





UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
Departamento de Ingeniería Química

**Contribución a la mejora del tratamiento biológico
de aguas residuales de la industria de curtidos.**

Memoria presentada por:

Priscila Artiga Acuña

Para optar al grado de Doctor por la
Universidad de Santiago de Compostela

Santiago de Compostela, junio de 2005

Título:

Contribución a la mejora del tratamiento biológico
de aguas residuales de la industria de curtidos

Serie:

Tesis Doctorales. Grupo de Ingeniería Ambiental y Bioprocesos - USC

Foto de portada:

Salto del Petrohue. Los Lagos. CHILE

Reservados todos los derechos. Está prohibido, bajo sanciones penales y el resarcimiento civil previsto en las leyes, reproducir, registrar o transmitir esta publicación, íntegra o parcialmente por cualquier sistema de recuperación y por cualquier medio, sea mecánico, electrónico, magnético, electroóptico, por fotocopia o por cualquier otro, sin la autorización previa por escrito del autor.

©Priscila Artiga Acuña, 2005
Departamento de Ingeniería Química
Universidade de Santiago de Compostela

Imprime: Lápicés4
Av. da Coruña 4
Santiago de Compostela
A Coruña - SPAIN

Depósito legal: C-1555-05
ISBN: 84-609-6311-X
Impreso en España



UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
Departamento de Ingeniería Química

Ramón J. Méndez Pampín, Catedrático de Ingeniería Química y **Juan Manuel Garrido Fernández**, Profesor contratado de Ingeniería Química, ambos de la Universidad de Santiago de Compostela,

Informan:

Que la presente memoria titulada “Contribución a la mejora del tratamiento biológico de aguas residuales de la industria de curtidos” presentada por Priscila M. Artiga Acuña para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo nuestra dirección en el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela.

Y para que conste, firman en Santiago de Compostela, junio de 2005

Fdo. Ramón Méndez P.

Fdo. Juan M. Garrido F.

Esta memoria fue presentada el 3 de junio de 2005 en la Escola Técnica Superior de Enxeñería (ETSE) de la Universidad de Santiago de Compostela, ante un tribunal constituido por los doctores:

Sebastián Delgado Díaz, del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de La Laguna.

Francesca Malpei, del Departamento de Hydraulic, Environmental, Transportation and Surveying del Politécnico de Milano, Italia.

Rosario Oliveira, del Departamento de Engenharia Biológica de la Universidade do Minho, Braga, Portugal.

Manuel Soto Castiñeiras, del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de A Coruña.

Francisco Omil Prieto, del Departamento de Ingeniería Química de la Universidad de Santiago de Compostela.

Recibió la calificación ***Sobresaliente Cum Laude***, y el reconocimiento como “Doctorado Europeo” dentro del programa de Doctorado “Ingeniería Química y Ambiental” (2149-03-1) que tiene concedida la Mención del Calidad por el Ministerio de Educación.

AGRADECIMIENTOS

En estas líneas quiero expresar mis agradecimientos a todos los profesores que forman parte de este grupo de investigación y que colaboraron de una u otra forma en la realización de esta tesis doctoral, en especial a Ramón Méndez y Juan M. Lema.

A la Universidad de la Frontera-Temuco (Chile) que por medio del profesor Cristian Bornhardt me ha dado la posibilidad de disfrutar de una beca de la red Alfa BI-EURAM. A la Universidad de Santiago de Compostela (España) por financiar una parte de esta investigación y a los Ministerios Español e Italiano por financiar la estancia de investigación en el Politécnico di Milano-Italia a través de la Acción Integrada Ref. (HI2002-0138).

A Maribel Reyero, por la disponibilidad para proporcionarme la alimentación para mis reactores y cualquier ayuda que necesitara.

Un ringraziamento speciale a Elena Ficara per la disponibilità dimostrata nel corso della ricerca in Italia. A ti Francesca, per la grande sensibilità dimostrata nei miei confronti, il mio più sincero *GRAZIE*. Un ricordo speciale alla memoria del Prof. Alberto Rozzi.

No puedo dejar de hacer una mención especial a mis directores de tesis Ramón Méndez Pampín y Juan M. Garrido Fernández. A Moncho Pampín, por el apoyo en esta investigación y por esa gran calidad humana reflejada en su preocupación en aquellos momentos no tan fáciles. A Juan, por el apoyo científico, por la suya amistad y por escuchar los meus agobios, sólo decirles *misión cumplida ...*

A mis compañeros del grupo de investigación: de la Facultad de Química, del IIT y de la ETSE (disculpad por no nombrar a cada uno de vosotros, pero en estos años han sido muchos con los que he compartido y cada uno ha sido de una u otra forma especial para mí ... y no quisiera olvidar a nadie), sólo agradecerles el buen ambiente de trabajo que me habéis brindado, los maravillosos momentos compartidos durante estos años y la paciencia por soportar en algunos momentos los olores de mis aguas. En especial quiero agradecer a Vinka por la ayuda prestada en mis comienzos en el laboratorio. Así mismo, a José Manuel Loureiro por cargar tantas veces con mis bidones con agua y a Belén Arrojo por recordarme de mis caprichitos de Italia y por su especial compañerismo. A Mar Orge, por esas gratas horas de comida y a Rosa Arcos por los agradables momentos compartidos en la Facultad.

A Maribel y Xurxo por vuestra amistad. A Marga y Pedro por el ánimo y ayuda que me han brindado en este último tiempo ... a Pedrito y Eva por ese cariño y

dulzura entregada que alegraron muchas veces los primeros minutos de tantas mañanas. A Anuska, por los kilómetros caminados y los pendientes, por todas aquellas veces en las que sus comentarios hicieron que todo trabajo quedara mejor. A José Luis, pola súa grande disposición para votarme unha man, polos consellos no traballo e por esas xornadas de análise no *Plaza*.

A mis amigas, Ana Maceiras y Ana Costa, por todos estos años de amistad, por disfrutar de mis logros y por todo el cariño brindado. A Moncho Blanco, agradecer todas aquellos detalles que has tenido con esta "*chilenita*".

A mis "*viejas amigas*": Ana Julia, Waleska y en especial a ti Ernita por continuar cultivando esa amistad, aunque a muchos kilómetros de distancia.

A los míos, aunque ellos ya lo saben ... A papá por el infinito apoyo en mis decisiones, aunque se lo difícil que te resulta tenerme lejos. A Natalia por escuchar mis penas y alegrías. A mis tíos Lola y Miguel por el cariño y fuerza que me han entregado y a mi querido Beni por confiar en mi en todo momento y por el infinito apoyo y amor entregado que ha hecho este caminar más feliz.

"No hay proyectos de envergadura que sean de una sola persona"

R.M.

ÍNDICE

Resumo	R-1
Resumen	R-3
Abstract	A-1
0. Objetivos	0-1
1. Introducción	
Resumen	1-1
1.1. Aspectos ambientales de la industria de curtidos	1-2
1.1.1. Situación actual de la industria de curtidos	1-2
1.1.2. Caracterización de las aguas residuales	1-6
1.1.3. Tecnologías convencionales para el tratamiento de las aguas residuales de curtiembres	1-9
1.1.3.1. Tratamientos físico-químicos	1-10
1.1.3.2. Tratamientos biológicos	1-14
1.1.3.3. Nuevas Tecnologías: biorreactores de membrana	1-22
1.2. Métodos empleados en la caracterización de la actividad microbiana de la biomasa	1-27
1.2.1. Métodos químicos	1-27
1.2.2. Métodos calorimétricos	1-28
1.2.3. Métodos respirométricos	1-32
1.2.4. Métodos de titulación	1-35
1.3. Referencias	1-42
2. Determinación de actividades amonio oxidantes mediante un sistema de titulación a pH constante	
Resumen	2-1
2.1. Introducción	2-2
2.2. Materiales y métodos	2-4
2.2.1. Equipo empleado (pH-stat) y procedimiento utilizado	2-4
2.2.2. Ensayos realizados	2-6
2.2.2.1. Determinación de actividades amonio oxidantes de biomasa en suspensión	2-6
2.2.2.2. Ensayos de inhibición sobre biomasa en suspensión, ejercicio de intercalibración	2-7
2.2.2.3. Ensayos de inhibición sobre biopelículas	2-8
2.2.3. Cálculo de las actividades	2-9
2.2.3.1. Cálculo de la actividad amonio oxidante	2-9
2.2.3.2. Cálculo del porcentaje de inhibición	2-9
2.2.3.3. Estimación de la concentración inhibitorio al 50% (IC ₅₀)	2-10

2.3.	Resultados y discusión	2-12
2.3.1.	Determinación de actividades amonio oxidantes de biomasa en suspensión	2-12
2.3.2.	Ensayos de inhibición sobre biomasa en suspensión para la intercalibración	2-14
2.3.3.	Ensayos de inhibición sobre biopelículas	2-23
2.4	Conclusiones	2-28
2.5	Referencias	2-29

3. Caracterización de biomasa nitrificante y desnitrificante mediante un sistema de titulación pH-DOstat

	Resumen	3-1
3.1.	Introducción	3-2
3.2.	Materiales y métodos	3-3
3.2.1.	Equipo empleado (pH-DO-stat) y procedimiento utilizado	3-3
3.2.2.	Ensayos realizados	3-6
3.2.2.1.	Determinación de actividades amonio oxidantes de lodos activados	3-6
3.2.2.2.	Determinación de actividades amonio oxidantes de biomasa proveniente de un reactor SHARON	3-7
3.2.2.3.	Estimación de parámetros cinéticos de una biomasa desnitrificante autótrofa	3-8
3.2.2.4.	Ensayos de inhibición sobre biomasa nitrificante	3-9
3.2.3.	Cálculo de parámetros cinéticos	3-11
3.2.3.1.	Biomasa nitrificante	3-11
3.2.3.2.	Biomasa desnitrificante autótrofa	3-11
3.2.3.3.	Parámetros de inhibición sobre biomasa nitrificante	3-12
3.3.	Resultados y discusión	3-12
3.3.1.	Determinación de actividades amonio y nitrito oxidantes	3-12
3.3.2.	Parámetros cinéticos de biomasa del reactor SHARON	3-18
3.3.3.	Parámetros cinéticos de una biomasa desnitrificante autótrofa	3-18
3.3.4.	Ensayos de inhibición	3-19
3.4.	Conclusiones	3-25
3.5.	Referencias	3-27

4. Evaluación de alternativas para la eliminación biológica de materia orgánica y nitrógeno en aguas residuales de curtiembres

	Resumen	4-1
4.1.	Introducción	4-2
4.2.	Materiales y métodos	4-4

4.2.1	Métodos analíticos	4-4
4.2.2.	Sistemas experimentales	4-12
4.2.3.	Características de las aguas residuales	4-15
4.2.4.	Estrategia de operación	4-17
4.3.	Resultados y discusión	4-19
4.3.1	Etapa nitrificante	4-19
4.3.2	Etapa desnitrificante	4-23
4.3.3.	Etapa de operación en semicontinuo	4-27
4.4.	Conclusiones	4-35
4.5	Referencias	4-37

5. Tratamiento de aguas residuales de la corriente de ribera en un reactor híbrido de membrana

	Resumen	5-1
5.1.	Introducción	5-2
5.2.	Materiales y Métodos	5-4
5.2.1.	Composición de la fase líquida	5-4
5.2.1.1.	Distribución de masas moleculares	5-5
5.2.2.	Composición y actividad de la biomasa en suspensión	5-5
5.2.3.	Composición y actividad de las biopelículas	5-5
5.2.3.1.	Separación y acondicionamiento de las muestras de biopelículas	5-6
5.2.3.2.	Concentración de proteínas	5-7
5.2.3.3.	Concentración de polisacáridos	5-8
5.2.3.4.	Determinación de DQO de la biopelícula	5-10
5.2.3.5.	Determinación de la actividad de la microbiana de la biomasa adherida	5-11
5.2.4.	Evaluación del coeficiente de transferencia de oxígeno	5-11
5.2.5.	Sistema experimental	5-13
5.2.6.	Características del agua residual utilizada	5-15
5.2.7.	Estrategia de operación	5-15
5.3.	Resultados y discusión	5-16
5.3.1	Eliminación de materia orgánica	5-16
5.3.2.	Oxidación de amonio en el reactor híbrido de membrana	5-18
5.3.3.	Evolución de la concentración de la biomasa en suspensión y de la biopelícula	5-21
5.3.4.	Efecto de la concentración microbiana sobre la transferencia de oxígeno	5-26
5.3.5.	Actividad de la biomasa en suspensión y adherida	5-26
5.3.6.	Distribución de masas moleculares en influente, reactor y efluente	5-28
5.3.7.	Operación del módulo de membrana	5-30
5.4.	Conclusiones	5-33
5.5.	Referencias	5-34

6.	Depuración de aguas residuales industriales a escala piloto en un biorreactor de membrana sumergida	
	Resumen	6-1
6.1.	Introducción	6-2
6.2.	Materiales y Métodos	6-4
6.2.1.	Métodos analíticos	6-4
6.2.2.	Sistema experimental	6-5
6.2.3.	Características de las aguas residuales utilizadas	6-7
6.2.4.	Estrategia de operación	6-8
6.3.	Resultados y discusión	6-8
6.3.1.	Eliminación de materia orgánica en el BRM	6-8
6.3.2.	Rendimiento del módulo de membrana	6-11
6.3.2.1.	Alternativas para la operación del módulo	6-11
6.3.2.2.	Condiciones de operación	6-13
6.3.2.3.	Evolución de la permeabilidad del módulo de membrana	6-14
6.3.2.4.	Efecto de la concentración de biomasa sobre la permeabilidad de la membrana	6-16
6.3.2.5.	Efecto de la concentración de biomasa sobre la transferencia de oxígeno	6-18
6.4.	Conclusiones	6-21
6.5.	Referencias	6-22
	Conclusiones generales y posibles implicaciones	C-1
	Main conclusions of this research and posible implications	CC-1

RESUMO

Os obxectivos desta Tese Doutoral son a mellora e a optimización dos procesos empregados no tratamento biolóxico das augas residuais na industria de curtidos, agrupándose os estudos feitos en tres etapas diferenciadas: 1) Posta a punto de novos sistemas de monitorización para o seguimento da actividade e toxicidade microbiana en sistemas de depuración biolóxicos, mediante sistemas de titulación; 2) Avaliación de estratexias para a mellora dos procesos convencionais de lamas activas; y 3) Aplicación de novos reactores biolóxicos de membrana no tratamento destas augas.

Durante a primeira etapa estudiáronse os sistemas de monitorización ANITA e MARTINA, desenvolvidos recentemente polo Politécnico de Milán. A operación destes sistemas baséase na adición de diversas disolucións de titulación alcalinas, ácidas ou de peróxido de hidróxeno que permiten determinar a actividade microbiana, mediante o seguimento do consumo das disolucións titulantes. Os ensaios con estes sistemas son de fácil desenvolvemento, a penas se deben facer análises, teñen baixo custo e pódense introducir con certa facilidade nas estacións depuradoras industriais. Os resultados obtidos cos equipos permiten determinar diversos parámetros cinéticos, como velocidade de consumo de substrato e constante de afinidade, avaliándose asemade o efecto inhibitorio de compostos químicos que poden estar presentes nas augas residuais de curtidorías. Co fin de validar a fiabilidade dos sistemas de titulación, participouse nun exercicio de intercalibración a escala internacional, no que participaron outros 9 laboratorios europeos. Os resultados obtidos foron satisfactorios e congruentes cos obtidos coa norma ISO 9509E do Standard Methods.

Na segunda etapa estudiáronse diversas alternativas para mellorar a eficacia dos sistemas biolóxicos convencionais que se empregan en curtidurías, empregando diversos reactores a escala de laboratorio. Atopouse que a adición de bicarbonato melloraría a nitrificación no sistema de lamas activas convencional. Empregáronse sistemas continuos convencionais de predesnitrificación e reactores semicontínuos de lamas activas para eliminar nitróxeno. A baixa relación DQO/N das augas industriais supuxo a necesidade de engadir unha fonte externa de carbono. Comprobase que tanto o metanol como o auga residual da corrente de ribeira desulfurada son fontes de carbono idóneas. Alcanzáronse altos porcentaxes de eliminación de nitróxeno tanto no sistema continuo como no semicontínuo.

A terceira etapa consistiu en probar a eficacia de novos reactores biolóxicos de membranas. Realizáronse probas tanto a escala de laboratorio, empregando un reactor biolóxico híbrido de membranas patentado pola USC, como a escala

piloto empregando un sistema Zenon ZW-10. O sistema híbrido operou a VCN e VCO de $1,2 \text{ kg N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ e $4,5 \text{ kg DQO} / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$, acadándose un 95% de eliminación de materia orgánica e un 80% de nitrificación. No sistema a escala piloto obtívose un 86% de eliminación de DQO para as augas de curtidos, independentemente da VCO aplicada. Os efluentes obtidos nos sistemas de membranas foron de excelente calidade, libres de sólidos e cunha baixa concentración de materia orgánica.

RESUMEN

Se presentan diferentes estudios realizados referidos al tratamiento biológico de las aguas residuales de la industria de curtidos, centrados fundamentalmente en tres tópicos: 1) Estudio de la actividad y toxicidad microbiana mediante sistemas de titulación, 2) Alternativas para la mejora del tratamiento biológico con sistemas de biomasa en suspensión y 3) Propuestas para el uso de nuevos reactores biológicos de membranas en el tratamiento de esta agua industriales.

En el Capítulo 1 se presenta, en la primera parte, una revisión general de los sistemas más utilizados para caracterizar la biomasa en términos de la velocidad máxima de consumo de sustrato (V_{max}), constante de saturación (K_s) y del efecto inhibitorio que pueda causar un determinado compuesto sobre la actividad de la biomasa. En la segunda parte, se hace una descripción de los diferentes tratamientos físicos químicos y biológicos aplicados al tratamiento de los efluentes generados en el proceso de curtidos. Finalmente, en la tercera parte se describen algunas de las principales aplicaciones de sistemas avanzados para el tratamiento de aguas residuales de curtidurías.

En el Capítulo 2, se indican los resultados obtenidos mediante un sistema de titulación denominado ANITA, cuyo principio se basa en la adición de una disolución titulante para mantener el pH de un sistema biológico de depuración de aguas en un pH de equilibrio óptimo. Los ensayos se centraron en la determinación de la actividad nitrificante y el efecto inhibitorio de algunos compuestos utilizados en la industria de curtidos sobre biomasa en suspensión y biopelículas. Con objeto de verificar la fiabilidad de la metodología aplicada en los ensayos de inhibición se realizaron ensayos de intercalibración del método con otros laboratorios mediante la determinación de los efectos tóxicos sobre biomasa nitrificante. Se compararon los resultados obtenidos por los 9 laboratorios participantes, obteniéndose un IC_{50} de $0,41 \pm 0,27$ mg ATU/L, $7,97 \pm 1,76$ mg Anilina/L y $11,83 \pm 6,23$ mg Ag^+ /L. Además, para la validación de método, los resultados obtenidos por los partners se compararon con los obtenidos mediante la norma ISO 9509E del Standard Methods. Por otra parte, se determinó el efecto de dos compuestos utilizados en la industria de curtidos: NaCl y extracto de quebracho sobre la actividad amonio oxidante de biopelículas, obteniéndose valores de IC_{50} para NaCl y extracto de quebracho de 10,2 g NaCl/L y 8,5 g extracto de quebracho/L, respectivamente.

En el capítulo 3, se presentan los ensayos de caracterización de biomasa mediante la determinación de parámetros cinéticos de muestras de biomasa nitrificante, amonio oxidante (SHARON) y desnitrificante autótrofa, en un nuevo sistema de titulación (MARTINA). Este sistema tiene una sonda de pH y de oxígeno, por lo que permite determinar la actividad de cada etapa de la

nitrificación y además realizar ensayos en condiciones anóxicas. Los valores de K_s de 0,34-0,68 mg N-NH₄⁺/L obtenidos para la biomasa amonio oxidante y 0,23-0,40 mg N-NO₂⁻/L para la nitrito oxidante indican una buena afinidad por el sustrato, a diferencia de la biomasa proveniente del reactor SHARON para la que se obtuvo un K_s de 15,4-17,7 mg N-NH₄⁺//L. Para las muestras de biomasa desnitrificante autótrofa se obtuvo una actividad de 51,04 ± 9,24 mg N-NO₃⁻/(g SSV·h), siendo las constantes de afinidad para cada sustrato 1,30 ± 0,14 mg N-NO₃⁻/L y 32,4 ± 3,04 mg S-S₂O₃²⁻/L. Respecto a los resultados de inhibición para las etapas amonio y nitrito oxidante, se obtuvo un IC₅₀ de 4,46 g sales de cromo/L para las bacterias amonio oxidante y de 7,45 g sales de cromo/L para las bacterias nitrito oxidante. Para la mezcla de NaCl y Na₂SO₄ se obtuvo un IC₅₀ de 0,011 y 0,029 mol de sales/L para las bacterias amonio y nitrito oxidante, respectivamente. Los resultados obtenidos en los experimentos realizados en MARTINA muestran una buena repetibilidad y precisión.

El capítulo 4, esta centrado en la evaluación de diferentes alternativas de tratamiento biológico para las aguas residuales de la industria de curtidos a escala de laboratorio, con el objeto de contribuir en la mejora de la operación de la planta de tratamiento industrial. En una primera etapa se analizó la oxidación de materia orgánica y amonio en una unidad de lodos activos de 2 L. En una segunda etapa, a la unidad utilizada anteriormente se le acopló una unidad anóxica de 1 L, evaluándose la eliminación conjunta de materia orgánica y nitrógeno. Finalmente, en una tercera etapa, se evaluó una estrategia de operación alternando ciclos aerobios y anóxicos utilizando dos unidades de lodos activos semicontinuos similares a las de la primera etapa. Los principales resultados de la primera etapa indican que la eficacia de la nitrificación aumenta hasta un 95% al adicionar entre 0,7 y 1 g HCO₃⁻/L, obteniéndose concentraciones de amonio en el efluente inferiores a 10 mg N-NH₄⁺/L, no variando ésta con la disminución del TRH. Se alcanzó un 83% de eliminación de materia orgánica y el lodo presentó buena sedimentabilidad. Los resultados de la segunda etapa, mostraron la necesidad de adición de una fuente externa de carbono para lograr una adecuada desnitrificación, ya que sin esta adición, se obtenía solo un 15% de desnitrificación, debido a la baja relación DQO/N que presentan estas aguas residuales. Para incrementar el porcentaje de desnitrificación se adicionó metanol como fuente de carbono. Se evaluaron relaciones DQO/N adicionadas a la alimentación (DQO_A/N_t) de 1 y 3 g/g, alcanzándose porcentajes de desnitrificación del 30 y 50%, respectivamente y además una eliminación de materia orgánica del 85%. En la tercera etapa, se evaluó el efecto de la adición de diferentes fuentes de carbono suplementarias adicionada durante el ciclo anóxico. Se emplearon como fuente de carbono metanol y agua residual de la corriente de ribera con o sin sulfuros a relaciones DQO_A/N_t comprendidas entre 1 y 7 g/g. Los mejores resultados se obtuvieron tanto con metanol como con agua residual de la corriente de ribera desprovista

de sulfuros a relaciones DQO_A/N_t de 5 g/g, alcanzándose una eliminación de nitrógeno del 75% y concentraciones de 5-20 mg $N-NO_3/L$ y 10 mg $N-NH_4^+/L$ en el efluente.

