., Wessman, F. (2004) State of the art in Europe of the moving bed biofilm reactor (MBBR) process. Paper presented at WEFTEC'04 in New Orleans, 4 October.
- Panikov, Nicolai S. Microbial Growth Kinetics. Springer. 1995 ISBN: 0412566303
- Paul Stoodley, Dirk Debeer, And Zbigniew Lewandowski. Liquid Flow In Biofilm Systems. Applied And Environmental Microbiology 1994, P. 2711-2716 Vol. 60, No. 8.
- Paula H.Dreeszen, The key to understanding and controlling bacterial growth in Automated Drinking Water Systems, Second Edition. June 2003
- Pike, E. B., and C. R. Curds. 1971. The microbial ecology of the activated sludge process. In G. Sykes and F. A. Skinner (ed.), Microbial aspects of pollution. Academic Press Inc., New York.
- Prendes Gero, M<sup>a</sup> Belén; Martínez Huerta, Gemma M.; Alba González-Fanjul, Carlos; De Cos Juez, F. Javier. Diseño Gráfico De Bioportadores Para Tratamiento De Aguas Residuales. 2005.
- Pujol R., J. P. Canler and A. Iwema, Biological Aereated Biofilters: An attractive and alternative biological process. Water Sci. Technol., 36:171-179, 1992.
- R. M. Atlas, R.Bartha. Ecología microbiana y Microbiología ambiental (4<sup>a</sup> ed.) Ed. Addison Wesley. 2002. ISBN: 84-7829-039-7.
- Ralph L. Stephenson, Jr., James B. Blackburn. The Industrial Wastewater Systems Handbook. 1997 Lewis Publishers. ISBN-1-56670-209-7
- Rothmund, C., U. Schindler, and P. A. Wilderer. 1993. Influence of flow and mass transport on structure and function of membrane bound biofilms. Int. A
- Scott, J. P. and Ollis, D. F. Integration of chemical and biological oxidation processes for water treatment: review and recommendations. 1995 Environ. Prog., 14, 88-103.



Stoodley, Paul. The influence of liquid flow and nutrients on biofilm structure and behaviour. ( 1999) . Thesis (Ph. D.)--University of Exeter, 1999.

Strohmeier, A., and Schroeter, I. (1993). "Experiences with biological filtration in advanced wastewater treatment." *Proc., Eur. Water Filtration Congr*

Suh, Y.-J. P. Rousseaux. An LCA of alternative wastewater sludge treatment scenarios. *Resources, Conservation and Recycling* 35(3) -191-200. 2002.

Wilderer PA, Characklis WG (1989) Structure and function of biofilms. In: Characklis WG and Wilderer PA (eds) Structure and function of biofilms. Dahlem Workshop Reports. Life Sciences Research Report 46. Wiley-Interscience, New York

Yoon H, Klinzing G, Blanch HW. Competition for mixed substrates by microbial populations. *Biotechnol Bioeng.* 1977 Aug;19(8):1193-210.