En el capítulo 5, se indican los resultados a escala de laboratorio de la operación de un biorreactor de membrana con módulos de filtración de fibra hueca (Zenon, ZW-1) acoplada externamente a un reactor híbrido de lecho circulante (RLC) con biomasa en suspensión y biopelícula. El sistema se operó en dos etapas, que se diferencian por el TRS de la biomasa en suspensión. En la primera etapa, el sistema no se purgó para favorecer el crecimiento e incrementar la concentración de biomasa, alcanzándose VCN y VCO de 1,2 kg $N-NH_4^+/(m^3 \cdot d)$ y 4,5 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$, respectivamente. Al final de esta etapa, se obtuvo un 95% de eliminación de materia orgánica y un 80% de nitrificación. En la segunda etapa se modificó el TRS de la biomasa en suspensión entre 10 y 1 d, observándose que para TRS menores de 5 d el porcentaje de nitrificación disminuía, incrementándose la concentración de amonio en el efluente de 5 a 10 mg $N-NH_4^+/L$. La variación del TRS y el incremento de la VCO en el sistema apenas afectaron a la DQO del efluente, obteniéndose una eficacia de eliminación de materia orgánica en torno al 95% y una concentración de materia orgánica promedio en los efluentes de 50 mg DQO/L . Se alcanzó una capacidad de nitrificación de 1,6 kg $N-NH_4^+/(m^3 \cdot d)$, debido a la presencia de las biopelículas y una capacidad de oxidación de materia orgánica de 3,5 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$ debido a la presencia la biomasa en suspensión, que se vio favorecida al disminuir el TRS.

En el capítulo 6, se presentan los resultados obtenidos con un biorreactor de membrana a escala piloto (Zenon, ZW-10), tratando agua residual de vinazas y de la industria de curtidos. Se alcanzaron VCO de 2,2 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$ y 1,5 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$, respectivamente, obteniéndose porcentajes de eliminación de materia orgánica siempre muy elevados, 97% para las vinazas y un 86% para las aguas de curtidos, independientemente de la VCO aplicada. Se obtuvieron rendimientos aparentes de 0,14 g SSV/g DQO y 0,16 g SSV/g DQO empleando como alimentación aguas residuales de vinazas y de curtiembres, respectivamente. Los efluentes obtenidos fueron de excelente calidad, libres de sólidos y con una baja concentración de materia orgánica soluble, en torno a 50 mg DQO/L . El aumento de la concentración de biomasa afectó negativamente a la transferencia de oxígeno, sobre todo a concentraciones superiores 8 g SSV/L, siendo necesario incrementar el flujo de aire al aumentar la concentración microbiana. Se estudiaron además distintos protocolos de limpieza de membrana, siendo destacable que la realización de un lavado químico externo de la membrana permite lograr un 91% de recuperación de la permeabilidad de la membrana respecto al valor inicial de 207 $L/(m^2 \cdot h \cdot bar)$.

Las diversas modificaciones en la estrategia de operación y en la configuración de los reactores permiten mejorar los rendimientos de eliminación de nitrógeno y materia orgánica de los sistemas de tratamiento biológico convencionales que tratan aguas residuales de curtiembres. La estrategia de operación en semicontinuo del sistema de lodos activos es la alternativa sugerida como modificación a la actual EDAR industrial, ya que ligeras variaciones en la operación del proceso permiten obtener elevadas eficacias de eliminación de nutrientes y el uso del agua residual de la corriente de ribera como fuente externa de carbono permite disminuir costes de operación. La utilización de tecnologías de membranas son una buena alternativa para tratar aguas residuales de curtiembres especialmente para aquellas industrias en las cuales se deba construir una planta de tratamiento. Aunque los costes de tratamiento del agua residual ($\sim 0,4 \text{ €/m}^3$) sean más elevados que un sistema convencional, el efluente obtenido presenta una excelente calidad en términos de sólidos y materia orgánica, pudiendo ser apto para su posible reutilización.

ABSTRACT

In this dissertation, different studies referred to the biological treatment of wastewaters from tanneries are presented. These are focussed fundamentally in three topics: 1) study of the microbial activity and toxicity by means of titration systems; 2) Alternatives for the improvement of the biological treatment with suspended biomass systems; and 3) A proposal for the application of new biological membrane bioreactors for the treatment of the industrial wastewaters.

In Chapter 1, it is shown, in a first section, a general overview of the systems usually used to characterize the biomass in terms of maximum substrate consumption rate (V_{max}), saturation constant (K_s) and the inhibitory effect that might cause a specific compound on the activity of the biomass. In a second section, it is realised a description of the different physical-chemical and biological processes applied to the treatment of effluents generated in the process of tanning. Finally, in a third section, some of the main applications of advanced system for the treatment tannery wastewater are described.

In Chapter 2, the results obtained by means of a titration system named ANITA are indicated. The principle of operation is based on the addition of a titration solution to maintain the pH of a biological system of treatment of wastewater to a value of optimal pH. The tests were focussed on the determination of the nitrifying activity and in the evaluation of the inhibitory effects of some compounds used in tanneries, either on suspended or biofilm biomass. Intercalibration tests of this method which others laboratories took part were realised in order to verify the reliability of the methodology applied in the inhibition tests. The results obtained by the 9 participant laboratories were compared, obtaining an IC_{50} of 0.41 ± 0.27 mg ATU/L, 4.97 ± 1.76 mg Aniline/L and 11.83 ± 6.23 mg Ag^+ /L. Besides, for the validation of method, the results obtained by the partners were compared with obtained by means of norm ISO 9509E of the Standard Methods. On the other hand, the effect of two compound used in the tannery industry, NaCl and quebracho extract, on the ammonium oxidizing activity of biofilms was determined. Values of IC_{50} for NaCl and quebracho extract of 10.2 g NaCl/L and 8.5 g/L quebracho extract, respectively were obtained.

In chapter 3, the tests of characterization of biomass by means of the determination of kinetic parameters of nitrifying biomass, ammonium oxidizing (SHARON) and autotrophic denitrification samples are presented. The tests were developed in a new titration system (MARTINA). This system has a pH probe and a oxygen probe, which it allows to determine the activity of each stage of the nitrification process. Besides with this system is possible to perform tests under anoxic conditions. Values of K_s of 0.34-0.68 mg NH_4^+-N /L and 0.23-0.40 mg $NO_2^- -N$ /L for ammonium oxidizing and nitrite oxidizing biomass, respectively were

obtained. These values indicated a good affinity by the substrates, unlike of the biomass that comes from of the SHARON reactor that presented values of K_s of 15.4-17.7 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$. For the autotrophic denitrification samples, values of activity of 51.04 ± 9.24 mg $\text{NO}_3^-\text{-N/(g VSS}\cdot\text{h)}$ and values of affinity constants for each substrate 1.30 ± 0.14 mg $\text{NO}_3^-\text{-N/L}$ and 32.4 ± 3.04 mg $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}\text{-S/L}$ were obtained. With regard to the results of inhibition for the stages ammonium and nitrite oxidizing, values of IC_{50} of 4.46 g chromium salts/L for the ammonium oxidizing biomass and 7.45 g chromium salts/L for nitrite oxidizing biomass, were obtained. For the mixture of NaCl and Na_2SO_4 , values of IC_{50} of 0.011 and 0.029 mol of salts/L for the ammonium and nitrite oxidizing biomass, respectively, were determined. The results obtained in the experiments using MARTINA system show good repeatability and precision.

The objective of Chapter 4 is the evaluation of different alternatives for the biological treatment of wastewater from tanneries at laboratory scale. The main aim was to improve the operation of an industrial treatment plant. In a first stage, the organic matter and ammonium oxidation was analysed in an unit activated sludge of 2 L. In a second stage, to the unit previously used was coupled to an anoxic system of 1 L. Both, the organic matter and nitrogen removal were evaluated. Finally, in a third stage, the operational strategy alternating aerobic and anoxic cycles using two semicontinuous activated sludge units similar to those of the first stage were evaluated. The main results of the first stage indicated that the efficiency of the nitrification increase until a 95%, when a concentration of bicarbonate between 0.7 and 1 g/L is added. Ammonium concentrations in the effluent lower than 10 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$ were obtained. The decrease of HTR did not affect the ammonium concentration in the effluent. 83% organic matter removal was achieved and a good sedimentability of sludge was observed. The results of the second stage shows the necessity of the addition of an external carbon source to obtain a good denitrification percentage, since without this addition only 15% of denitrification was obtained. This low denitrification percentage may be consequence of the low COD/N ratio that presented this kind of wastewater. In order to increase the percentage of denitrification, methanol was added as carbon source. Tests with COD/N ratios of 1 and 3 g/g added to feeding were assayed. 30 and 50% organic matter removal were achieved for COD_A/N_t of 1 and 3 g/g, respectively. 85% of organic matter removal was obtained. In the third stage, the effect of different additional carbon sources added during the anoxic cycle was evaluated. Methanol and wastewater from beamhouse stream with or without sulphides to ratios COD_A/N_t between 1 and 7 g/g were used as carbon sources. The best results were obtained for the COD_A/N_t ratio of 5 g/g using methanol or wastewater from beamhouse stream without sulphides. 75% of nitrogen removal and concentrations in the effluent of 5-20 mg $\text{NO}_3\text{-N/L}$ y 10 mg $\text{NH}_4^+\text{-N/L}$ were obtained.

In chapter 5, the results at laboratory scale of the operation of a membrane biorreactor with hollow fiber filtration modules (Zenon, ZW-1) connected externally to a hybrid circulating bed reactor (CBR) with suspended biomass and biofilm are indicated. The operation of system has been divided in two stages, with a different SRT of the suspended biomass fraction. In the first stage, the system was not purged to promote the increase of the biomass concentration, NLR and OLR of $1.2 \text{ kg NH}_4^+-\text{N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ and $4.5 \text{ kg COD}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ were obtained, respectively. At the end of this stage, 95% of organic matter removal and 80% of nitrification were obtained. In the second stage the SRT of the suspended biomass modified between 10 and 1 days. For SRT lower than 5 days the nitrification percentage decreased, the ammonium concentration in the effluent increase from 5 to $10 \text{ mg NH}_4^+-\text{N}/\text{L}$. The variation of the SRT and the increase of the OLR in the system hardly affected the COD content of effluent. Efficiency of organic matter removal about 95% and organic matter average concentrations of organic matter in the effluents of $50 \text{ mg COD}/\text{L}$ were obtained. A nitrification capacity of $1.6 \text{ kg NH}_4^+-\text{N}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$, due to the presence of biofilms and organic matter oxidation capacity of $3.5 \text{ kg COD}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ due to the presence of suspended biomass were achieved. The organic matter oxidation capacity was favoured when the SRT decrease.

In chapter 6, the results obtained with a membrane biorreactor at pilot scale (Zenon, ZW-10), treating winery and tannery wastewater are presented. OLR of $2.2 \text{ kg COD}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ and $1.5 \text{ kg COD}/(\text{m}^3\cdot\text{d})$ were achieved using winery and tannery wastewaters, respectively. Organic matter removal percentages were always very high, 97% for winery wastewater and 86% for tannery wastewater. These percentages obtained did not depended of the OLR applied. Apparent biomass yield was estimated in $0.14 \text{ g VSS}/\text{g COD}$ and $0.16 \text{ g VSS}/\text{g COD}$, for winery and tannery wastewater, respectively. Effluents presented often an excellent quality, free of solids and low organic matter concentrations, around $50 \text{ mg COD}/\text{L}$. The increase of the concentration biomass affected negatively the oxygen transference. Concentrations higher than $8 \text{ g VSS}/\text{L}$ caused a drop of the oxygen capacity of the reactor, being necessary to increase the air flow when the microbial concentration increased. Different cleaning protocols for the membrane were studied, being notably the chemical external washing of the membrane. This washing allowed to recover 91% of the permeability of the membrane with regard to the initial value of $207 \text{ L}/(\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{bar})$.

The different modifications in the operation strategy and the configuration of the reactors made feasible to improve the nitrogen and organic matter removal of the conventional systems used during the biological treatment of tannery wastewaters. The semicontinuous operation strategy of the activated sludge systems is the suggested alternative to the studied industrial WWTP. With this

strategy small modifications of the operational process make feasible to obtain high efficiency of nutrient removal. Furthermore, the use of wastewater from beamhouse stream as carbon source may decrease the operational costs. The use of membrane technologies is also a good alternative for the tannery wastewater treatment, specially for factories that required to build the WWTP. Although the costs of wastewater treatment by membrane technologies ($\sim 0,4 \text{ €/m}^3$) is higher than those of conventional systems, the effluent obtained presented an excellent quality in terms of solid and organic matter, that could made feasible a possible reuse of the water.

OBJETIVOS

Los objetivos de la presente memoria de investigación se relacionan con el estudio de los fundamentos y aplicación de sistemas biológicos para el tratamiento de aguas residuales de curtidurías, dividiéndose dicha investigación en los tres tópicos siguientes: 1.- Estudio de la actividad y toxicidad microbiana mediante sistemas de titulación, 2.- Evaluación de alternativas de tratamiento biológico con sistemas de biomasa en suspensión y 3.- Uso de nuevos reactores de filtración de membranas para el tratamiento de estas aguas industriales.

En el Capítulo 1, en la primera parte, se realiza una revisión del proceso de curtido y de las diferentes tecnologías aplicadas al tratamiento de los efluentes generados en este proceso. Posteriormente se revisan algunas de las principales aplicaciones de sistemas avanzados para el tratamiento de aguas residuales de curtidurías. En la segunda parte, se realiza una revisión de los sistemas más utilizados para determinar parámetros cinéticos como son la velocidad máxima de consumo de sustrato ($V_{\max}$) y constante de saturación (K_s) que caracterizan a la biomasa mediante el seguimiento de la concentración de sustrato o producto así como el efecto inhibitorio que puede causar un determinado compuesto sobre la biomasa.

En el Capítulo 2, se presentan diversos ensayos que permitieron caracterizar la actividad de biomasas tanto en suspensión como en biopelícula, centrándose el estudio en la determinación de la actividad nitrificante. Para ello se evaluó el funcionamiento y fiabilidad de un nuevo sistema de determinación de la actividad microbiana, basada en el uso de un equipo de titulación de pH-stat (ANITA) (Figura 0.1).

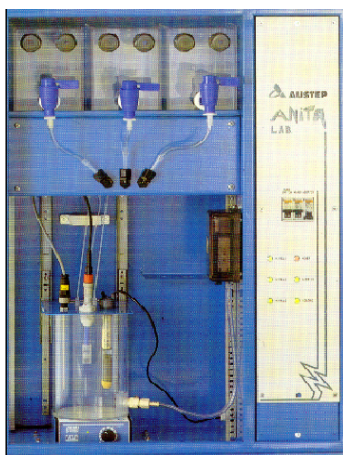


Figura 0.1: Fotografía del sistema de titulación pH-stat (ANITA).

Los datos extraídos de este sistema de titulación proporcionan información sobre parámetros cinéticos y efectos inhibitorios de diversos compuestos. Se validó una nueva metodología para determinar el efecto inhibitorio de compuestos químicos sobre la biomasa desarrollada especialmente para ser aplicada en este sistema. Para ello, se realizaron diversos ensayos de intercalibración sobre biomasa nitrificante en suspensión empleando soluciones de alitiourea, anilina y sulfato de plata, los resultados obtenidos se compararon entre los 9 laboratorios participantes. Se investigó además el efecto de algunos compuestos presentes en las aguas residuales de curtidurías (NaCl, extractos de quebracho, sales de cromo) sobre biopelículas.

En el Capítulo 3, se presentan los resultados obtenidos al mejorar los sistemas de titulación de pH mediante la incorporación de una sonda adicional de oxígeno. Esto permite determinar parámetros cinéticos, como velocidad máxima de consumo de sustrato y constante media de saturación en diversos procesos biológicos que tienen lugar en serie (actividad amonio oxidante y nitrito oxidante), así como desnitrificante, usando el sistema de titulación pH-DO-stat llamado MARTINA (Figura 0.2).

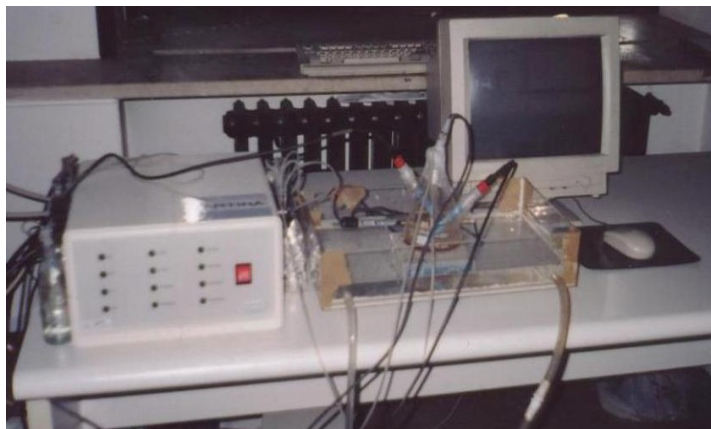


Figura 0.2: Fotografía del sistema de titulación pH-DO-stat (MARTINA).

El capítulo 4, se ha centrado en el estudio de alternativas al proceso que en la actualidad se aplica en una industria local de curtidos, que consta de un reactor de lodos activos para el tratamiento biológico de las aguas y que aunque en general cumple criterios de vertido, presenta esporádicamente niveles altos de nitrógeno nítrico y amoniacal y sólidos en suspensión en el efluente. El sistema de tratamiento biológico más habitual utilizado para depurar las aguas de curtiembres es el de lodos activos. En la Figura 0.3 se muestra el diagrama de flujo actual del tratamiento a que son sometidas las diferentes corrientes generadas en el proceso de curtido.

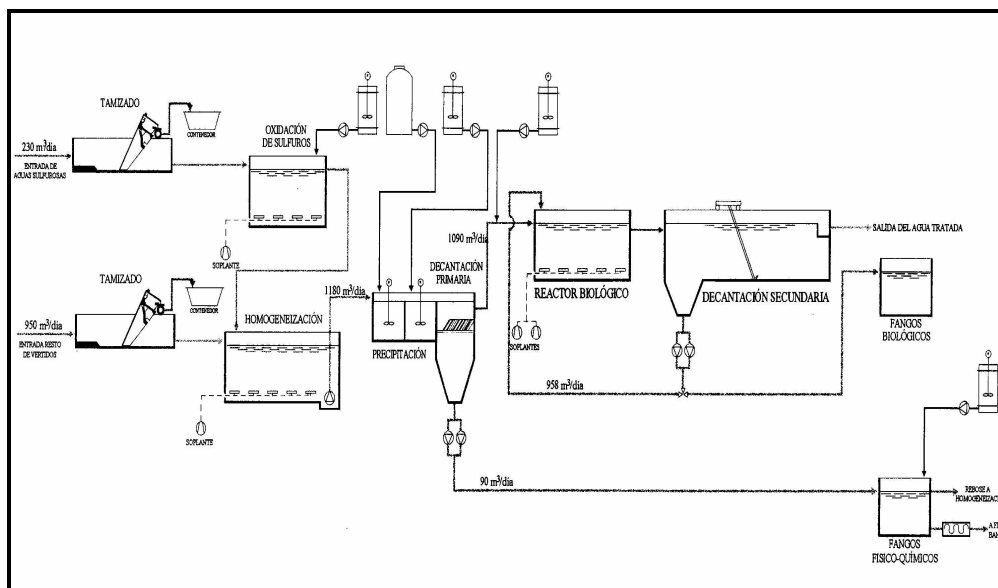


Figura 0.3: Diagrama de Flujo de la Planta de Aguas Residuales.

Las aguas residuales generadas en el proceso de curtido, proceden de dos corrientes: una proveniente de la etapa de ribera y la otra corriente una mezcla de las etapas de curtición y recurtición. Ambas corrientes, en forma paralela, son sometidas a un pretratamiento en la que se hace pasar el agua a través de tamices con el objeto de retener sólidos de gran tamaño que podrían causar problemas en el proceso de depuración. Las aguas provenientes de la etapa de ribera van a un reactor donde mediante aireación se consigue la oxidación del sulfuro a sulfato, transcurriendo la reacción bajo la presencia de un catalizador a base de manganeso (óxido de manganeso). Posteriormente, se juntan las dos corrientes en un estanque de homogenización que está constantemente agitado mediante aireación, lográndose una reducción de materia orgánica y un licor de mezcla homogéneo para su posterior depuración. Mediante un tratamiento físico-químico posterior se logra eliminar completamente del agua el cromo y parte de las materias coloidales y disueltas que precipitan. La siguiente etapa, corresponde al tratamiento biológico, reactor de lodos activos de mezcla completa, donde tiene lugar la oxidación de la materia orgánica y el amonio por medio de los microorganismos en presencia de oxígeno.

Con objeto de mejorar el posible funcionamiento del reactor, se estudiaron en el laboratorio diversas alternativas:

- Mejora de la nitrificación (Figura 0.4), para su posible implantación industrial
- Incorporación de la etapa de desnitrificación (Figura 0.5) y

- c) Etapa de operación semicontinuo, en las que se pretende estudiar la mejora de la eliminación conjunta de materia orgánica y nitrógeno (Figura 0.4).

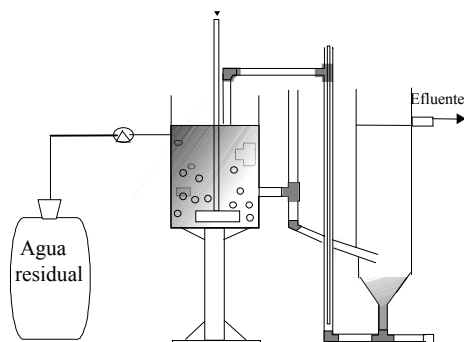


Figura 0.4: Sistema de lodos activos utilizado durante la operación continua y semicontinua (condiciones anóxicas y aerobias).

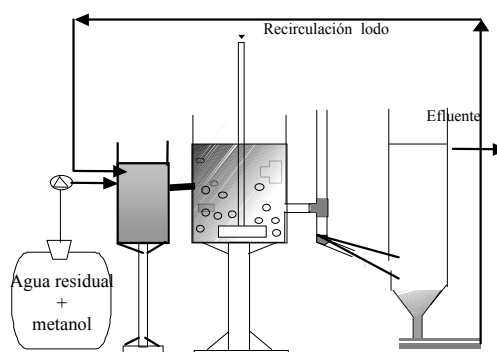


Figura 0.5. Unidad de predesnitrificación (utilizada durante la alternativa b).

En el capítulo 5, se presentan los resultados obtenidos mediante un biorreactor híbrido de membrana (BRHM) con un módulo de ultrafiltración de fibra hueca (Zenon, ZW-1) acoplado externamente a un reactor de lecho circulante con biomasa en suspensión y biopelícula a escala de laboratorio (Figura 0.6), lo que podría permitir operar a altas velocidades de carga orgánica y nitrogenada y obtener así un efluente con niveles muy bajos de sólidos en el líquido, lo que tiene un importante valor si los vertidos se realizan en zonas próximas a

captación de aguas para el riego o producción de agua potable. Se estudió el problema del ensuciamiento del módulo de membrana, realizando seguimiento de los perfiles de permeabilidad específica en el tiempo o aplicando diversos protocolos de limpieza con objeto de mejorar y alargar el tiempo de operación a velocidades de flujo constante.

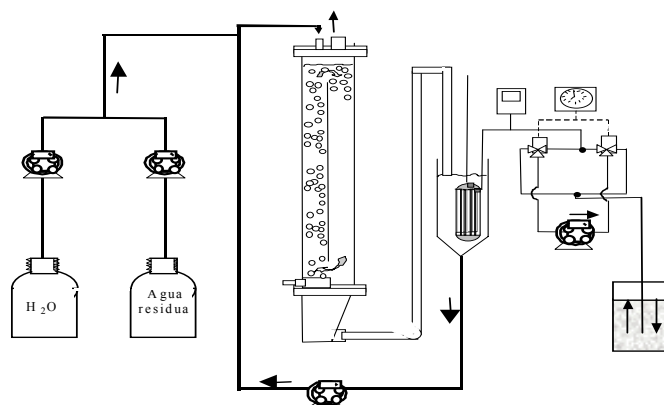


Figura 0.6: Esquema del sistema híbrido de membranas externa acoplada a un reactor de lecho circulante (RLC).

En el capítulo 6, se realiza el estudio de la depuración de las aguas de curtiduría usando un biorreactor de membrana a escala piloto (Zenon, ZW-10) (Figura 0.7). Además de evaluar la eficiencia de la eliminación de la materia orgánica, se evalúa el efecto de la transferencia de oxígeno y el ensuciamiento de la membrana. Con esto se completa el estudio de las diferentes alternativas biológicas para tratar esta agua residuales industriales complejas.

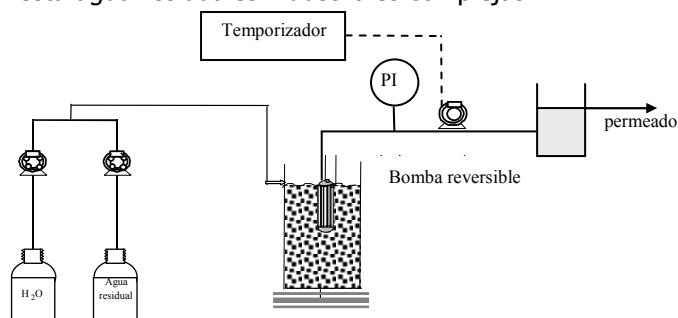


Figura 0.7: Esquema del biorreactor de membrana sumergida a escala piloto.

En la Figura 0.8 se muestra un resumen de los estudios realizados, en la que se indican los capítulos y los sistemas estudiados correspondientes a cada una de ellas.

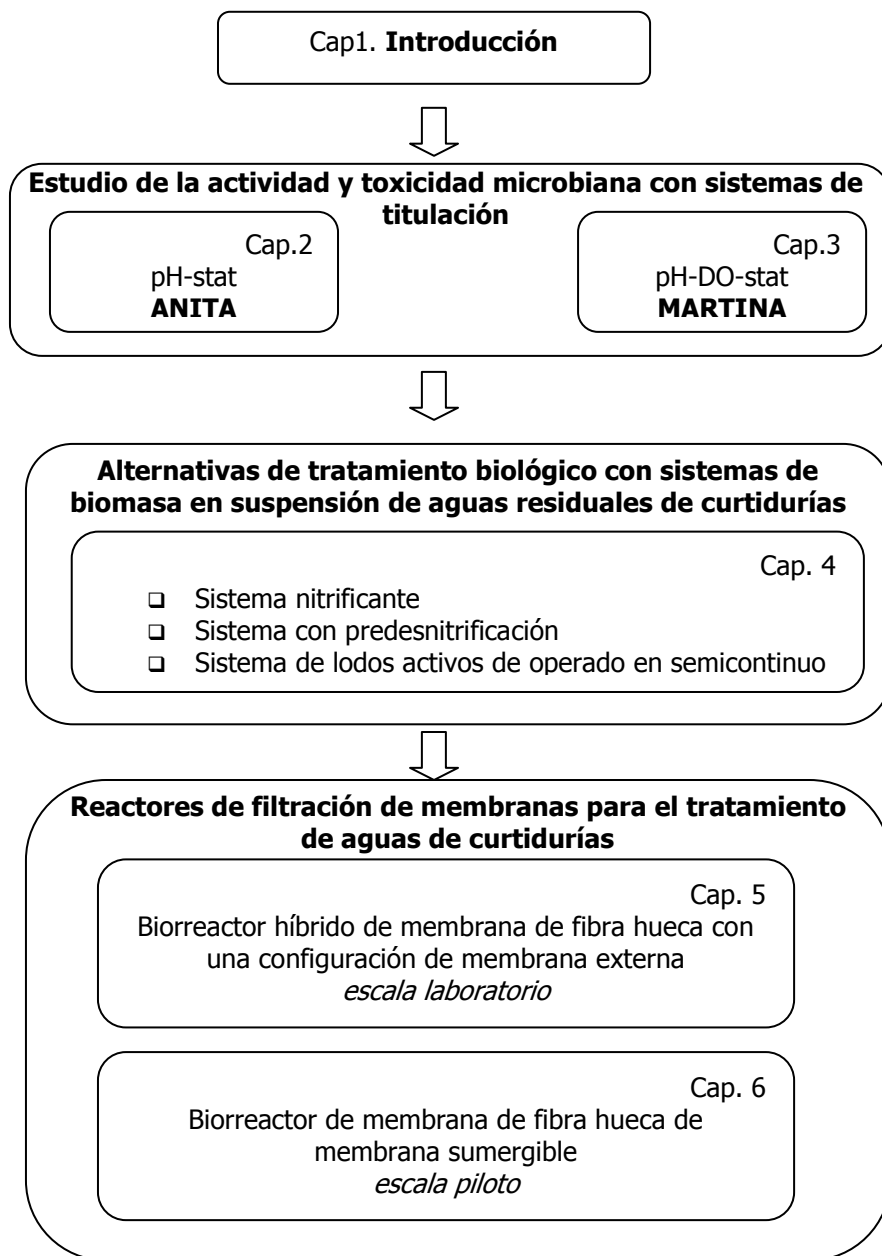


Figura 0.8: Plan de trabajo desarrollado.

1

INTRODUCCIÓN

Resumen. En este capítulo se hace una descripción de los aspectos que han constituido el trabajo central de esta memoria: tratamiento biológico de aguas de curtidurías mediante diversos sistemas de lodos, procesos de membrana y métodos de determinación de actividad y toxicidad microbiana.

En la primera parte, después de una descripción general del proceso de curtido y de las principales características de las aguas residuales de éste tipo de industria, se realiza una revisión de las diferentes tecnologías aplicadas al tratamiento de este tipo de efluentes o corrientes. Tratamientos físico-químicos para la separación de sólidos, oxidación de sulfuro a sulfato, precipitación de las sales curtientes de cromo y tratamientos biológicos aerobios o anaerobios para la eliminación de la materia orgánica y nitrógeno, las cuales son las principales tecnologías aplicadas a nivel industrial.

Posteriormente, se revisan algunas de las principales aplicaciones de los sistemas avanzados de membranas para el tratamiento de aguas residuales. Se realiza una descripción de las distintas técnicas utilizadas para la separación de biomasa y de las dos configuraciones de biorreactores de membrana (MBR) utilizadas para el tratamiento de aguas residuales: sistemas de membrana externa y sistemas de membrana sumergida.

En la segunda parte se describen algunos de los diferentes métodos utilizados para determinar parámetros cinéticos como la velocidad máxima de consumo de sustrato ($V_{\max}$) y la constante de saturación (K_s) que caracterizan a la biomasa (seguimiento de la concentración de sustrato o producto, calorimetría, respirometría y titulación). Estas técnicas también se utilizan para estudiar el efecto inhibitorio que puede causar un determinado compuesto sobre la biomasa. Se describen principalmente los sistemas de titulación, pues estos se han utilizado durante el trabajo experimental y han sido muy fructíferos para evaluar la actividad para diferentes tipos de poblaciones de bacterias, tanto en condiciones aerobias como anóxicas a escala de laboratorio y a escala industrial.

1.1.- ASPECTOS AMBIENTALES DE LA INDUSTRIA DE CURTIDOS.

1.1.1.- Situación actual de la industria de curtidos

El comercio de manufacturas de cuero hoy en día presenta una fuerte y dinámica actividad económica en el mundo, que se ve reflejada en la evolución de las exportaciones. Los principales mercados de destino son: España, México, Corea y Estados Unidos, que en su conjunto acogen el 75% del total de las exportaciones a nivel mundial (Figura 1.1).

En los últimos años, España es el país con mayor crecimiento, con una variación del 118,5% (periodo 2000/2001) siendo el principal producto la piel de ovino en bruto. México es el segundo país en destino de las exportaciones de pieles y cuero exportándose pieles de ovino y caprino en wet bue.

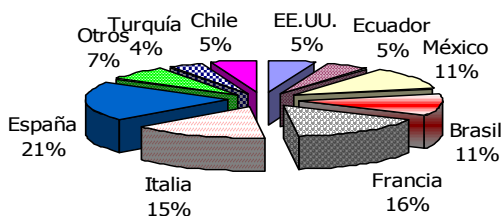


Figura 1.1: Países de destino de las exportaciones de pieles y cueros (PROMPEX, 2003).

Anualmente, la industria de curtidos en Europa consume alrededor de 2 millones de toneladas de piel de animal y cueros. Esta materia prima es convertida en aproximadamente 317 millones de m² de cuero por las distintas industrias que se encuentran distribuidas principalmente en Italia, España, Francia, Alemania y Reino Unido (Figura 1.2). El país con más industrias es Italia que cuenta con alrededor de 2400 industrias, que se caracterizan por ser generalmente pequeñas curtidurías. España cuenta con alrededor 255 industrias de las que aproximadamente el 60% se encuentra localizadas en la zona de Cataluña y alrededor del 35% están distribuidas en Valencia, Murcia y Madrid (European IPPC Bureau, 2001).



Figura 1.2: Distribución geográfica de industrias de curtidos en Europa.
(COTANCE, 2002)

El curtido es el proceso de transformación de la piel de diferentes animales en cuero, con el fin de evitar su deterioro por las condiciones ambientales o por la acción de microorganismos. El proceso consiste básicamente en añadir a las pieles un producto curtiente (sales de cromo o taninos vegetales) que sea capaz de penetrar en su estructura bloqueando los grupos aminos de la estructura coloidal, evitando así la degradación de ésta y aumentando el entrecruzamiento molecular obteniéndose una estructura inerte a los efectos dispersantes del agua.

Después de ser sacrificados los animales, las pieles son generalmente tratadas con sal con el objeto de evitar la putrefacción y lograr una adecuada conservación hasta el momento de procesarlas. El proceso de curtido aplicado no está estandarizado de manera que cada industria aplica su propio método. En general el proceso se lleva a cabo en una secuencia de etapas en discontinuo y

se puede representar en cuatro etapas (Figura 1.3) que requieren un elevado consumo de agua, generando asimismo gases contaminados, efluentes líquidos y residuos sólidos, siendo las descargas líquidas las de mayor importancia.

Las cuatro etapas de un proceso convencional de curtido son: ribera (remojo, apelambrado, desescalado y rendido), curtición (piquelado y curtido al cromo), recurtición y acabado (teñido, secado y acondicionamiento). En la etapa de ribera tiene lugar la limpieza y rehidratación de la piel conjuntamente con la eliminación de los pelos al ser tratada en un baño de sulfuro sódico en medio alcalino. Una vez finalizado el pelambre, éste es extraído del fulón y sometido a varios lavados. En función de las características del cuero se procederá a la separación de las orillas y el tejido celular. En la etapa de curtido se realiza el acondicionamiento de la piel eliminando el exceso de cal y sometiendo la piel a baños de sales de cromo en medio ácido para aumentar la solubilidad de estas sales y mejorar la penetración en la estructura celular, obteniéndose el cuero curtido o wet blue. El cuero en estado wet blue se introduce en un fulón donde tiene lugar un recurtido y el teñido.

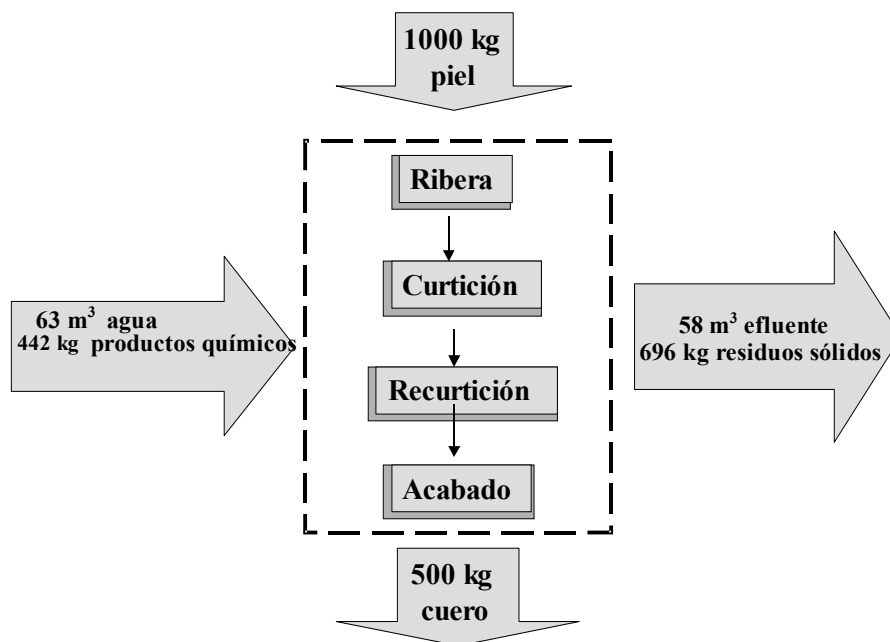


Figura 1.3: Balance de materia global representativo de un proceso de curtido en el cual se emplea como base de cálculo 1 t de piel salada y húmeda. (Konrad *et al.* 2002).

En el balance global mostrado en la Figura 1.3, se observa que a partir de una tonelada de piel salada y húmeda se obtiene como producto final del proceso sólo 500 Kg de cuero. El 50% restante corresponde a los residuos sólidos generados, dentro de los cuales se debe diferenciar entre los residuos sin curtir y los ya curtidos, de características diferentes, ya que, el contenido de cromo será diferente dependiendo de la etapa de la cual proceden los residuos (Raghava *et al.* 2002). Respecto a la cantidad de compuestos químicos utilizados, éstos son disueltos en el agua empleada en el proceso, generándose un efluente no sólo con un elevado contenido de carga orgánica, sino también de compuestos inorgánicos.

Cada etapa del proceso va generando diferentes corrientes con distintos grados de contaminación. Estas se caracterizan por elevados contenidos de carga orgánica y compuestos inorgánicos como cromo, cloruro, amonio, sulfuro y sulfato, que dificultan su gestión y tratamiento (Tünay *et al.* 1995; Jochimsen y Jekel, 1997; Ates *et al.* 1997).

Respecto a las emisiones gaseosas, las dos descargas potencialmente significativas son los materiales particulados de la etapa de acabado y el sulfuro de hidrógeno proveniente de las operaciones de pelambre. Los malos olores, como consecuencia de inadecuadas prácticas de limpieza, también afectan a la calidad del aire. Las emisiones de amoníaco y vapores solventes procedentes del desenchalado y acabado crean otro problema de contaminación.

Debido a la gran diversidad de las tenerías, dependiendo de la materia prima procesada, del proceso aplicado, de las sales curtientes empleadas y de las especificaciones del producto final, las características del agua residual serán diferentes y por tanto, el tratamiento a aplicar también.

El agua residual de las curtiembres es uno de los mayores problemas en estas instalaciones. La tecnología utilizada en la depuración de sus aguas residuales ha evolucionado desde la utilización de tratamientos físico-químicos hasta la aplicación de nuevas tecnologías como puede ser el empleo de biorreactores de membranas. En los años 70 se comenzaron a construir depuradoras industriales en Italia, el país más importante en Europa en el sector de la piel. El procedimiento aplicado inicialmente era un tratamiento físico-químico del efluente global, mediante la dosificación de floculantes, previo ajuste del pH de la mezcla, con el que se lograba la eliminación de sólidos en suspensión y una importante reducción del contenido de materia orgánica, aunque se requerían elevadas dosis de cal y floculante (Cl_3Fe o sales de aluminio) aumentando por tanto la conductividad del agua residual tratada y la cantidad de fango generado.

En los años 80 se comenzó a aplicar el tratamiento oxidativo de los baños de pelambre separados para transformar los sulfuros en sulfatos y evitar así el desprendimiento de sulfídrico. A partir del año 1985 comienza a aplicarse el procedimiento de depuración biológica, con buenos resultados, un ejemplo de ello es la planta de Montebello en Arzignano, en la que se trataban las aguas de diversas tenerías que habían sido previamente desulfuradas (Vila, 2002).

Una importante parte de la contaminación de las aguas de curtidos es eminentemente orgánica y biodegradable, las pieles son proteínas, queratinas, grasas, etc., la parte insoluble es la piel que se curte (el colágeno) y la parte que se solubiliza pasa a las aguas residuales en las diferentes fases del proceso. Parte de los procesos usados en la curtición utilizan compuestos de naturaleza orgánica (curtientes, sintéticos, grasa, colorantes) y el resto sales minerales (sal para conservación, sulfuros, sal de cromo), dependiendo de la concentración en las aguas residuales estos compuestos podrían tener un efecto inhibitorio en la actividad de la biomasa presente en el sistema biológico.

Prácticamente en este momento la mayoría de las plantas de tratamiento tienen como base una depuración biológica con tratamientos previos de desulfuración y homogeneización y en algún caso un tratamiento terciario para una mayor eliminación de DQO y color debido a la presencia de algún colorante o producto curtiente de baja biodegradabilidad.

1.1.2.- Caracterización de las aguas residuales

El proceso de curtido es una cadena de varios procesos en discontinuo, caracterizándose las aguas residuales generadas por un alto contenido de sustancias orgánicas: lo que se traduce en altas concentraciones de DQO y DBO₅ y alto contenido de nitrógeno, así como una adecuada concentración de sales inorgánicas como cromo, amonio, cloruro, sulfuros y sulfatos además de una alta concentración de sólidos en suspensión (Jochimsen *et al.* 1997). El contenido de aceites y grasas suele ser despreciable. En la práctica dependiendo de las características del producto deseado y del proceso aplicado, los efluentes presentan diversas concentraciones de los compuestos contaminantes. En la Tabla 1.1 se muestran valores de la concentración de diferentes parámetros de muestras de aguas residuales brutas que se comparan con las concentraciones obtenidas para muestras de agua residual que se sometieron a un proceso de recuperación de pelo, cromo y desulfuración. Se aprecia una considerable reducción del contenido de materia orgánica y sólidos en suspensión.

Tabla 1.1: Caracterización de la composición de efluentes globales de la industria de curtidos (Vila, 2002).

Parámetro (mg/L)	Efluentes generales	Efluentes sometidos a recuperación de pelo, cromo y desulfuración
DQO	7.000-8.000	5.000-5.500
DBO	4.000-4.500	3.000-3.500
NH ₃	200-250	<200
SS	3.500-4.000	2.500-3.000
SST	-	-
SSV	-	-
NTK	-	-
Cr ³⁺	200-300	80-100
S ²⁻	200-250	<2
SO ₄ ²⁻	1.800	1.800
Cl ⁻	5.000-6.000	5.000-6.000

Los requerimientos de calidad para la descarga del efluente harán necesario el estudio y la caracterización de las diferentes corrientes para la aplicación del tratamiento adecuado, ya que dependiendo de los compuestos presentes en las diferentes corrientes, algunos tratamientos se verán inhibidos o se obtendrá un mayor rendimiento, por ejemplo:

- ❑ **Las sales** y la alta conductividad producida por las mismas, son difícilmente eliminables y dificultan, cuando están en exceso, el proceso biológico de degradación de la materia orgánica y el proceso de decantación.
- ❑ **Materia orgánica soluble**, provienen de la misma piel y son la base de la DQO y la DBO biodegradable, pudiéndose alcanzar una reducción de un 99% con una buena depuración biológica.
- ❑ **Sulfuros**, son eliminables mediante oxidación a sulfatos previa al tratamiento biológico.
- ❑ **Nitrógeno amoniacal y total**, provienen de la misma piel o de los productos de amonio añadidos. La vía de eliminación puede ser la biológica, mediante los procesos de nitrificación y desnitrificación.
- ❑ **Cromo trivalente**, proviene de los curtientes no fijados, estando presente generalmente en su forma insoluble, ya que precipita a valores de pH superiores a 5,5. Su presencia no afecta excesivamente al tratamiento biológico, pero su presencia en los lodos generados no permiten su uso en la agricultura por lo que se debe recuperar en lo posible y procurar fijarlo lo máximo posible en la piel.

La concentración de los diversos compuestos contaminantes dependerá de la corriente evaluada. En términos de materia orgánica, la etapa de ribera es la que

aporta la mayor concentración de DQO, ya que el aporte de materia orgánica de las operaciones de recurtido, tintura y engrase es pequeña. Las aguas residuales de la etapa de ribera también presentan un elevado contenido de sólidos, nitrógeno y compuestos de azufre (S^{2-}) incrementándose la presencia de contaminantes con los sulfatos y el amonio proveniente de la corriente de la etapa de curtido. Las operaciones de piquelado y curtido, tienen una mayor influencia en la toxicidad del efluente ya que en ellas se generan metales pesados, principalmente Cr^{3+} , empleados como agentes curtientes (Abdel-Shafy *et al.* 1995; Genschow *et al.* 1997). De acuerdo a los límites actuales establecidos en la legislación, el principal problema es aplicar una tecnología adecuada de manera que se logre una importante reducción de este parámetro en el efluente. La Tabla 1.2, resume en porcentaje los principales contaminantes presentes en las diferentes corrientes, aunque como el proceso de curtidos es discontinuo las características y la concentración de los compuestos presentes en el agua residual pueden variar en instalaciones distintas.

Tabla 1.2: Rangos típicos de los parámetros más importantes en los efluentes de las diferentes corrientes del proceso de curtido (IUE/IULTCS, 2001). Los vertidos están expresados como toneladas de cuero de vacuno en bruto.

Parámetros (Kg./t)	Ribera	Curtición	Post-Curtición	Acabado	Total
Volumen (m^3/t)	20-25	1-3	3-8	1	24-37
DQO	120-160	10-20	15-40	10	145-230
DBO ₅	40-60	3-7	5-15	4	48-86
SS	70-120	5-10	10-20	5	85-155
Cr^{3+}	-	2-5	1-2	-	3-7
S^{2-}	8-12	-	-	-	8-12
Nitrógeno	10-20	-	1-2	-	11-22
Cloruros	120-200	50-60	5-10	-	175-270
Sulfatos	5-20	30-50	10-40	-	45-110

1.1.3.- Tecnologías convencionales para el tratamiento de las aguas residuales de curtiembres.

Idealmente, en el proceso de transformación de la piel en cuero, las aguas residuales generadas podrían estar separadas en distintas corrientes agrupadas de acuerdo a determinadas características, facilitando el tratamiento y la reutilización de éstas, aunque esto no es lo más frecuente debido a que implica un coste adicional de gestión. Si en la industria no se separan las diferentes corrientes del agua residual, se deben considerar los siguientes puntos de interés al decidir un tratamiento (Wiegant *et al.* 1999).

- ❑ Alto contenido de cromo (principalmente Cr^{3+} , pero en algunos casos Cr^{6+}), reduciendo la posibilidad de reutilización del lodo y del efluente en la agricultura
- ❑ Alto contenido de contaminantes orgánicos, necesiéndose una etapa de pre o post tratamiento.
- ❑ Alto contenido de sulfato, requiriéndose una dilución del agua residual para aplicar un tratamiento anaerobio aunque el rendimiento de biogás disminuye.
- ❑ Alto contenido de sólidos, que llevará a una alta producción de lodos.

Considerando las dificultades mencionadas anteriormente, el tratamiento de las aguas residuales especialmente si se pretende su reutilización, debería considerar los siguientes aspectos:

- ❑ Utilización del cromo recuperado, reduciendo las salidas de cromo en un 95-100%, generándose así un lodo que podría ser usado como fertilizante.
- ❑ Aplicación de un pretratamiento físico-químico que reduzca el contenido de sólidos en suspensión en el agua residual, facilitando el mantenimiento de las conducciones y reduciendo el volumen del sistema de tratamiento biológico.
- ❑ Dilución del agua residual, lo que disminuye la concentración de sulfato, alcanzándose concentraciones que permitan su tratamiento anaerobio.
- ❑ El tratamiento anaerobio de un agua residual concentrada usará menos equipamiento y energía que un tratamiento aerobio como un sistema de lodos activos.
- ❑ Un post-tratamiento en un sistema de aireación simple permitirá obtener un efluente que cumpla con los niveles de concentración requeridos de los parámetros DQO, DBO_5 , SST.

Por estas razones, para el tratamiento de éste tipo de aguas residuales se aplican diferentes tratamientos, principalmente físico-químico y biológicos. En muchos casos una combinación de ambos permite mejorar la calidad del

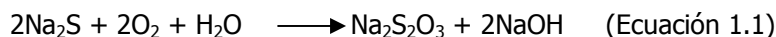
efluente, alcanzándose eliminaciones eficientes de la mayoría de los contaminantes.

1.1.3.1.- Tratamientos físico-químicos.

Debido a que las aguas residuales generadas son muy complejas, se requiere un fuerte pretratamiento antes de ser sometidas a un tratamiento biológico. Dentro de los tratamientos físico-químico, las operaciones iniciales más frecuentes son: desbastes de gruesos y finos, eliminación de arenas y grasas, homogeneización y sedimentación de sólidos en suspensión, aunque generalmente para este tipo de aguas residuales ni las arenas ni las grasas constituyen un aporte importante.

Desbaste: Es la operación de separación física mediante rejillas o tamices de materias sólidas arrastradas o en suspensión. El tamaño de estas materias sólidas oscila entre pequeñas y grandes partículas.

Eliminación de sulfuros: Suelen eliminarse mediante la oxidación con aire, aunque también se pueden utilizar oxidantes más enérgicos. La reacción mayoritaria que se produce a pH 11 y con suficiente aireación es:



Solo en el caso en que no exista déficit de oxígeno, la oxidación conduce a mezclas de tiosulfato y sulfito (dos tercios y un tercio respectivamente). Como la reacción avanza muy lentamente es recomendable utilizar algún catalizador siendo uno de los más eficaces el óxido de manganeso (Eye y Clement, 1972). Este proceso permite alcanzar fácilmente concentraciones de sulfuro inferiores a 1 mg/L y no produce residuos sólidos que luego deberían ser eliminados, lo cual es la ventaja del sistema. En plantas modernas, generalmente, se incorpora esta alternativa de tratamiento, pero solamente en aquellos casos de descarga indirecta.

Aparte del aire, la oxidación de los sulfuros puede hacerse con otros agentes oxidantes, como el O_2 , HClO , Cl_2 , H_2O_2 y O_3 . El oxígeno actúa según el mismo mecanismo que el aire aunque es significativamente más caro, pudiéndose justificar su uso cuando la aireación es insuficiente. El hipoclorito o el cloro gas tienen el inconveniente de reaccionar con otras sustancias presentes en el efluente que pueden empeorar la calidad del agua. El peróxido de hidrógeno tiene muchas ventajas. A pH neutro o ácido, predomina la oxidación a azufre, mientras que a pH alcalinos (superiores a 8) como se acostumbra a tener, se forman sulfatos, siendo su limitación el coste, por lo que si se utiliza H_2O_2 se recomienda hacerlo después de la oxidación catalítica aire/ Mn^{2+} para eliminar las

concentraciones remanentes de sulfuro, cuando éstos alcanzan los 2-10 mg/L. Un efecto análogo al del peróxido de hidrógeno, se obtiene con el uso del ozono.

Los sulfuros y especialmente el sulfuro de hidrógeno, son tóxicos para muchas especies microbianas, y pueden causar problemas en la biomasa en un sistema biológico, aunque se ha demostrado que una concentración de sulfuros de 50 mg/L (incluso 100 mg/L) no inhiben los procesos de la oxidación biológica de materia orgánica. Este punto es muy importante ya que la oxidación total con aire puede exigir tiempos muy largos, en cambio resulta práctico someter las aguas de calero a una desulfuración catalítica con aire y después acabar con un tratamiento biológico aerobio que oxide el sulfuro residual y los tiosulfatos hasta sulfatos. De esta manera el contenido de la materia orgánica para esta corriente de agua residual es muy bajo, debiendo evitar las zonas anaerobias en el tratamiento de lodos activos que podrían volver a reducir los sulfatos (Ylla y May 2000).

Para conseguir una adecuada desulfuración de las aguas residuales generadas en el proceso de curtidos se suelen aplicar también los siguientes procedimientos:

- ❑ Llevar los baños de pelambre a un depósito de homogeneización provisto de agitadores sumergidos y difusores de aire donde tendrá lugar la oxidación de sulfuro a sulfato.
- ❑ Recuperación del H_2S mediante acidificación a pH 3-4 en atmósfera cerrada. Las proteínas precipitan y se desprende H_2S (gas) que se fija haciéndolo pasar por una solución de NaOH en una torre de absorción.
- ❑ Tratamiento con los gases de combustión de las calderas, el que consiste en hacer borbotear los gases de combustión a través de los baños alcalinos que contienen sulfuro. El CO_2 del gas neutraliza la alcalinidad y el SO_2 proveniente del azufre del combustible oxida los sulfuros.
- ❑ Precipitación del S^{2-} con Fe^{+3} ; proceso físico-químico bastante eficaz, pero presenta el inconveniente de generar un precipitado negro de sulfuro de hierro.

Homogeneización: Operación de mezclado del residuo líquido para obtener una mezcla uniforme, ya que el caudal y la concentración de contaminantes en los vertidos son variables, lo que podría afectar la operación de la planta de tratamiento biológica. Por tanto, para un buen funcionamiento es necesario un caudal de trabajo constante y una composición química regular. Esto se consigue mediante un depósito de homogeneización instalado después del desbaste y antes de la depuración biológica.

Decantación primaria: La decantación es la opción tradicional para separar sólidos de una fase líquida. En los decantadores se hace fluir el líquido a una velocidad inferior a la de sedimentación de las partículas que interesa eliminar,

las cuales se depositan en forma de lodos. A través de éste tipo de decantación es posible disminuir las concentraciones de DBO_5 , DQO y materias en suspensión, sin necesidad de la adición de productos químicos. Song *et al.* (2000) alcanzaron porcentajes de eliminación de un 75 y 76,1% de sólidos en suspensión; 37,7 y 41,5% de DQO; 25,9 y 30,3% de DBO y 71,2 y 83,2% de cromo en ensayos realizados en una columna de sedimentación para tiempos de 1 y 3 h.

Separación por flotación: Constituye otra alternativa para la eliminación de sólidos en suspensión. En vez de sedimentarlos, se les hace ascender hasta la superficie. Se presuriza agua saturándola con aire disuelto para a continuación reducir la presión del agua a la entrada de la cámara de flotación, produciéndose al descomprimir infinidad de burbujas que al adherirse con los flóculos hacen que éstos tienden a flotar en vez de sedimentar. Los rascadores de barrido de la superficie acumulan estos lodos y los vierten a un canal receptor.

Coagulación - Flotación: En las aguas residuales, además de tener partículas sólidas que pueden ser eliminadas con un proceso de decantación primaria, existen sustancias coloidales, que son difícilmente sedimentables debido al hecho de que al estar cargadas electrostáticamente con iones del mismo signo, se repelen entre ellas manteniéndolas en movimiento constante que les impide sedimentar. Para desestabilizar estas suspensiones hay que neutralizar el potencial Z, mediante coagulantes tales como el sulfato de aluminio, sales de hierro y también de cromo. Con esta desestabilización, las materias no disueltas y las coloidales se precipitan y, tras la decantación, el líquido queda clarificado.

El uso de procesos de coagulación ha sido ampliamente investigado en la depuración de las aguas de curtidurías. Orhon *et al.* (1998) alcanzaron una mayor reducción del contenido de materia orgánica y una mejora de la velocidad de eliminación del material particulado lentamente biodegradable, al tratar las aguas residuales en una primera etapa mediante una sedimentación primaria y posteriormente un tratamiento químico de flotación con sales aluminio y de hierro, usando además como coagulante un polietectrolito aniónico.

Existen diversas citas de ensayos de coagulación y floculación con diferentes electrolitos para este tipo de aguas. Talinli (1994) evaluó las características del efluente después de ser sometido a un tratamiento de coagulación y floculación cloruro de aluminio y hierro además de la adición de un polielectrolito, obteniéndose porcentajes de eliminación de 63% DQO, 58% DBO_5 , 33% sulfato y 97% cromo, obteniéndose un efluente con unas características para ser tratado posteriormente mediante un tratamiento biológico. La producción de lodo biológico y químico fue de $2,5 \text{ kg/m}^3$ de agua tratada.

Tünay *et al.* (1994) realizaron ensayos en discontinuo para determinar las concentraciones adecuadas a adicionar de FeCl_3 como floculante en distintas muestras de aguas de curtidos. La oxidación del sulfuro presente en las muestras fue catalizada previamente con MnSO_4 a una concentración de 200 mg/L. Garrote *et al.* (1995) aplicó un método de coagulación floculación empleando FeCl_3 como agente floculante y Ca(OH)_2 como base precipitante, logrando mediante dos ciclos del tratamiento reducir la DQO del efluente un 87%, eliminando simultáneamente Cr^{3+} , S^{2-} y estabilizando el pH.

Estos sistemas de coagulación-floculación también se han utilizado para recuperar el cromo. Wiegant *et al.* (1999) utilizaron un sistema para precipitar las sales curtientes de cromo con óxido de magnesio en rango de pH 8 a 9. El lodo formado fue separado del licor de mezcla disuelto en H_2SO_4 . El licor resultante fue reutilizado.

Las medidas empleadas en la práctica para disminuir el contenido de cromo en el efluente son:

- ❑ La reducción del contenido de cromo en el proceso, es decir, un alto agotamiento o reciclaje de licor de cromo.
- ❑ Una medida externa de control de cromo en los efluentes es la precipitación de éste en forma de hidróxido con un álcali, separándose el precipitado y posteriormente la redisolución con ácido sulfúrico.

En el caso en que no se realiza el proceso de curtido con cromo y se emplean taninos, las aguas residuales procedentes del curtido vegetal dan al efluente un color pardo al final de la etapa biológica. Este color tiene su origen principalmente al empleo de taninos difícilmente biodegradables. La precipitación con sales de aluminio o de hierro permite reducir esta coloración en un 80% y reducir la DQO en aproximadamente un 50%. La necesidad de dicha precipitación como, postratamiento depende de la relación del curtido al cromo con el curtido vegetal.

Los lodos formados en la coagulación y floculación han de ser sedimentados. Si la dosificación de reactivos ha sido correcta el agua quedará bien clarificada. Del fondo del decantador han de ser extraídos los lodos para su posterior espesamiento y secado, con un contenido de sólidos entre un 3% y 5% que corresponde a 20-50 g SST/L.

Espesamiento y secado de los lodos: Para que los lodos puedan ser vertidos y el coste de transporte disminuya es necesario concentrarlos mediante una etapa de espesamiento por gravedad, previa adición de reactivos. Tras el espesamiento, el porcentaje de sólidos aumenta entre un 8-15%, para incrementar el porcentaje de sólidos en el fango se suelen efectuar alguno de los

siguientes tratamientos de deshidratación: filtración a vacío, centrifugación, filtración a presión y secado térmico.

1.1.3.2.- Tratamientos biológicos

Para el tratamiento biológico de las aguas residuales de curtidos se utilizan procesos aerobios y anaerobios. Los procesos aerobios más utilizados son los sistemas de lodos activos y los reactores discontinuos secuenciales y para sistemas anaerobios los reactores tipo UASB (Upflow Anaerobic Sludge Blanket).

Sistemas Aerobios

Szpyrkowicz *et al.* (1991) realizaron investigaciones sobre la posibilidad de nitrificación y desnitrificación en un sistema de lodos activos evitando un pretratamiento físico químico. El esquema de la planta piloto utilizado se muestra en la Figura 1.4, y consiste en una unidad desnitrificante de 550 L, provisto de un agitador vertical, y una unidad de lodos activos de 1000 L. El licor de mezcla se recircula a la unidad de desnitrificación mediante una bomba peristáltica.

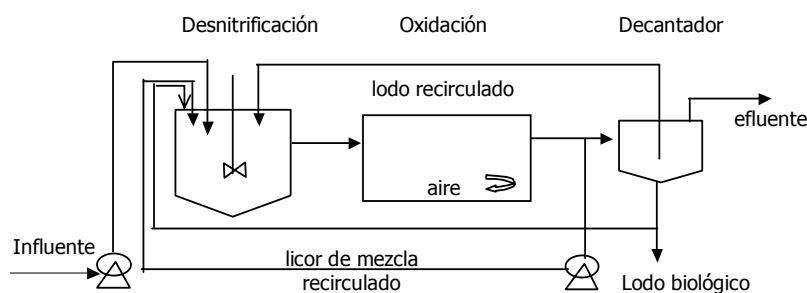


Figura 1.4: Esquema de la planta piloto industrial para la eliminación conjunta de materia orgánica y nitrógeno.

En esta planta piloto, se trató una mezcla de aguas residuales, correspondiendo un 90% del caudal total a aguas residuales provenientes de alrededor de 30 curtiembres y el 10% a aguas municipales. La mezcla de agua residual tratada presentó una concentración de materia orgánica en torno a 2500 mg DQO/L y un contenido de nitrógeno de 200 mg N-NH₄⁺/L. La concentración total de cromo y de ión sulfuro presente en esta agua estaba comprendida entre 32-34 mg Cr total/L y 44-56 mg S²⁻/L. Los resultados mostraron la posibilidad de obtener un efluente de buena calidad en términos de eliminación de N y DQO, no adicionando durante la desnitrificación una fuente externa de carbono. Las

actividades nitrificantes y desnitrificantes fueron comparables con los valores encontrados para las aguas residuales domésticas. No se observó inhibición de los procesos biológicos por el S^{2-} y el Cr^{+3} , suponiéndose que el cromo se eliminaba con el lodo purgado.

Un sistema cada vez más utilizado es el de reactores discontinuos de alimentación por lotes [Sequencing Batch Reactor (SBR)] debido a la simplicidad de diseño. Diversos trabajos experimentales a escala de laboratorio desarrollados por Carucci *et al.* (1999) utilizaron estos sistemas para tratar aguas residuales de curtientes con una relación DQO/NTK mayor que 8. La estrategia de operación fue de ciclos de 6 horas de las cuales 1,5 horas corresponden a la fase anóxica y 3,5 horas a la fase aerobia, el tiempo restante distribuido en las operaciones de llenado, decantación y descarga (Figura 1.5). Se alcanzó un alto porcentaje de desnitrificación sin la necesidad de adición de una fuente externa de carbono. Algunas ventajas observadas en estos sistemas al compararlos con reactores continuos son la sencillez en su diseño y operación así como la alta versatilidad.

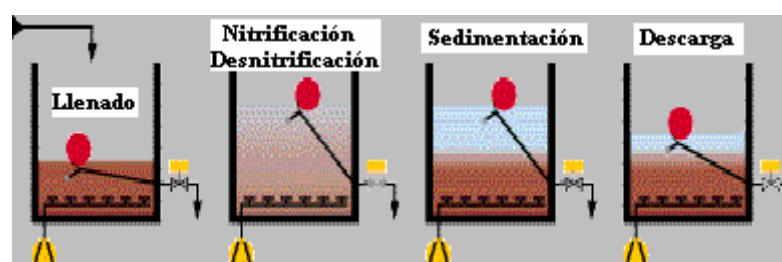


Figura 1.5: Esquema de la operación de un reactor discontinuo secuencial.

Se han utilizado reactores SBR para el tratamiento conjunto de aguas residuales urbanas con aguas de curtidurías en el sur de Polonia (Nowy Targ), estos sistemas se utilizaron después de someter esta mezcla de aguas residuales a un tratamiento físico químico que redujo el contenido de cromo a 3 mg/L. La configuración de la planta se muestra en la Figura 1.6, tratando un flujo de 12000 m³/d. La planta disponía de 3 reactores, trabajando en ciclos de 6 horas de las cuales 0,5 h eran para llenado y mezclado, 1,5 h para llenado y aireación, 2 h de reacción, 1 h sedimentación y 1 h de decantación.

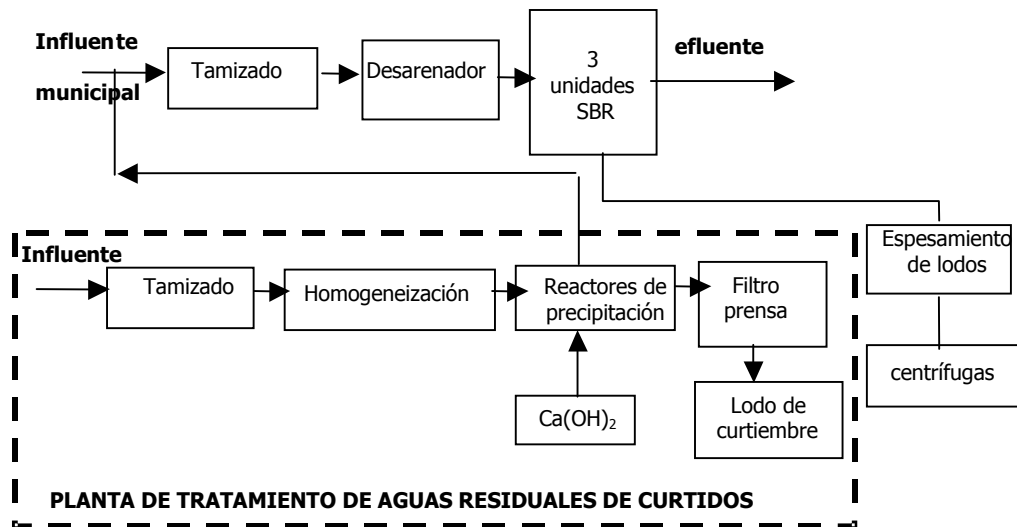


Figura 1.6: Esquema planta de tratamiento de aguas residuales de curtiduría mediante SBR (Nowy Targ, Polonia).

Se obtuvieron altos porcentajes de eliminación para DBO 96,8%, sólidos en suspensión totales (SST) 95,2%, fósforo 89,5% y nitrógeno total 74,1%. La producción de lodo se incrementó al aumentar la concentración de cromo en el influente (Kabacinski *et al.*, 1998; Banas *et al.* 1999).

Otros sistemas utilizados para la eliminación conjunta de materia orgánica y nitrógeno son los tratamientos biológicos que se llevan cabo en condiciones anóxicas y aerobias. Chung *et al.* (2000) emplearon a escala de laboratorio un sistema con dos reactores conectados en serie, en el cual un reactor se encontraba en condiciones aerobias y el otro en condiciones anóxicas (Figura 1.7). Se empleó zeolita en polvo en la zona anóxica para eliminar amonio por intercambio de iones entre la zeolita y el ión amonio en solución. La zeolita rica en amonio y la biopelícula formada es retornada a la zona aerobia del reactor para la nitrificación. Se obtuvieron altas eficacias de eliminación de nitrógeno y materia orgánica, 90% y 91% respectivamente. No fue necesaria la regeneración de la zeolita con NaCl, ya que esta se llevó a cabo mediante el proceso biológico, siendo muy efectiva para la formación de una biopelícula mejorando la sedimentabilidad del lodo debido a la formación de un flóculo más estable.

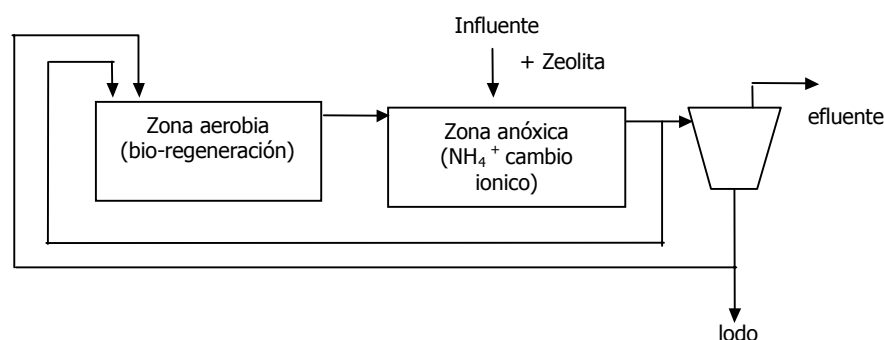


Figura 1.7: Tratamiento biológico de aguas de curtidurías con zeolitas.

Otra alternativa estudiada a escala de laboratorio intenta sustituir el proceso Fenton, por una combinación de un reactor secuencial discontinuo con la biomasa en una biopelícula y una oxidación química con ozono (Iaconi *et al.* 2002). Los ensayos se llevaron a cabo en un reactor alimentado con efluente de una industria de curtidos del centro de Italia. Los resultados indicaron una eliminación de un 41%, presentando como ventaja una reducción de la producción de lodo como sucede comúnmente en el proceso terciario Fenton.

En el caso de curtidurías que utilicen curtientes vegetales pueden ser importantes los aspectos inhibitorios especialmente sobre las especies del ciclo del nitrógeno. López-Fiuza y Méndez (2002) realizaron estudios de inhibición sobre biomasa aerobia nitrificante en suspensión no aclimatada al tratamiento de aguas residuales de curtidos, determinando la concentración de diferentes taninos (quebracho, mimosa y castaño) que inhiben un 50% la actividad biológica (IC_{50}). Los valores obtenidos de IC_{50} sobre las bacterias amonio oxidantes fueron de 7,0 g quebracho/L, 2,5 g mimosa/L y 3,3 g castaño/L, demostrando así la posibilidad de eliminación de nitrógeno en aguas que contengan este tipo de extractos, ya que los efluentes que se generan presentan valores usualmente menores a 1 g/L.

Sistemas Anaerobios

El tratamiento anaerobio es una alternativa a los tratamientos convencionales aerobios, para la eliminación de materia orgánica biodegradable de los efluentes industriales con una elevada concentración de ésta. Uno de los principales problemas que surgen cuando se utiliza este proceso puede ser la alta

sensibilidad de las bacterias anaerobias metanogénicas a los compuestos tóxicos. Diversos ensayos de inhibición se han llevado a cabo empleando algunos compuestos presentes en las aguas residuales de la industria de curtidos sobre biomasa anaerobia. Vijayaraghavan y Murthy (1997) evaluaron el efecto inhibitorio de taninos sobre la operación de un reactor anaerobio, concentraciones superiores a 914 mg taninos/L provocaron una completa inhibición de la biomasa, concentraciones menores o iguales a 180 mg sulfuro/L y 140 mg Cr^{3+} /L no afectaron a la evolución del reactor. Sierra-Álvarez *et al.* (1994) observaron un 50% de inhibición de las bacterias metanogénicas para una concentración de 350 mg/L de taninos condensables y 700 mg/L de taninos hidrolizables. Genschow *et al.* (1997) realizaron estudios de inhibición debidos a la presencia de iones cloruro, sulfato, cromo y hierro, afectando el cloruro sobre el volumen de gas producido y el sulfato sobre la eliminación de DQO. Concentraciones de cloruro férrico, de 1 g/L y 2 g/L en el influente, empleadas para la eliminación de sulfuro como FeS disminuyeron el volumen de gas producido, pero no afectaron a la eliminación de DQO y el cromo no presentó efectos significativos sobre dicho proceso en el intervalo de concentraciones estudiado.

Wiegant *et al.* (1999) realizaron experimentos a escala industrial en un reactor UASB de 5000 m³ que trataba aguas residuales de 176 curtiembres en la India. Para obtener mejores resultados esta agua (8000 m³/d) se mezcló con una corriente de aguas municipales (14000 m³/d), diluyéndose considerablemente las concentraciones de sulfato. En la Figura 1.8, se observa el esquema del sistema de tratamiento aplicado.

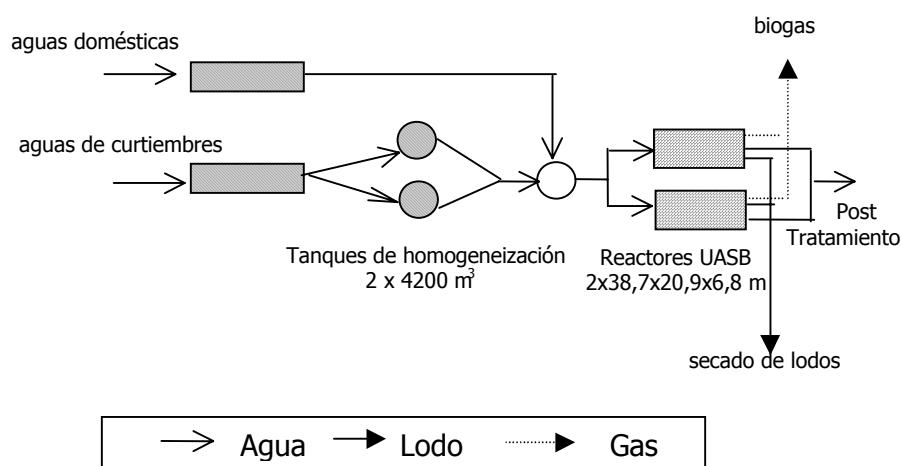


Figura 1.8: Esquema representativo de una planta industrial de tratamiento anaerobio.

Los resultados promedios del tratamiento aplicado presentan una reducción de un 57% de DQO y un 59% de eliminación de sólidos en suspensión volátiles. La concentración en el efluente fue de 510 ± 85 mg DQO/L y 200 ± 50 mg SSV/L, necesitando por tanto un post-tratamiento.

Otros autores como Genschow *et al.* (1996) han realizado estudios para evaluar la eficacia de eliminación de sulfato. Los ensayos se realizaron en una planta piloto con dos etapas anaerobias, inicialmente se cuenta con un reactor agitado y posteriormente se tiene un reactor de lecho fijo de biopelícula, usando como soporte anillos rasching. En la primera etapa se obtuvo un 30% de reducción del sulfato, sin embargo en la segunda etapa este porcentaje disminuyó debido a incremento de la concentración de sulfato en el influente a valores superiores de 1180 mg/L. Por tanto, la eliminación de sulfato dependió del caudal de alimentación y de la concentración de sulfato en el influente. En este sistema es posible eliminar altas cargas de sulfato de la corriente líquida, sin embargo un inconveniente es la presencia de H_2S en el biogás.

Wiemann *et al.* (1998) evaluaron el efecto inhibitorio del sulfuro sobre bacterias anaerobias empleando agua residual, los resultados demostraron que la inhibición del sulfuro afecta principalmente a las bacterias metanogénicas. También se observó que una concentración de 100 mg H_2S /L inhibió la eficacia de degradación un mínimo de un 15%. Schenk *et al.* (1999) indican que el stripping es el proceso más favorable para eliminar H_2S .

Una de las principales aplicaciones del tratamiento anaerobio es el tratamiento de las aguas residuales provenientes de la corriente de ribera, ya que el proceso permite reducir la elevada concentración de materia orgánica de modo que al mezclar posteriormente el efluente tratado con otras corrientes es posible oxidar la materia orgánica restante y eliminar compuestos nitrogenados mediante un postratamiento. Jochimsen *et al.* (1997) realizaron ensayos que combinan un tratamiento biológico con una oxidación con ozono tratando por separado las corrientes de ribera y curtidors. Una combinación de un tratamiento anaerobio seguido de un tratamiento aerobio permite una eliminación de un 85% de la DQO (Reemtsma y Jeckel 1997).

Una combinación de tratamientos físicos-químicos y biológicos aerobios o anaerobios permiten obtener mayores eficacias en la eliminación de diversos componentes presentes en las aguas de curtidors (Tabla 1.5) y así poder obtener un efluente que cumpla con la normativa.

Tabla 1.5: Porcentajes de eliminación de diferentes parámetros al aplicar diversos tratamientos

Parámetros (%)	DQO	DBO ₅	SS	Cromo	S ²⁻	NTK
Pretratamientos						
Flotación de grasas	20-40					
Oxidación sulfuro	10				90	
Precipitación cromo				90-99		
Tratamientos Primarios						
Mezclado+sedimentación	25-35	25-35	50-70	20-30		25-35
Mezclado+trat.químico+ sedim	50-65	50-65	80-90	20-50	2-10	40-50
Mezclado+trat.químico+flotación	55-75	55-75	80-95	20-50	2-5	40-50
Tratamiento Biológico						
Primario o químico + ...						
... aireación	85-95	90-97	90-98	<1	<1	50
... nitrificación desnitrificación	85-95	90-97	90-98	<1	<1	80-90
... lagunas aerobias facultativas	80-90	85-95	85-90	<1	<1	50
tratamiento anaerobio (UASB)	65-75	60-70	50-80	<2		20-30

Fuente: European IPPC Bureau, Mayo (2001)

Tratamiento de lodos

La producción promedia de lodos generados en las curtiembres en Europa es alrededor de 400.000 t/año. Alrededor del 5 a 10% del lodo total generado es producido durante el tratamiento primario con un contenido de humedad del 95-97% (COTANCE, 2002). La forma más apropiada para el tratamiento de lodos depende de varias condiciones, tales como la disponibilidad de espacio y el relieve del terreno, las condiciones climáticas, el uso proyectado del lodo, etc..

Previo a la aplicación de un tratamiento es necesario la deshidratación de éstos con el objeto de disminuir el coste de transporte y reducir su volumen. Para la etapa de deshidratación se pueden utilizar varios dispositivos como filtros de bandas, filtros prensa, centrifugas y otros. Previo a la etapa de deshidratación se realiza un acondicionamiento del lodo añadiendo sales de hierro y cal, así como con agentes polielectrolíticos. El fango de curtidos puede llevar un contenido de materia orgánica del orden del 60-70% de materia seca y un 3-5% de nitrógeno siendo el contenido de potasio muy bajo.

La cantidad y las características del lodo producido dependen directamente del proceso y del tratamiento de aguas residuales aplicado. Para la eliminación o reducción del efecto contaminante del lodo existen varias alternativas:

Vertido del lodo, al optar por esta alternativa se deben considerar las limitaciones con relación al nivel de humedad y toxicidad de los lodos. Actualmente esta posibilidad cada día se reduce por la nueva legislación ambiental y por la disponibilidad de vertederos. En la Unión Europea el vertido de lodos con cromo trivalente está permitido previo tratamiento de estabilización evitando así la presencia de este compuesto en los posibles lixiviados generados. Sin embargo, el cromo hexavalente debe ser reducido y ser tratado de acuerdo al reglamento de residuos peligroso (Directiva 91/156/CEE) que indica la reducción del cromo hexavalente a cromo trivalente y su precipitación como hidróxido. Como agente reductor se utiliza el bisulfito sódico (NaHSO_3), metasulfito sódico ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$) y sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$), llevándose a cabo las reacciones a pH ácido (1-3).

Digestión anaerobia, la digestión anaerobia de residuos orgánicos no es una técnica común hoy en día, ya que esta técnica requiere de una cuidadosa planificación y desarrollo para obtener resultados beneficiosos, por lo que otras opciones se han utilizado preferentemente. La digestión anaerobia tiene la ventaja desde un punto de vista económico del aprovechamiento del biogás.

Aplicación del lodo en la agricultura, esta opción es una alternativa utilizada en Europa, teniendo como principal restricción, las limitaciones legales derivadas de los límites de permisibles de la contaminación de los suelos con cromo, pesticidas, microorganismos patógenos y otros contaminantes y saturación de nutrientes en el suelo. La legislación ambiental presenta límites de metales pesados como cadmio, mercurio, cobre, Zinc y níquel en los lodos, no especificando aún los límites de cromo y otros metales pesados. Si en el proceso de curtidos se ha realizado una buena recuperación del cromo, éste podría utilizarse como abono agrícola, ajustando las cantidades aplicadas a las necesidades del cultivo al que se apliquen, considerando el suelo como un reactor donde tiene lugar una biodegradación y la inmovilización de los constituyentes del lodo. El efecto es doble, corrección del suelo y provisión de sustancias nutritivas para las plantas.

Un problema habitual en la gestión de fangos de curtiduría lo constituye la presencia ocasional de concentraciones elevadas de cromo en el lodo, por lo que las únicas salidas serían la deposición en el vertedero o la incineración para aprovechar el poder calorífico del fango.

Compostaje aerobio, este método de producción de abono orgánico es otra de las alternativas para tratar los residuos sólidos, incluidos los lodos. El tratamiento vía compostaje tiene un coste cercano a 10US\$/t para una curtiembre cuya producción será de 600 cueros/día, al compararlo con el coste de los vertederos, 10 a 20 US\$/t, el compostaje surge como opción válida en términos económicos en países que sea legalmente aceptado el uso de ese compost (CONAMA, 1999).

Tratamiento térmico de lodos, la incineración, gasificación o pirólisis de lodos como medida para recuperar energía y/o reducir el volumen de residuos a manipular ha sido objeto de investigaciones frecuentes. Sin embargo, esta opción resulta interesante principalmente cuando las posibilidades de vertido son caras y restrictivas. La incineración de lodos presenta un coste asociado debido a la necesidad de abatimiento de las emisiones gaseosas y a los límites de emisiones a la atmósfera que depende de la calidad del lodo que se pretende tratar. Un estudio realizado en Austria indicó que la incineración requiere un alto consumo de energía para alcanzar temperaturas sobre 800 °C. Por otro lado, en Bélgica se ha estimado que el 17% de los lodos generados en la industria de curtidos son incinerados con un coste de 125 Euros/t (BREF, 2003).

1.1.3.3.- Nuevas Tecnologías: biorreactores de membrana

Debido al rápido desarrollo de los sistemas de membranas, a los buenos rendimientos que presentan y a la reducción continuada de su coste, la aplicación de esta tecnología en la industria del curtido está en aumento. La ventaja de los biorreactores de membrana (BRM) sobre los sistemas tradicionales de biomasa en suspensión son la alta concentración de sólidos en suspensión volátiles (mayores a 20 g SSV/L) con los que se pueden operar reduciendo considerablemente la producción de lodos debido a los altos tiempos de retención de sólidos. Otra ventaja, es la calidad del efluente, ya que dependiendo del proceso de filtración aplicado diversas partículas quedan retenidas favoreciendo la degradación en el sistema (Figura 1.9).

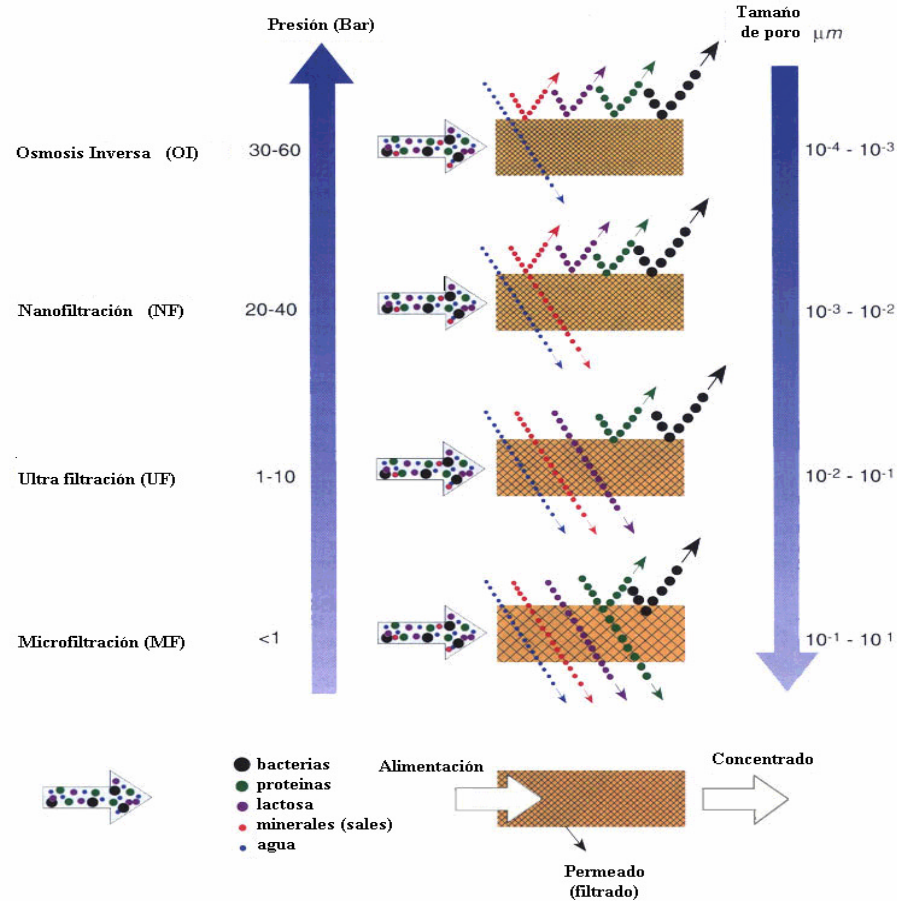


Figura 1.9: Técnicas de separación y componentes retenidos (Dairy Processing Handbook, 1995).

Existen dos configuraciones básicas de los reactores de membrana: sistemas de membranas sumergidas y sistemas de membranas externas (Figura 1.10). Los biorreactores de membrana sumergida operan a menores presiones transmembrana (PTM) (50-500 mbar) y solo es posible alcanzar flujos de permeado entre 10 y 60 $L/(h \cdot m^2)$, se utilizan principalmente para el tratamiento de aguas residuales urbanas. Por el contrario, los biorreactores de membrana externa operan a PTM entre 0,5 y 5 bar, en esta configuración es posible alcanzar flujos de permeado de hasta 120 $L/(h \cdot m^2)$, la principal aplicación es el tratamiento de aguas residuales industriales. (Gander *et al.* 2000; Côté y Thompson, 2000). Oyanedel (2002) describe en forma mas detalla las principales características de estas configuraciones.

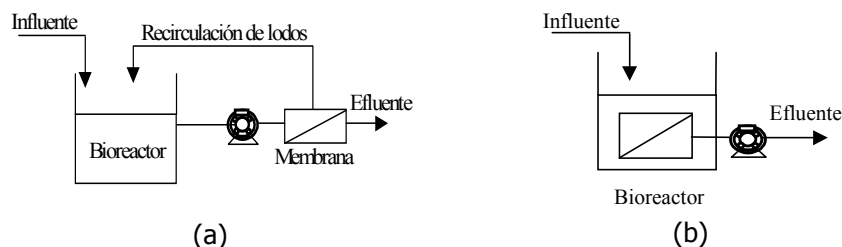


Figura 1.10: Configuraciones de las unidades de membranas: (a) módulo de membrana externa, (b) módulo de membrana sumergida.

Los sistemas de membrana sumergida han sido utilizados como sistemas para lograr una alta nitrificación en el tratamiento de diversas aguas residuales (Müller *et al.* 1995; Fan *et al.* 1996). Yamamoto y Win (1991) emplearon membranas de fibra hueca para el tratamiento de aguas de curtidos. Se han realizado algunas aplicaciones a escala industrial con unidades de ultrafiltración en varias industrias de curtidos, para el tratamiento de sus efluentes, separación de aceites o grasas de las disoluciones de desengrase acuoso y reciclado de baños de proceso de remojo y calero, habiéndose utilizado también la microfiltración de flujo cruzado para el reutilización y/o recuperación de licores de cromo de la curtición de piel.

A pesar de estas aplicaciones, estas tecnologías están todavía en fase de prueba, ya que debido al alto coste de instalación y operación estos sistemas no son lo bastante atractivos. Algunas de las investigaciones que se están llevando a cabo están enfocadas al estudio de la economía y fiabilidad técnica de diversos tipos y configuraciones de membranas, en las siguientes aplicaciones:

- ❑ Recuperación y reciclado de licores usados en el proceso de curtidos, en particular de pelambre (Reyes 1999).
- ❑ Aplicación de los sistemas con membranas para el tratamiento de efluentes difíciles que presentan, en particular aceites, grasas, metales y una DBO elevada así como sólidos en suspensión finos (Sutton *et al.*, 1994; Chuichulcherm *et al.*, 2001).
- ❑ Utilización de las membranas en el tratamiento biológico con el objeto de retención y oxigenación de la biomasa (Pankhania *et al.*, 1994; Parameshwaran *et al.*, 1999).

Con la utilización de las tecnologías de membranas en el proceso de curtición se consigue una reducción del consumo más del 80% de productos químicos empleados en el proceso de curtidos, una disminución del consumo de agua y por tanto menor generación de efluentes. Cuando se aplican estos sistemas con

membranas en el tratamiento de efluentes se pretende mejorar el rendimiento y minimizar la producción de lodos.

Goltara *et al.* (2003) compararon a escala de laboratorio las eficacias de eliminación de materia orgánica y nitrógeno empleando aguas de la corriente de ribera con oxidación previa de sulfuro en un reactor SBR convencional y otro con membrana de fibra hueca interna. Con el sistema SBR convencional se alcanzaron porcentajes de eliminación de nitrógeno de un 90%, mientras que en el sistema provisto de un módulo de membrana se obtuvieron porcentajes de eliminación de nitrógeno del 100% y de eliminación de materia orgánica de un 90%. Yamamoto y Win (1991) emplearon a escala de laboratorio un reactor de fibra hueca para el tratamiento de aguas residuales de curtidos, evaluándose la operación a diferentes tiempos de retención sólidos (TRS) aplicando velocidades de carga orgánica de 3, 5 y 10 kg DQO/(m³·d).

Krauth (1996) trabajó con un biorreactor aerobio de 2,5 m³ presurizado a 3 bares con una membrana de ultrafiltración de área 1,32 m² y una unidad de nanofiltración de 2,4 m² en el tratamiento de aguas residuales provenientes de la industria textil y de curtidos. El flujo aplicado a través de la membrana de ultrafiltración fue entre 100 y 200 L/(m²·h) y para la membrana de nanofiltración de 0,05 L/(m²·h), observando que al retornar el concentrado retenido en la unidad de nanofiltración al biorreactor aumentaba la biodegradabilidad y mejoraba la calidad del efluente. Sin embargo, la concentración de material no biodegradable y sales retenidas en la membrana se incrementó con el tiempo observándose un efecto negativo sobre la degradación biológica y sobre la permeabilidad a través de la membrana. Esta tecnología podría ser económicamente competitiva para el tratamiento de aguas residuales si la energía consumida para la filtración a través de la membrana se puede reducir a 1 kWh/m³ de agua residual.

Uno de los inconvenientes del tratamiento con membranas es el ensuciamiento de éstas, ya que afectan a la eficiencia del sistema e influyen en el coste de operación, debido principalmente a la disminución de la permeabilidad. Los tres mecanismos que afectan al bioensuciamiento incluyen la adsorción de polímeros extracelulares solubles o en suspensión sobre la superficie o en los poros de la membrana, la obstrucción de los poros de la membrana por finas partículas coloidales y la adhesión y/o deposición de una capa de lodo sobre la superficie de la membrana. El diseño del módulo de membrana, las condiciones hidrodinámicas, las condiciones de operación de los módulos de membrana, el material de éstas, la naturaleza del licor de mezcla son factores dominantes que afectan al ensuciamiento (Liao *et al.* 2004).

La formación de una capa de lodo sobre la superficie de la membrana es el tipo de ensuciamiento más frecuente (Figura 1.11). Éste habitualmente se controla con aireación, ya que genera un adecuado movimiento de la fibras eliminando la capa de lodo presente sobre la superficie o bien evitando su formación.

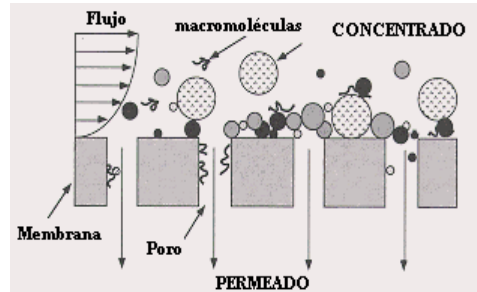


Figura 1.11: Ensuciamiento de una membrana

Se han propuesto varias expresiones empíricas para correlacionar el flujo o la permeabilidad de la membrana con distintos parámetros. Fane *et al.* (1981), Sato y Ishii (1991) han encontrado diversas relaciones lineales o no lineales entre la resistencia a la filtración y la concentración de sólidos. Otros autores han obtenido correlaciones con la distribución del tamaño de partículas (Cicek *et al.* 1999) o el carbono orgánico disuelto y DQO (Sato y Ishii, 1991). Se ha intentado correlacionar la permeabilidad con la concentración de sustancias poliméricas extracelulares que se cree son las primeras responsables del ensuciamiento de las membranas (Chang *et al.* 2001). En la Figura 1.12, se observa como la estructura de una membrana nueva y como se encuentra ésta transcurrido un año de operación.

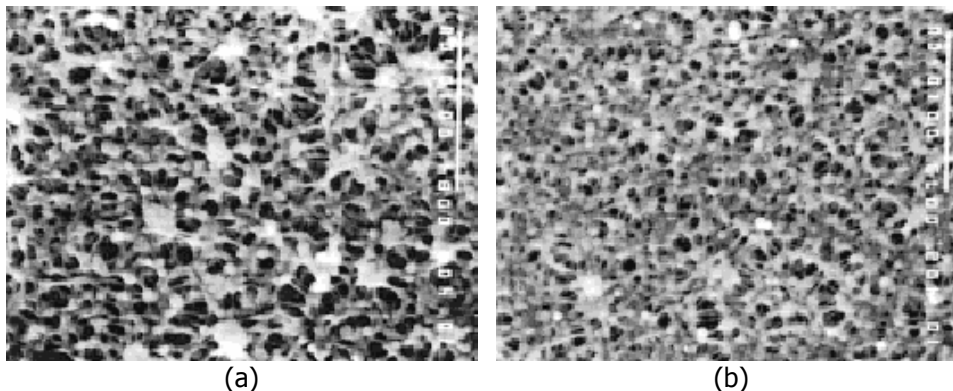


Figura 1.12: Imagen (X4000) mediante barrido electrónico de una membrana (a) nueva y (b) después de un año de operación (Kimura *et al.* 2000).

1.2.- MÉTODOS EMPLEADOS EN LA CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD MICROBIANA DE LA BIOMASA.

La caracterización de los parámetros cinéticos de la biomasa presente en los sistemas biológicos da una información importante para evaluar la capacidad del sistema y establecer las condiciones adecuadas de operación. Mediciones simples de la actividad de la biomasa proporcionan información acerca de las velocidades específicas de diferentes reacciones biológicas y de la biodegradabilidad de los diversos componentes del sustrato. Otro factor importante a evaluar es el efecto inhibitorio que pueden producir diversos compuestos presentes en las corrientes de aguas residuales sobre la biomasa.

Se han desarrollado diferentes métodos para la caracterización de la actividad microbiana, ejemplo de ello son los métodos químicos, calorimétricos, respirométricos y de titulación.

1.2.1.- Métodos químicos

La monitorización del consumo de un determinado sustrato y/o la aparición de un determinado producto mediante el seguimiento de la concentración en el tiempo permite determinar la velocidad de consumo y/o producción de éste. Entre los procesos que se pueden seguir con estas técnicas se encuentran las reacciones biológicas de nitrificación y desnitrificación.

La variación de la concentración de amonio o nitrito con el tiempo permite determinar la velocidad de nitrificación. El seguimiento de la producción de nitrato mediante ensayos en discontinuo es una de las metodologías más utilizadas en la determinación de la velocidad de nitrificación en muestras de lodos activados (Kristensen *et al.* 1992; Arvin *et al.* 1994; Eilersen *et al.* 1994; Copp y Murphy, 1995). En este tipo de metodología es necesario el muestreo regular y el análisis químico de amonio y nitrito en las muestras para poder determinar las velocidades de consumo.

Para procesos de desnitrificación, la actividad puede ser determinada por monitorización del consumo de NO_3^- (Kristensen *et al.* 1992; Harremoës y Sinkjaer, 1995), o bien, mediante el seguimiento de amonio y nitrato usando un sistema de análisis de inyección de flujo (FIA) (Isaacs y Temmink, 1996). Beaubien y Jolicoeur (1985) correlacionaron la velocidad de producción de gas con la velocidad de consumo de NO_3^- , obteniéndose buenos resultados, por lo que la velocidad de producción de gas es un método alternativo para la monitorización de la desnitrificación. En este sentido Buys *et al.* (2000) han usado la medición de la presión y de la composición del gas como medida de la actividad microbiana de la desnitrificación.

1.2.2.- Métodos calorimétricos

El estudio de los procesos metabólicos de los microorganismos empleando sistemas calorimétricos se basa en la aplicación de balances de materia y energía, que relacionan el calor generado durante la fase de crecimiento con la actividad microbiana, lo que permite correlacionar la medida experimental de energía intercambiada con las distintas reacciones biológicas que transcurren en serie o en paralelo.

Los calorímetros se clasifican en dos grandes grupos: calorímetros adiabáticos y calorímetros de flujo de calor.

En los calorímetros adiabáticos se evita el intercambio de calor entre el entorno y la vasija calorimétrica, por lo que, el calor que se desprende o absorbe durante la reacción producirá una variación en la temperatura de la vasija calorimétrica.

Dependiendo del rango de medido, los calorímetros de flujo pueden ser definidos como calorímetros y microcalorímetros. Las diferencias más significativas entre los calorímetros y los microcalorímetros, están referidas a la sensibilidad de la potencia térmica del equipo, siendo en torno a $1 \mu\text{W}$ en los microcalorímetros y superiores a 1 W en los calorímetros. Además el volumen de muestra requerida en los calorímetros es superior a la empleada en los microcalorímetros, (Figura 1.13) entre 1-5 ml. En estos equipos se trabaja con cantidades muy pequeñas de muestra siendo la capacidad de la vasija calorimétrica de unos mililitros y por tanto, las unidades de calor y potencia térmica detectada son del orden de mJ y μW , respectivamente.

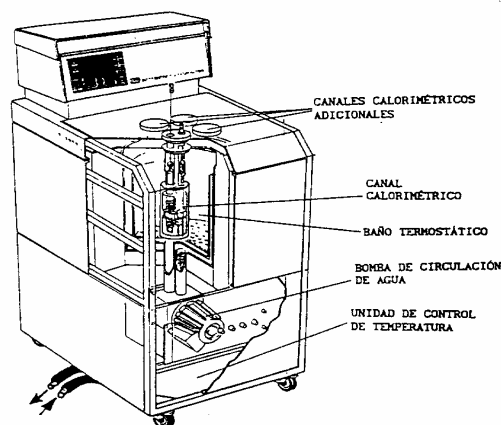


Figura 1.13: Esquema de un microcalorímetro de flujo (equipo 2277 Thermal Activity Monitor, Ramos,1996).

La medida cuantitativa de la actividad biológica se obtiene a partir de las curvas potencia-tiempo en combinación con una o más técnicas analíticas específicas. Una de las principales ventajas que presenta este método es que se puede aplicar a múltiples medidas y evaluaciones biológicas tanto en condiciones aerobias como anaerobias (Jolicoeur *et al.* 1988; Wadsö, 1995). Una de las principales fuentes de error de éstos sistemas, al realizar ensayos con sistemas biológicos, es la correcta calibración de los equipos, para poder garantizar la fiabilidad de las mediciones realizadas, recomendándose la realización de calibraciones químicas que complementen las calibraciones en las que se usan sistemas eléctricos insertados en los equipos.

La idea de utilizar la calorimetría para ensayos microbiológicos apareció hacia 1970. Algunos ensayos realizados han tenido por objeto obtener datos termodinámicos de diversos procesos biológicos (Von Stockar y Marison 1989; Van Kleeff *et al.* 1993). Experimentos sobre procesos de biodegradación en suelos se realizaron por Critter y Airoidi, (2001). Weppen *et al.* (1991) utilizaron la calorimetría para la estimación directa de la demanda biológica de oxígeno. Otras aplicaciones de estos sistemas sobre la actividad biológica fueron los ensayos de inhibición o toxicidad de diversas sustancias sobre biomasa heterótrofa, nitrificante y desnitrificante (Aulenta *et al.* 2002). Fortier *et al.* (1980) evaluaron el efecto tóxico de componentes como cianuro, cadmio, cromo, cobre y fenol sobre muestras de lodos activos, encontrando resultados similares al comparar dichos resultados con los obtenidos empleando técnicas respirométricas. Ramos (1996) aplicó la calorimetría de flujo para evaluar el efecto del fenol y paraformaldehído sobre biomasa en suspensión nitrificante, observando una reducción del flujo de calor durante las fases de oxidación de amonio y nitrito a medida que se incrementaba la concentración de tóxico durante la experimentación (Figura 1.14).

La medida de flujo de calor en presencia de inhibidores puede servir como una base para evaluar los efectos de los compuestos contaminantes sobre la biomasa. Dada la sensibilidad de algunos equipos microcalorimétricos se ha podido trabajar incluso con suspensiones de hasta 10^4 células/cm³ con un tiempo de respuesta de aproximadamente un minuto, pudiendo emplearse prácticamente para todo tipo de microorganismos, sustratos y contaminantes o tóxicos (Beaunien y Jolicoeur, 1984).

La monitorización en línea de un proceso biológico usando calorimetría proporciona información acerca de las reacciones cinéticas de la actividad que tiene lugar. Jolicoeur *et al.* (1988) monitorizaron la actividad biológica de dos procesos diferentes de tratamiento de aguas residuales: tratamiento aerobio de un efluente de una industria de textil y un tratamiento anaerobio de fermentación para un efluente proveniente de la industria de quesos. Menert *et*

a/ (2001) utilizaron la microcalorimetría para monitorizar el proceso de digestión anaerobia aplicado a aguas residuales altamente contaminadas con aguas residuales de industrias de queso y destilería.

Un inconveniente de la utilización de esta técnica es el elevado coste de los equipos, por lo que, no es posible el empleo de estos sistemas como una herramienta de control en plantas de tratamiento. Por otra parte, la puesta a punto de estos equipos resulta ser un tanto compleja principalmente en ensayos con sistemas biológicos.

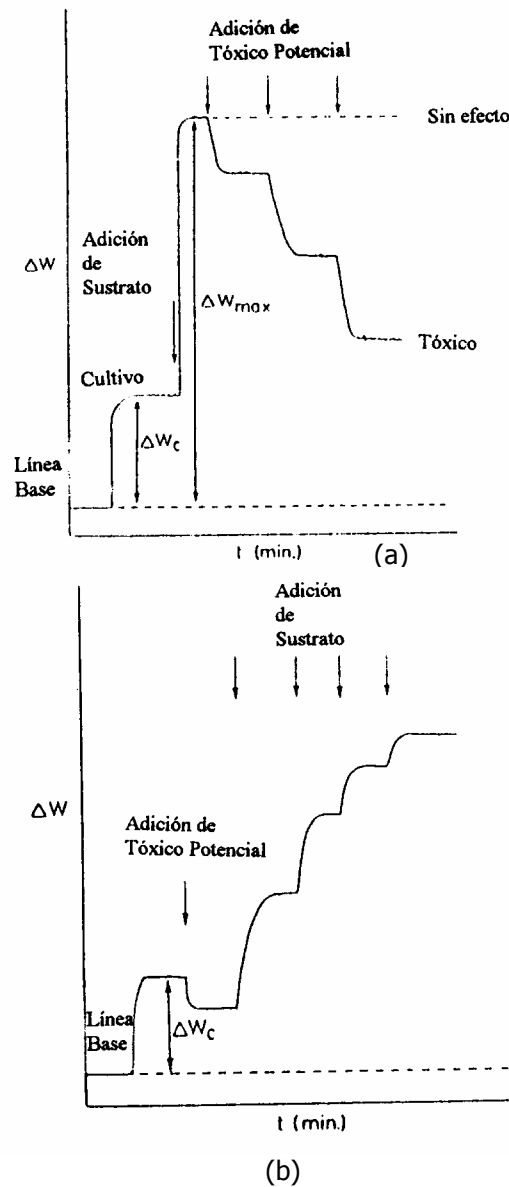


Figura 1.14: Termograma en el que se muestra la evolución de la potencia calorífica con el tiempo para ensayos de inhibición en la nitrificación. (a) adición inicial de sustrato y posterior inyección de concentraciones crecientes de compuesto tóxico. (b) adición de una determinada concentración de tóxico y adiciones posteriores de sustrato (Ramos, 1996).

1.2.3.- Métodos respirométricos

La respirometría consiste en la medición de la tasa de consumo de oxígeno disuelto, es decir, la velocidad de respiración del lodo, que es directamente proporcional a la actividad de la biomasa y por tanto a su capacidad de degradación. Esta técnica es seguramente la más antigua utilizada para la monitorización de los tratamientos aerobios, la caracterización de la biodegradabilidad de las aguas residuales y la evaluación de la toxicidad. Diversos autores como Kong *et al*, 1994; Spanjers *et al*, 1994 y Vanrolleghen *et al*. 1996, describen aplicaciones de esta técnica.

Existen diversos tipos de respirómetros, que se pueden clasificar en sistemas respirométricos de biosensores y biorreactores.

Los biosensores están constituidos por un electrodo de oxígeno, en el cual la membrana utilizada normalmente como interfase con el líquido es sustituida por una doble membrana que contiene una pequeña masa inmovilizada de biocatalizador. A causa de la dificultad relativa de inmovilizar el fango activo, esta sonda utiliza un cultivo de una o más cepas seleccionadas y aunque no contiene un amplio espectro de microorganismos, como en el caso del fango activo, permite la medición del consumo de oxígeno en la muestra de lodo.

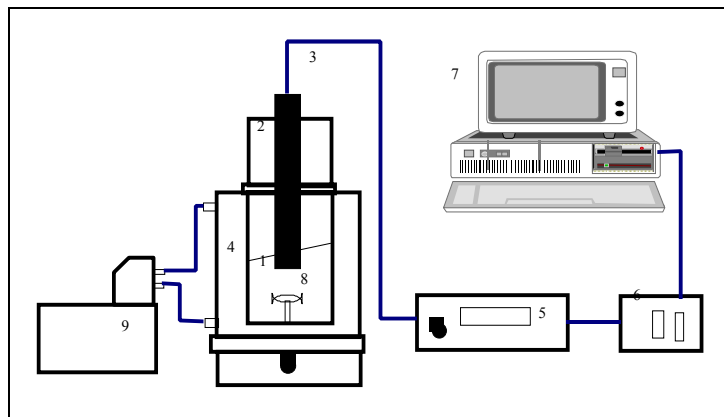


Figura 1.15: Esquema de un respirómetro de biorreactor cerrado.

1 Celda de medición; 2 Soporte del electrodo; 3 Electrodo de oxígeno; 4 Camisa termostatzada; 5 Amplificador; 6 Tarjeta de adquisición de datos; 7 Ordenador; 8 Agitador magnético; 9 Baño termostatzado.

La mayor parte de los respirómetros están constituidos por un biorreactor en el cual se mantiene la biomasa en suspensión, monitorizándose la concentración al oxígeno disuelto mediante un electrodo de oxígeno que tiene una membrana permeable de oxígeno. La medida puede ser efectuada de diversos modos y con diferentes configuraciones del reactor. En la Figura 1.15 se muestra un sistema respirométrico clásico.

Spanjers *et al*, (1998) propusieron la clasificación de los respirómetros en base a:

- ❑ la fase en la cual es realizada la medición de la concentración de oxígeno (líquida o gaseosa)
- ❑ la dinámica de flujo del reactor, es decir, si tiene lugar una transferencia de masa entre la fase líquida y gaseosa (sistemas cerrados o abiertos)
- ❑ Continuos o discontinuos

Respecto al primer criterio, los respirómetros que se emplean para monitorizar la actividad de la biomasa utilizan la sonda de oxígeno para medir el oxígeno en la fase líquida, ya que la biomasa consume directamente el oxígeno disuelto. La medición del oxígeno en la fase gaseosa es normalmente aplicada para la determinación de la DBO₅, ya que al ser la relación biomasa/sustrato generalmente baja y la degradación bacteriana ocurre lentamente no siendo limitante la dinámica de transferencia de una fase a otra. La tasa de respiración se calcula en base a los datos de oxígeno obtenidos de la sonda. EL balance general, viene dado por la ecuación 1.2.

$$\frac{d(V_L * DO)}{dt} = Q_{in} * DO_{in} - Q_{out} * DO - r_o * V_L + V_L * k_L a * (DO_{sat} - DO) \quad (\text{Ecuación 1.2})$$

En donde:

DO, DO_{sat} y DO_{in}: corresponde respectivamente a la concentración de oxígeno disuelto en el reactor, la concentración de saturación y a la concentración de entrada en el flujo líquido.

V_L: volumen del líquido en el biorreactor

Q_{in} y Q_{out}: representan el caudal de entrada y salida del biorreactor respectivamente

K_La: es el coeficiente de transferencia de oxígeno entre la fase líquida y gaseosa.

r_o: es la tasa de consumo de oxígeno

Dependiendo de la configuración del sistema, abierto o cerrado, algún término de la ecuación 1.2 puede ser simplificado.

Respirómetros cerrados

Conceptualmente estos son los sistemas más simples, en los cuales no existe transferencia de flujo entre fases. Este tipo de respirómetros son llamados "respirómetro cerrado", en el cual el balance de masa se reduce a la siguiente expresión 1.3:

$$\frac{dDO}{dt} = -r_0 \quad (\text{Ecuación 1.3})$$

En este caso, la respiración es directamente proporcional a la pendiente de la curva describiéndose el consumo de oxígeno en el tiempo. Ejemplos particulares de un respirómetro cerrado son los denominados NITROX (NITRification tOXicity tester) y BOM (Biological Oxygen Monitor) (Figura 1.15). En este sistema es posible determinar la respiración de la población autótrofa y heterótrofa y evaluar el efecto inhibitorio de diversas sustancias sobre la biomasa.

Otra alternativa es utilizar un respirómetro cerrado respecto a la fase gaseosa y abierto respecto a la fase líquida, en la cual una corriente líquida circula en continuo a través del reactor. En este caso el balance de oxígeno está representado en la ecuación 1.4, resultando necesario medir la concentración de oxígeno disuelto en el flujo de entrada y en el reactor.

$$\frac{dDO}{dt} = \frac{Q}{V_L} * (DO_{in} - DO) - r_0 \quad (\text{Ecuación 1.4})$$

El uso de respirómetros discontinuos cerrados implica la preparación de la muestra para un ensayo y que las medidas no se pueden realizar directamente del reactor, siendo sin embargo, muy utilizados por la simplicidad de construcción y principio de medida (Chudoba *et al.* 1985; Krois *et al.* 1992; Drtil *et al.* 1993; Surmacz-Groska *et al.* 1996).

Respirómetros abiertos

En estos sistemas el flujo de aireación es continuo. En este caso la variación de masa del oxígeno depende del término que representa la transferencia de oxígeno en las dos fases y el consumo interno, reduciéndose la ecuación 1.2 a la ecuación 1.5.

$$\frac{dDO}{dt} = -r_0 + k_L a (DO_{sat} - DO) \quad (\text{Ecuación 1.5})$$

Algunas aplicaciones de respirómetros abiertos han sido descritas por diversos autores como Block (1976), Takamatsu *et al.* (1982), Ros *et al.* (1988), Farkas (1981), Vanrolleghem y Verstraete (1993). En estos experimentos es posible determinar la DBO en el agua de descarga, evaluar el efecto tóxico de diversos compuestos y determinar la actividad del fango.

En la Tabla 1.6, se presenta un resumen de las ventajas y desventajas que presentan los sistemas respirométricos de acuerdo a la clasificación de éstas según al régimen de flujo en la fase líquida y gaseosa.

Tabla 1.6: Comparación de ventajas y desventajas de los sistemas respirométricos

Tipo de respirómetro	Ventajas	Desventajas
Fase gas y líquida estáticas	Fácil operación	Peligro de limitación de O ₂ Frecuencia de medidas de r ₀ bajas
Flujo en fase gas y estática fase líquida	Frecuencia de medida de r ₀ alta	Necesidad de estimación de k _L a
Flujo en fase líquida y estática fase gas	No necesidad de estimación de k _L a	Frecuencia de medidas de r ₀ bajas

1.2.4.- Métodos de titulación

Los sistemas de titulación permiten determinar la actividad de una población bacteriana a partir del volumen adicionado de una solución titulante, para mantener constante la concentración de una especie química, directa o indirectamente producida o consumida de la reacción de interés. La actividad biológica será por tanto proporcional a la velocidad de flujo de la solución titulante y será calculada mediante la relación de los coeficientes estequiométricos.

Pertenecen a esta categoría de instrumentos, los sistemas en los cuales la medida de actividad es determinada mediante la adición de la solución titulante correspondiente para mantener el pH constante (pH-stat) o bien mantener constante la concentración de oxígeno disuelto en el licor de mezcla (DO-stat). Respecto a los sistemas pH-stat, el transductor está constituido por una sonda de pH y su correspondiente pHmetro, mientras el sistema biológico está

constituido por aquellos microorganismos que de acuerdo a la reacción que tenga lugar son capaces de transformar un sustrato generando H^+ o OH^- , siendo empleados como agentes titulantes disoluciones ácidas o alcalinas. Los sistemas DO-stat utilizan una sonda de oxígeno para evaluar la variación de la concentración de oxígeno debida a la actividad de los microorganismos aerobios, empleándose una disolución diluida de H_2O_2 como agente titulante para mantener dicho parámetro constante.

Sistemas pH-stat

El principio de operación de estos sistemas de titulación consiste en la adición controlada de una disolución diluida ácida o alcalina, con el objeto de mantener un valor constante de pH en el sistema (Figura 1.16). Bajo estas condiciones, la velocidad de titulación es proporcional a la velocidad de reacción (Massone *et al.* 1995a, Ficara *et al.* 2001), por tanto, esta técnica puede ser aplicable a reacciones biológicas y físico-químicas en las que se produce consumo y/o producción de protones o iones hidroxilo.

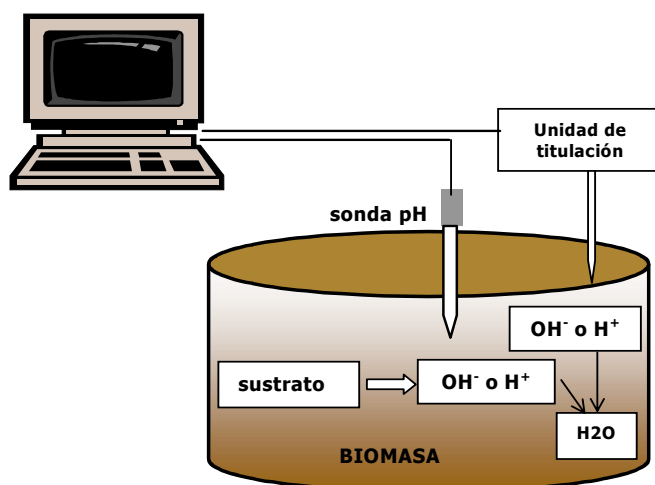


Figura 1.16: Esquema general de un sistema pH-stat.

Existen diferentes biorreacciones de interés ambiental en las que tienen lugar la liberación o consumo de H^+ (Tabla 1.7). La determinación de la actividad nitrificante, es una de las principales aplicaciones de estos sistemas, ya que aunque el concepto de pH-stat fue primeramente desarrollado por Ramadori *et al.* (1980) con el objeto de evaluar la actividad de los microorganismos responsables de la primera etapa de la nitrificación, el procedimiento fue posteriormente mejorado para poder medir la concentración de amonio en cualquier instante de la nitrificación (Beccari *et al.* 1980; Massone *et al.* 1995b, 1996; Gernaey *et al.* 1997, 1998) y posteriormente patentado por Rozzi *et al.* (1999) como A.NIT.A (Ammonium NITrification Analyser). Aunque en estos sistemas solo es posible cuantificar la actividad amonio oxidante, ésta puede ser considerada como la actividad nitrificante en los casos en que la etapa de oxidación de amonio a nitrito sea la limitante, (Alleman, 1985; Nowak *et al.* 1995). En muchos casos, además los efectos inhibitorios de diferentes sustancias son mayores sobre las bacterias amonio oxidantes (Gernaey *et al.* 1999; Ficara *et al.* 2000a).

Tabla 1.7: Resumen de las aplicaciones de los sistemas de titulación pHstat

Reacción	Sustrato	Producto	Solución titulante	Referencias
Nitrificación	NH_4^+	H^+	NaOH	Beccari <i>et al.</i> (1980) Massone <i>et al.</i> (1995b) Massone <i>et al.</i> (1996) Gernaey <i>et al.</i> (1997) Gernaey <i>et al.</i> (1998) Rozzi <i>et al.</i> (1999)
Desnitrificación	NO_3^- ; DQOrb	OH^-	HCl	Massone <i>et al.</i> (1996) Rozzi <i>et al.</i> (1997a) Bogaert <i>et al.</i> (1997) Rozzi <i>et al.</i> (2000) Foxon <i>et al.</i> (2002)

Una ventaja frente a los métodos respirométricos, es que las mediciones de pH también se pueden realizar bajo condiciones anóxicas lo que permite también la monitorización de procesos de desnitrificación. En dichos ensayos se pone en contacto materia orgánica rápidamente biodegradable (DQOrb) y nitrato en condiciones anóxicas siguiendo la evolución de la reacción mediante el consumo de agentes titulantes ácidos. En estos sistemas se suele usar un electrodo redox para verificar el final de la reacción mediante los cambios de potencial que se suelen producir (Massone *et al.* 1996; Rozzi *et al.* 1997a, Bogaert *et al.* 1997; Rozzi *et al.* 2000; Foxon *et al.* 2002). Un ejemplo de sistemas de titulación para la monitorización de plantas de tratamiento de lodos activos es el DECADOS (DEnitrification CARbon source DOSage System), que consiste en un sistema

provisto de una sonda de pH y otra de potencial de oxidación reducción (POR) (Bogaert *et al.* 1997). El sistema DECADOS ha sido utilizado en el control de la adición de una fuente de carbono externa fácilmente biodegradable, en una balsa de desnitrificación que trataba un efluente con una baja relación C/N (Yuan *et al.* 1997).

La producción y/o consumo de H^+ y/o OH^- debido a reacciones biológicas no es el único causante del cambio del pH del sistema. La modificación del equilibrio $CO_2/HCO_3^-/CO_3^{2-}$, por ejemplo, también trae como consecuencia variaciones del pH que han de tenerse en cuenta a la hora de realizar ensayos. Autores como Rozzi *et al.* (2001, 2002) utilizaron este tipo de bioensayos en condiciones anóxicas para determinar la actividad acetoclástica metanogénica mediante el bicarbonato producido. Remigi *et al.* (2002) evaluaron la velocidad máxima de crecimiento de biomasa acetoclástica, y además adaptaron el sistema pHstat para poder determinar parámetros cinéticos como velocidad máxima de consumo de sustrato (V_{max}) y constante de saturación media (Ks) para microorganismos Anammox.

Los sistemas de titulación se han utilizado por diferentes autores para medir los efectos inhibitorios sobre las bacterias nitrificantes, lo que puede ser de gran utilidad para evaluar el efecto del potencial de toxicidad del influente en las plantas de tratamiento. Gernaey *et al.* (1999), Ficara y Rozzi, (2001a,b) cuantificaron el efecto de bajas concentraciones de compuestos tóxicos sobre la capacidad amonio oxidante en muestras de lodos activos. En procesos anaerobios, Rozzi *et al.* (1997b) han empleado estos sistemas para evaluar el efecto de diferentes concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) en la digestión anaerobia.

Ficara *et al.* (2003) desarrollaron una metodología con objeto de identificar posibles interferencias o problemas de estos sistemas, en la cual compararon las velocidades de titulación experimental y teórica para validar el modelo matemático presentado que da respuesta a las reacciones de consumo o producción de protones, CO_2 , bicarbonato y carbonato que puedan influir en la eficacia de estos sistemas definida como la relación entre la velocidad de titulación y la velocidad de reacción.

Las principales interferencias que afectan a los sistemas de titulación son producidas por las sustancias que afectan al pH del licor de mezcla, por ejemplo:

- ❑ Sustancias que afectan el K_La (en sistemas abiertos)
- ❑ Compuestos tóxicos que afectan la velocidad de producción específica de CO_2 del lodo
- ❑ Compuestos tóxicos que pueden activar la respiración exógena, así como sustancias orgánicas fácilmente biodegradables.

- ❑ Disoluciones altamente alcalinas o disoluciones tamponadas
- ❑ Cambios de temperaturas que afectan al K_La , la concentración de CO_2 de saturación y la velocidad de producción específica de CO_2 del lodo en condiciones endógenas.

Cuando se desea evaluar mediante estos sistemas de titulación el efecto de una sustancia sobre una actividad, es conveniente realizar ensayos previos en blanco para verificar cualquier interferencia debido a la variación del pH producto de alguna reacción química y no biológica.

En sistemas abiertos, cuando tiene lugar la transferencia de masa gas/líquido, la velocidad de titulación es proporcional a la velocidad de reacción sólo si la titulación ocurre después que el CO_2 ha alcanzado su equilibrio en la fase gas. La adición de solución titulante para equilibrar el CO_2 (stripping o redisolución) ha de ser tenida en cuenta.

Sistemas DO-stat

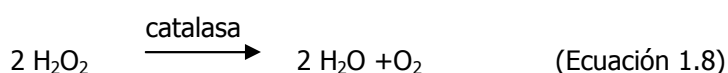
Los sistemas en los que se monitoriza la concentración de oxígeno en el licor de mezcla son conocidos como DO-stat y se desarrollaron para aumentar las aplicaciones de la unidad pH-stat mediante la incorporación de una sonda de oxígeno.

Una combinación de ambas unidades, pH-stat y DO-stat, es utilizado para determinar la actividad biológica de sistemas en los cuales hay variación del pH o de la concentración de oxígeno disuelto, lo cual puede facilitar información complementaria, como por ejemplo en sistemas en los que existan reacciones en serie o paralelo, aparte de las monitorizadas con el pH-stat, que no produzcan o consuman protones y sí oxígeno. Una de las principales aplicaciones es la determinación de las actividades amonio y nitrito oxidantes mediante una doble titulación, empleando como disoluciones titulantes NaOH para el ajuste de pH y H_2O_2 para mantener la concentración de oxígeno disuelto en la fase líquida constante.

En los sistemas pH-stat sólo es posible determinar la actividad amonio oxidante (AO), ya que la oxidación de amonio a nitrito produce protones, en cambio, en los sistemas DO-stat es posible determinar la actividad amonio oxidante (AO) y la actividad nitrito oxidante (NO) ya que la cantidad estequiométrica de oxígeno consumido es diferente en las dos etapas de la nitrificación (ecuaciones 1.6, 1.7).



En los sistemas DO-stat la actividad es cuantificada mediante el volumen de una disolución diluida de peróxido de hidrógeno adicionada para alcanzar un valor constante pre-establecido de oxígeno disuelto en la fase líquida. El H_2O_2 es utilizado como fuente de O_2 , ya que según la ecuación 1.8, el H_2O_2 se disocia fácilmente produciendo agua y oxígeno mediante la acción de la catalasa, enzima celular producida durante el metabolismo oxidativo de sistemas aerobios como respuesta al stress oxidativo (Hosetti y Frost, 1994; Schellhorn, 1994).



Houtmeyer *et al.* (1977) compararon dos unidades de lodos activos, una oxigenada con aire y la otra unidad controlada con adiciones de H_2O_2 . Se observó que después de algunos días de operación empleando H_2O_2 como fuente de oxígeno la capacidad de eliminación de materia orgánica no se vio afectada, pero se apreció un incremento de la actividad de la catalasa en el fango, teniendo por tanto un efecto perjudicial sobre la capacidad nitrificante. Se observó un efecto positivo sobre la sedimentabilidad del fango, ya que se obtuvo una mejora del índice volumétrico de lodo. En recientes estudios se investigó la inhibición del H_2O_2 sobre las bacterias nitrificantes. Ficara *et al.* (2000b) observaron que al adicionar 150 mg $\text{H}_2\text{O}_2\text{-O}_2/\text{L}$ se obtuvo una completa oxidación de 33 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$ a una velocidad de 0,65 mg $\text{O}_2/(\text{L}\cdot\text{min})$ causando menos de un 10% de inhibición para las amonio y nitrito oxidantes. Diversos ensayos de inhibición, realizados para verificar si la adición de H_2O_2 no interfiere sobre la actividad NO y AO, mostraron que el efecto del H_2O_2 es despreciable para una concentración de biomasa mayor de 1,5 g SSV/L (Chin y Hicks, 1970, Tusseau-Vuillemin *et al.* 2002).

Tusseau-Vuillemin *et al.* (2002) emplearon el peróxido de hidrógeno como una técnica alternativa de re-oxigenación en experimentos respirométricos, eliminándose perturbaciones en la señal debido a la adhesión a los electrodos de oxígeno de finas burbujas producto de la aireación. Ficara *et al.* (2000b) y Young y Kuss (2000), de manera independiente utilizaron estas propiedades para desarrollar un biosensor DO-stat basado en la adición de H_2O_2 como fuente de oxígeno.

La Figura 1.17, muestra una curva típica de titulación obtenida en un sistema pH-DO-stat, empleando dos disoluciones titulantes de NaOH y H_2O_2 con objeto de mantener constante el pH y la concentración de oxígeno disuelto, respectivamente. En la curva donde se emplea H_2O_2 como solución titulante, se observa que durante el primer periodo, antes de la adición de algún sustrato, el consumo de H_2O_2 se debe al consumo endógeno de la biomasa. Después de la adición de sustrato, en este caso nitrito, el volumen de disolución titulante (H_2O_2)

adicionado es proporcional a la actividad nitrito oxidante. Transcurrido un determinado tiempo se adicionó amonio como sustrato, obteniéndose la actividad amonio oxidante a partir de la pendiente del volumen de peróxido consumido en el tiempo y la relación estequiométrica correspondiente. Una vez consumido todo el amonio la pendiente indica la actividad nitrito oxidante más la actividad endógena.

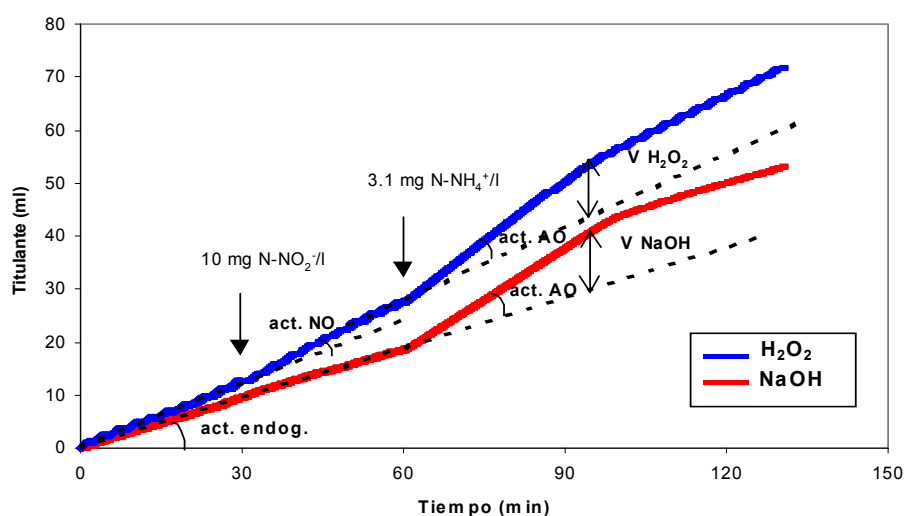


Figura 1.17: Perfiles de titulación para la determinación de la actividad amonio oxidante (AO) y nitrito oxidante (NO), empleando NaOH y H_2O_2 como disoluciones titulantes.

En la curva donde se emplea NaOH como titulante, antes de adicionar sustrato el consumo de NaOH se debe al metabolismo endógeno. Al adicionar nitrito como sustrato no se observó un cambio de pendiente, lo que se debe a que en esta reacción no tiene lugar la producción de protones, observándose sin embargo un cambio de pendiente al adicionar amonio como sustrato, lo que indica que solo es posible cuantificar la actividad amonio oxidante debido a la disminución del pH producto de la reacción en curso.

Otras aplicaciones donde se ha utilizado este tipo de sistemas han sido en determinar la cinética de degradación de sustratos orgánicos simples como glucosa y etanol, ya que el consumo de oxígeno y la producción de CO_2 es detectado por el sistema de titulación de H_2O_2 y NaOH (Ficara y Rozzi, 2002).

1.3.- REFERENCIAS

Abdel-Shafy H. (1995) Fate of heavy metals in the leather tanning industrial wastewater using an anaerobic process. *Environmental management and health, an international journal*. **6**(2), 28-33.

Alleman J.E. (1985) Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Water Sci. Technol.* **17**(2-3), 409-419.

Ates E., Orhon D. and Tünay O. (1997). Characterization of tannery wastewaters for pretreatment-selected case studies. *Water Science Technology*, **36**(2-3), 217-223.

Aulenta F., Bassani C., Ligthart J., Majone M. and Tilche A. (2002) Calorimetry: a tool for assessing microbial activity under aerobic and anoxic conditions. *Water Research*, **36**, 1297-1305.

Banas J., Plaza E., Styka W. and Trela J. (1999) SBR Technology used for advanced combined municipal and tannery wastewater treatment with high receiving water standards. *Water Science Technology*, **40**(4-5), 451-458.

Beaubien A. and Jolicoeur C. (1984) The toxicity of various heavy metals salts, alcohols and surfactants to microorganisms in a biodegradation process: a flow microcalorimetry investigation. *Toxic Screening Procedures Using Bacterial Systems*. New York, p.26.

Beaubien A. and Jolicoeur C. (1985) Applications for flow microcalorimetry to process control in biological treatment of industrial wastewater. *Journal of Waster Pollution Control Federation*, **5**(1), 95-100.

Beccari M., Passino R., Ramadori R. and Tandoi V. (1980) Inhibition effects on nitrification by typical compounds in coke plant wastewaters. *Environmental Technology. Letter*, **1**, 245-252.

Block J. (1976) Measurements of the viable biomass concentration in activated sludge by respirometric techniques. *Water Research*, **10**, 919-925.

Bogaert H., Vanerhasselt A., Gernaey K., Yuan Z., Thoeve C. and Verstraete W. (1997) A new sensor based on pH-effect of the denitrification process. *Journal Environmental Engineering*, **132**, 884-891.

BREF Commission of European communities. (2003) Document on best available techniques for the tanning of hides and skin integrated pollution prevention and control (water, air and solid wastes) from tanneries (<http://eippcb.jrc.es>).

Buys B.R., Mosquera-Corral A., Sánchez M. and Méndez R. (2000) Development and application of a denitrification test based on gas production. *Water Science Technology*, **41**(12), 113-120.

Carucci A., Chiavola A., Majone M. and Rolle E. (1999) Treatment of tannery wastewater in sequencing batch reactor. *Water Science Technology*, **40**, 253-259.

Chang I.S., Kim J.S. and Lee C.H. (2001) The effects of EPS on membrane fouling in a MBR process. *Proceedings of the 3rd International Meeting on Membrane Bioreactors*, 19-28, Cranfield University.

Chin C. and Hicks M. (1970) hydrogen peroxide studies of oxygen demand. *JWPCF*, **42**,1327.

Chudoba J., Cech J. and Chudoba P. (1985) The effect of aeration tank configuration on nitrification kinetics. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **57**, 1078-1083.

Chung Y.C., Son D.H. and Ahn D.H. (2000) Nitrogen and organics removal from industrial wastewater using natural zeolite media. *Water Science Technology*, **42**(5-6), 127-134.

Cicek N., Franco J.P., Suidan M.T., Urbain V. and Manem J. (1999) Characterization and comparison of a membrane bioreactor and a conventional activated sludge system in the treatment of wastewater containing high molecular weight compounds. *Water Environmental. Research*, **71**, 64-70.

CONAMA (1999) Guía para el Control y Prevención de la Contaminación Industrial: Curtiembre. Comisión Nacional del Medio Ambiente. Santiago de Chile.

Copp J.B. and Murphy K.L. (1995) Estimation of the active nitrifying biomass in activated sludge. *Water Research*, **29**, 1855-1862.

COTANCE (2002) The European tanning industry sustainability review.

Côté P. and Thompson D. (2000) Wastewater treatment using membranes: North American experience. *Water Science Technology*, **41** (10-11), 209-215.

Critter S. and Airoidi C. (2001) Application of Calorimetry to Microbial Biodegradation Studies of Agrochemicals in Oxisols. *Journal of Environmental Quality*, **30**, 954-959.

Chuichulcherm S., Nagpal S., Peeva L. and Livingston A. (2001) treatment of metal-containing wastewaters with a novel extractive membrane reactor using sulphate-reducing bacteria. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **76**, 61-68.

Dairy Processing Handbook (1995) Principles of membrane separation. Published by Tetra Pak Processing Systems AB, S-221 86 Lund, Sweden. pg. 125 (www.egr.msu.edu).

Drtil M., Németh P. and Bodik I. (1993) Kinetic constant of nitrification. *Water Research*, **27**, 35-39.

Eye J.D. and Clement D.P. (1972) Oxidation of sulphides in Tannery wastewater. *JALCA*, **67**, 256-267.

Fan X. J., Urbain V., Qian Y. and Manem (1996) Nitrification and mass balance with a membrane bioreactor for municipal wastewater. *Water Science Technology*, **34**(1-2), 129-136.

Fane A.G., Fell C.J.D. and Nor M.T. (1981) Ultrafiltration/Activated sludge system - development of a predictive model. *Polymer Science and Tech.* **13**, 631-658.

Farkas P.A. (1981) The use of respirography in biological treatment plant control. *Water Science Technology*, **13**, 125-131.

Ficara E., Musumeci A and Rozzi A. (2000a) Comparison and combination of titrimetric and respirometric techniques to estimate nitrification kinetics parameters. *Water S.A.* **26**(2), 217-224.

Ficara E., Rocco A. and Rozzi A. (2000b) Determination of nitrification kinetics by the ANITA-Dostat biosensor. *Water Science Technology*, **41**(12), 121-128.

Ficara E. and Rozzi A. (2001a) A standardized pH-stat titration procedure to assess nitrification inhibition. *J. Env. Eng.* **127**(8), 698-704.

Ficara E. and Rozzi A. (2001b) pH-stat titration to assess nitrification inhibition. *J. Environ. Eng.*, **12** (8), 698-704.

Ficara E. and Rozzi A. (2002) Coupling pHstat and Dostat titration to monitor degradation of organic substrates. 5th IWA chemical industry group conference, Nîmes, November 13-15, pp 117-124.

Ficara E., Rozzi A. and Cortelezzi P. (2003) Theory of pH-stat titration. *Biotechnology*. **28**(1), 28-37.

Fortier J.L., Reboul B., Philip P., Simard M.A., Picker P. and Jolicoeur (1980) Calorimetric studies of biodegradation processes in biological wastewater treatment. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **52**(1), 89-97.

Foxon K.M., Brouckaert C.J. Buckley C.A. and Rozzi A. (2002) Denitrifying activity measurements using an anoxic titration (pHstat) bioassay. *Water Science Technology*, **46**(9), 211-218.

Gander M.A., Jefferson B. and Judd S.J. (2000) Membrane bioreactor use in small wastewater treatment plants. Membrane materials and effluent quality. *Water Science Technology*, **41**(1), 205-211.

Garrote J.I., Bao M., Castro P. and Bao M.J. (1995) Treatment of tannery effluents by a two step coagulation/flocculation process. *Water Research*, **29**(11), 2605-2608.

Genschow E., Hegemann W. and Maschke C. (1996) Biological sulphate removal from tannery wastewater in a two-stage anaerobic treatment. *Water Research*, **30**(9), 2072-2078.

Genschow E., Hegemann W. and Maschke C. (1997) Anerobic treatment of tannery wastewater: toxic effects of wastewater constituents and dosage of ferric chloride. *Environmental Management and Health*, **8**(1), 28-38.

Gernaey K., Bogaert H., Massone A., Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1997) On-line nitrification monitoring in activated sludge with a titrimetric sensor. *Environmental Science Technology*, **31**, 2350-2355.

Gernaey K., Bogaert H., Vanrolleghem P., Massone A., Rozzi A. and Verstraete W. (1998) A titration technique on-line nitrification monitoring in activated sludge. *Water Science Technology*, **37**, 103-110.

Gernaey K., Maffei D., Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1999) A new pH-based procedure to model toxic effects on nitrifies in activated sludge. *J. Chemical Technol. And Biotech.*, **74**, 679-687.

Goltara A., Martínez J. and Méndez R. (2003) Carbon and nitrogen removal from tannery wastewater with a membrane bioreactor. *Water Science Technology*, **48**(1), 207-214.

Harremoës P. and Sinkjaer O. (1995) Kinetic interpretation of nitrogen removal in pilot scale experiments. *Water Research*. **29**, 899-905.

Hosetti B.B. and Frost S. (1994) Catalase activity in wastewater. *Water Research*, **28**(2), 497-500.

Houtmeyer J., Poffé R. and Verachter H. (1997) Hydrogen peroxide as a supplemental oxygen source for activated sludge: microbiological investigations. *European J. Appl. Microbiol.*, **4**, 295 - 305.

Iaconi C., Pinto A.C., Ricco G. and Tomei M.C. (2002) Treatment options for tannery wastewater II: integrated chemical and biological oxidation. *Ann. Chim.* **92**(5-6), 531-539.

Integrated Pollution Prevention and Control (IPPC) (2001) Reference Document on Best Available Techniques for the Tanning of Hides and Skins. Institute for Prospective Technological Studies. Technologies for Sustainable Development. European IPPC Bureau.

International Union of Leather Technologists and Chemists Societies (IULTCS) (2001) Medio Ambiente y terminación del cuero. Túnez. <http://www.cueronet.com>.

Isaacs S. and Temmink H. (1996) Experiences with automatic N and P measurements of an activated sludge process in a research environment. *Water Science Technology*, **33**(1), 165-173.

Jolicoeur C., Cong To T., Beaubien A. (1988) Flow microcalorimetry in monitoring biological activity of aerobic and anaerobic wastewater treatment processes. *Analytica Chimica Acta*, **213**, 165-176.

Jochimsen J.C., Schenk H., Jeckel M.R and Hegemann W. (1997) Combined oxidative and biological treatment for separated streams of tannery wastewater. *Water Science Technology*, **36**, 209-216.

Jochimsen J.C. and Jekel M.R. (1997) Partial oxidation effects during the combined oxidative and biological treatment of separated streams of tannery wastewater. *Water Science Technology*, **35**, 337-345.

Jolicoeur C. Cong T. and Beaubien A. (1988) Flow microcalorimetry in monitoring biological activity of aerobic and anaerobic wastewater treatment processes. *Analytica Chemica Acta*, **213**, 165-176.

Kabacinski M., Hulman B., Plaza E. and Trela J. (1998) Strategies for improvement of sludge quality and process performance of sequencing batch reactor plant treating municipal and tannery wastewater. *Water Science Technology*, **38**, 69-77.

Kong Z., Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1994) Automated respiration inhibition kinetics analysis (ARIKA) with a respirographic biosensor. *Water Science Technology*, **30**(4), 275-284.

Konrad C., Lorber K.E., Méndez R., López J., Muñoz M., Hidalgo D., Bornhardt C., Torres M. and Rivela B. (2002) System analysis of material fluxes at tanneries - an international comparison. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, **86**, 18-25.

Krauth K.h. (1996) Sustainable sewage treatment plants-Application of nanofiltration and ultrafiltration to a pressurized bioreactor. *Water Science Technology*, **34**(3-4), 389-394.

Kristensen G.H., Jorgensen P.E. and Henze M. (1992) Characterization of functional microorganism groups and substrates in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR. *Water Science Technology*, **25**(6), 43-57.

Kroiss H. Schweighofer P., Frey W. And Matsche N. (1992) Nitrification inhibition- a source identification method for combined municipal and/or industrial wastewater treatment plants. *Water Science Technology*, **26**(5-6), 1135-1146.

Kimura K., Watanabe Y. and Ohkuma N. (2000) Filtration resistance and efficient cleaning methods of the membrane with fixed nitrifiers. *Water Research*, **34**(11), 2895-2904.

Liao B.Q., Bagley D.M., Kraemer H.E., Leppard G.G. and Liss S.N. (2004) A review of biofouling and its control in membrane separation bioreactors. *Water Environment Research*, **76**(5), 425-436.

López-Fiuza J. and Méndez R. (2002) Toxic effects exerted on methanogenic, nitrifying and denitrifying bacteria by chemical used in a milk analysis laboratory. *Enzyme and Microbial Technology*, **31**, 976-985.

Massone A., Gernaey K., Rozzi A., Willelms P. and Verstraete W. (1995a) Biosensors for nitrogen control in wastewater. *Water Science Technology*, **34**(1-2), 213-220.

Massone A., Gernaey K., Rozzi A., Willelms P. and Verstraete W. (1995b) Ammonium concentration measurements with a titrimetric biosensor. Proceedings 9th Forum of Applied Biotechnology, September 27-29, Gent (Belgium), **60**, 2361-2368.

Massone A., Gernaey K., Bogaert H., Vanderhasselt A., Rozzi A. and Verstraete W. (1996) Biosensors for nitrogen control in wastewaters. *Water Science Technology*, **34**(1-2), 213-220.

Menert A., Liiders M., Kurissoo T. and Vilu R. (2001) Microcalorimetric monitoring of anaerobic digestion. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **64**, 281-291.

Müller E.B., Stouthammer A.H., Versaveld H.W. and Eikelboom D.H. (1995) Aerobic domestic wastewater treatment in a pilot plant with complete retention by cross-flow filtration. *Water Research*, **29**, 1179-1189.

Nowak O., Svoldal K. and Schweighofer P. (1995) The dynamic behaviour of nitrifying activated sludge systems influenced by inhibiting wastewater compounds. *Water Science Technology*, **31**(2), 115-124.

Orhon D., Sözen E., Ubay Orgör E. and Ates E. (1998) The effect of chemical settling on the kinetics and design of activated sludge for tannery wastewaters. *Water Science Technology*, **38**(4-5), 355-362.

Oyanedel V. (2002) Desarrollo de reactores híbridos biológicos de alta capacidad para el tratamiento de aguas residuales. Tesis Doctoral. Departamento Ingeniería Química. Universidad de Santiago de Compostela.

Pankhania M., Stephenson T. and Semmens M.J. (1994) hollow fibre bioreactor for wastewater treatment using bubble less membrane aeration. *Water Research*, **28**(10), 2233-2236.

Parameshwaran K., Visvanathan C. and Aim R.B. (1999) Membrane as solid/liquid separator and air diffuser in bioreactor. *Journal of environmental engineering*, 825-833.

PROMPEX-Comisión para la promoción de exportaciones. (2003) Bolentín de exportaciones del sector calzado. <http://www.prompex.gob.pe>.

Raghava J., Thanikaivelan P., Janardhanan K. and Unni B. (2002) Green route for the utilization of chrome shavings (Chromium-Containing Solid Waste) in tanning industry. *Environmental Science and Technology*, **36**, 1372-1376.

Ramadori R., Rozzi A. and Tandoi W. (1980) An automated system for monitoring the kinetics of biological oxidation of ammonia. *Water Reserach*, **14**, 1555-1557.

Ramos M. (1996) Determinación de biotoxocidad en aguas residuales. Tesis Doctoral. Departamento Ingeniería Química. Universidad de Santiago de Compostela.

Reemtsma T. and Jekel M. (1997) Dissolved organics in tannery wastewaters and their alteration by a combined anaerobic and aerobic treatment. *Water Research*, **31**(5), 1035-1046.

Remigi E., Rozzi A. and Fux Christian (2002) Assessment of microbial kinetics (acetoclastic methanogenesis and anammox) by a titration bioassay. VII Latin American Workshop and Symposium on Anaerobic Digestion. IWA. Mérida, Yucatán, 143-150.

Reyes Cristina (1999) Tratamiento al interior del linde industrial: ultrafiltración agua de pelambre. <http://www.oikos.org.ec>.

Ros M. Dular M. and Farkas P.A. (1988) An improved method using respirography for the desing of activated sludge aeration systems. *Water Research*, **22**, 1483-1489.

Rozzi A., Massone A. and Alessandrini A. (1997a) measurement of rbCOD as biological nitrate demand using a biosensor: preliminary results 3rd International Symposium Environmental Biotechnology. Oostende, Belgium, April 21-23.

Rozzi A., Massone A and Antonelli M. (1997b) A VFA measuring based on nitrate reduction. *Water Science Technology*, **36**(6-7), 183-189.

Rozzi A., Massone A. and Verstraete W. (1999) European patent "Method to monitor in liquids the concentration of substances which are degraded by acidifying or alkalising microorganisms and related instrumentation". N.07057017 (granted 20.10.99).

Rozzi A., Ficara E., Massone A. and Verstraete W. (2000) titration biosensors for wastewater treatment process control. *Water* **21**, **4**, 50-55.

Rozzi A., Remigi E., Buckley C. (2001) Methanogenic activity measurements by the MAIA biosensor: instructions guide. *Water Science Technology*, **44**(4) 287-294.

Rozzi A., Castellazzi L. and Speece R. (2002) Acetoclastic methanogenic activity measurement by a titration bioassay. *Biotech. and Bioeng.* **77**(1) 20-26.

Sato T. and Ishii Y. (1991) Effects of activated sludge properties on water flux of ultrafiltration membrane used for human excrement treatment. *Water Science Technology*, **23**, 1601-1608.

Schellhorn H.E. (1994) Regulation of hydroperoxidase (catalase) expression in Escherichia Coli. FEMS. *Microbial Letter*, **131**, 113-119.

Schenk H., Wiemann M. and Hegemann W. (1999) Improvement of anaerobic treatment of tannery beamhouse wastewater by an integrated sulphide elimination process. *Water Science Technology*, **40**, 245-252.

Sierra-Álvarez R., Field J.A., Kortekaas S. and Lettinga G. (1994) Overview of the anaerobic toxicity caused by organic forest industry wastewater pollutants. *Water Science Technology*, **29**, 353-363.

Song Z., Williams C.J. and Edyvean R.G.J. (2000) Sedimentation of tannery wastewater. *Water Research*, **34**, 2171-2176.

Spanjers H., Olsson G. and Klapwijk A. (1994) Determining short-term biochemical oxygen demand and respiration rate in an aeration tank by using respirometry and estimation. *Water Research*, **28**, 1571-1583.

Spanjers H., Vanrolleghen P.A., Olsson G. and Dold P.L. (1998) Respirometry in control of the activated sludge process: Principles. Scientific and Technical Report Series, IAWQ.

Surmacz-Gorska J., Garnaey K., Demuynck C., Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1996) Nitrification monitoring in activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) measurements. *Water Research*, **30**, 1228-1236.

Sutton P.M., Mishra P.N. and Crawford P.M. (1994) Combining biological and physical processes for complete treatment of oily wastewater. *Int. Biodeter. Biodeg.*, **33**, 3-21.

Szpyrkowicz L., Rigoni-Stern S. and Zilio-Grandi F. (1991). Nitrification and denitrification of tannery wastewaters. *Water Research*, **11**(25), 1351-1356.

Talinli I. (1994) Pretreatment of tannery wastewaters. *Water Science Technology*, **29**(9),175-178.

Tünay O., Orhon D. and Kabdasli I. (1994) Pretreatment requirements for leather tanning industry wastewater. *Water Science Technology*, **29**(9),121-128.

Tünay O., Kabdasli I., Orhon D. and Ates E. (1995) Characterization and pollution profile of leather tanning industry in Turkey. *Water Science Technology*, **32**(12), 1-9.

Tusseau-Vuillemin M.H., Lagarde F., Chauvière C. and Héduit A. (2002) Hydrogen peroxide (H₂O₂) as a source of dissolved oxygen in COD-degradation respirometric experiments. *Water Research*, **36**, 793-798.

Van Kleeff B.H.A., Kuenen J.G. and Heijnen J.J. (1993) Continuous measurement of microbial heat production in laboratory fermentors. *Biotechnol. Bioeng.*, **41**, 541-549.

Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1993) Simultaneous biokinetic characterization of heterotrophic and nitrifying populations of activated sludge with an on-line respirographic biosensor. *Water Science Technology*, **28**, 377-387.

Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1996) Full-scale on-line assessment of toxic wastewaters causing change in biodegradation model structure and parameters. *Water Science Technology*, **33**(2), 163-175.

Van Stockar U. and Marison W. (1989) The use of calorimetry in biotechnology. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, **40**, 93-136.

Vijayaraghavan K. and Murthy D.V.S. (1997) Effect of toxic substances in anaerobic treatment of tannery wastewaters. *Bioprocess Engineering*, **16**, 151-155.

Vila M. (2002) La evolución de la industria de curtidos, disminución de la contaminación, sistemas de depuración, ahorro y recirculación de agua y tecnologías emergentes. <http://www.euroleather.com>.

Wadsö I. (1995) Microcalorimetric techniques for characterization of living cellular systems. *Thermochimica Acta*. (269-270), 337-350.

Wiegant W.M., Kalker T.J.J., Sontakke V.N. and Zwaag R.R. (1999) Full scale experience with tannery water management: an integrated approach. *Water Science Technology*, **39**(5), 169-176.

Wiemann M., Schenk H. and Hegemann W. (1998) Anaerobic treatment of tannery wastewater with simultaneous sulphide elimination. *Water Research*, **32**, 774-780.

Yamamoto K. and Win K. (1991) Tannery wastewater treatment using a sequencing batch membrane reactor. *Water Science Technology*, **23**, 1639-1648.

Ylla A. y May J.M (2000) Eliminación de sulfuros en las aguas residuales de la industria de curtidos. *Tecnología del agua*. **204**, 74-82.

Yuan Z., Bogaert H., Vanrolleghem P., Thoeye C., Vansteenkiste G. and Verstraete W. (1997) Control of external Carbon Addition To Predenitrifying Systems. J. Environ. Eng. ,September, 1080-1086.

Young J.C and Kuss M.L. (2000) On-line respirometer using constant oxygen concentration in reaction vessel. US Patent 6.063.617 (application 1998).

2

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDADES AMONIO OXIDANTES MEDIANTE UN SISTEMA DE TITULACIÓN A pH CONSTANTE

Resumen. En este capítulo se estudia una nueva metodología para la determinación de la actividad microbiana de biomasas nitrificantes basada en un sistema titrimétrico de control de pH (pH-stat). Para determinar la actividad amonio oxidante se utilizaron muestras de lodo activo y lodo adherido a un soporte granular plástico de polietileno.

Con objeto de verificar la fiabilidad de los métodos empleados se realizaron ensayos de intercalibración del método mediante la determinación de los efectos tóxicos sobre biomasa nitrificante. En estos ensayos participaron 9 laboratorios. Se utilizaron tres disoluciones diferentes que contenían sustancias, en principio desconocidas por los participantes, que fueron posteriormente identificadas como aliltiourea (ATU), anilina y sulfato de plata. La estrategia de realización de los tests consistió en la adición sucesiva de concentraciones crecientes de la sustancia a evaluar, de forma que con una serie experimental se puede extraer datos de toxicidad en contraposición con la metodología descrita en la norma ISO 9509E del Standard Methods que implica la realización de diversos ensayos en los que se prueba por separado, el efecto de la dosis de tóxico a diferentes concentraciones del mismo. Se compararon los resultados obtenidos por los 9 laboratorios participantes, obteniéndose un IC_{50} de $0,41 \pm 0,27$ mg ATU/L, $4,97 \pm 1,76$ mg Anilina/L y $11,83 \pm 6,23$ mg Ag^+ /L.

Por otra parte, se determinó el efecto de dos compuestos utilizados en la industria de curtidos: NaCl y extracto de quebracho sobre la actividad amonio oxidante de biopelículas. Se obtuvieron valores de IC_{50} para NaCl y extracto de quebracho de 10,2 g NaCl/L y 8,5 g extracto de quebracho/L, respectivamente. Los resultados obtenidos mediante el equipo de titulación muestran que el método permite la rápida determinación de toxicidad y actividad con un número relativamente bajo de experimentos, con muy poca carga de trabajo analítico.

2.1.- INTRODUCCIÓN

Los sistemas de titulación a pH constante utilizados en la determinación de la actividad microbiana, se basan en la adición controlada de una disolución diluida ácida o alcalina, con el objeto de mantener constante el pH en el licor de mezcla. Esta técnica puede ser aplicable a reacciones biológicas y físico-químicas en las que se produzca consumo y/o producción de protones o iones hidroxilo, ya que la velocidad de titulación es proporcional a la velocidad de reacción (Massone *et al.* 1995a, Ficara, 2001). El concepto de pH-stat fue primeramente desarrollado por Ramadori *et al.* (1980) con objeto de evaluar la actividad de los microorganismos responsables de la primera etapa de la nitrificación y posteriormente fue mejorado para poder medir la concentración de amonio en algún instante de la nitrificación (Beccari *et al.* 1980; Massone *et al.* 1995b, 1996; Gernaey *et al.* 1997, 1998), siendo patentado uno de dichos dispositivos por Rozzi *et al.* (1999a) como ANITA (Ammonium NITrification Analyser).

Mediante estos sistemas de titulación se pueden realizar ensayos de actividad microbiana tanto en condiciones anaerobias, aerobias o anóxicas, utilizando ligeras modificaciones, como puede ser la utilización de diversos medios de gasificación, o la introducción, o no, de diferentes accesorios complementarios como sonda de oxígeno en los tests de actividad aerobia, o una sonda redox para ensayos en condiciones anaerobias o anóxicas (Gernaey *et al.* 2001).

La primera generación de estos sistemas de titulación se desarrolló para aplicaciones a escala de laboratorio relacionadas con la determinación de la actividad de la biomasa. Posteriormente en una segunda generación se enfocó a la monitorización *on line* del funcionamiento de las plantas de tratamiento de aguas residuales, mediante el control de la actividad de la biomasa y del efecto inhibitorio que sobre ésta pueden presentar algunas sustancias presentes en las aguas residuales a ser tratadas por sistemas biológicos (Rozzi *et al.* 2000).

Como ejemplo representativo de la utilización de estos sistemas se pueden citar los ensayos realizados en discontinuo a escala laboratorio empleando biomasa proveniente de diferentes plantas de tratamiento que se utilizaron para determinar la actividad amonio oxidante (Ficara, 2001). En estos ensayos el sistema se mantiene constantemente aireado, con una concentración elevada de oxígeno disuelto (O.D.) en el licor de mezcla, lo que permite realizar los ensayos sin limitaciones de oxígeno, al contrario de lo que sucede en los ensayos respirométricos tradicionales.

Diversos autores han estudiado el efecto de diversos compuestos tóxicos sobre la capacidad amonio oxidante en muestras de lodos activos mediante un sistema pH-stat (Gernaey *et al.* 1999; Ficara y Rozzi, 2001).

Ficara y Rozzi (2001) estudiaron el efecto de la concentración de biomasa nitrificante sobre la inhibición por cadmio a dos concentraciones (15 y 20 mg Cd/L), observando que al aumentar la concentración de biomasa desde 0,5 g SSV/L a 3,5 g SSV/L el porcentaje de inhibición disminuía desde un 80% hasta un 20% de inhibición. Dicho efecto fue constatado asimismo por Rozzi *et al.* (1999b) al utilizar un sistema de titulación para caracterizar aguas residuales de industrias textiles. En los ensayos de inhibición la relación compuesto inhibitorio/concentración de biomasa es un parámetro importante en los sistemas de titulación pH-stat. Rozzi *et al.* (1997b) han utilizado los sistemas de titulación para determinar también el efecto de diferentes concentraciones de ácidos grasos volátiles (AGV) en la digestión anaerobia.

La utilización de nuevos sistemas para la caracterización de la biomasa nitrificante y desnitrificante basados en sistemas de control de pH, son una buena alternativa frente a otros métodos. Uno de los inconvenientes de estos sistemas son las posibles interferencias no contempladas que puedan afectar a los tests, por lo que es conveniente que previamente a los ensayos de inhibición se realicen ensayos en blanco para verificar alguna interferencia del compuesto evaluado debido a una variación del pH, producto de alguna reacción química y no biológica. La utilización de un inhibidor selectivo de la oxidación de amonio es una alternativa para verificar al final del ensayo posibles interferencias de los compuestos empleados en los ensayos de inhibición. Se ha comprobado que la alitiourea (ATU) inhibe completamente la primera etapa de la nitrificación (Benes *et al.* 2002).

En cuanto a la segunda aplicación de estos sistemas, monitorización de plantas de tratamiento, Gernaey *et al.* (1997, 1998) siguieron el funcionamiento de diversas plantas de tratamiento a escala piloto y industrial mediante determinaciones de la actividad nitrificante de la biomasa. Rozzi y Malpei (2003) determinaron la actividad de la biomasa presente en un biorreactor de membrana piloto usando el sistema de titulación ANITA. El control del proceso de desnitrificación en plantas de lodos activos ha sido monitorizado por el sistema de titulación llamado DECADOS (Denitrification Carbon source Dosage System) utilizando una sonda de pH y otra de potencial redox (Bogaert *et al.* 1997). Yuan *et al.* (1997) utilizaron un sistema de titulación a pH constante para controlar la adición de una fuente de carbono con el fin de alcanzar una completa desnitrificación en un sistema industrial de tratamiento de aguas residuales.

Los principales objetivos de este capítulo han sido los siguientes:

1. Determinación de la actividad amonio oxidante de la biomasa en suspensión.

2. Validación de la metodología desarrollada por el Politécnico de Milán para determinar efectos inhibitorios sobre la biomasa con un pH-stat, mediante ensayos de intercalibración, en los que participación diversos laboratorios, utilizando dicha técnica.
3. Determinación de la actividad amonio oxidante y ensayos de inhibición de biomasa adherida usando el sistema de valoración de pH.

2.2.- MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1.- Equipo empleado (pH-stat) y procedimiento utilizado

Los experimentos han sido realizados en una unidad pH-stat conocida como **ANITA** (Ammonium NITrification Analyser) desarrollado por el Politécnico de Milán en cooperación con la compañía Italiana Austep. Este sistema de titulación esta constituido principalmente por un vaso termostatzado (0,5-2 L) donde tiene lugar la reacción, un electrodo de pH, una sonda de temperatura, un sistema automático de adición de las soluciones titulantes correspondientes, un sistema de aireación y de agitación (Figura 2.1) Todas estas unidades se encuentran conectadas a un ordenador donde se almacenan y tratan los datos experimentales.

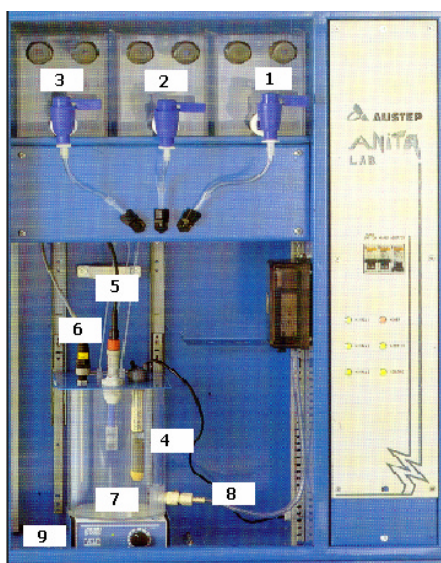


Figura 2.1: Fotografía del sistema de titulación empleado en los ensayos de actividad. 1,2,3 recipientes para las disoluciones titulantes; 4 termostato; 5 sonda de pH; 6 sonda de temperatura; 7 vaso de reacción; 8 sistema de aireación; 9 agitador magnético.

El sistema está preparado para poder operar con 3 disoluciones titulantes diferentes, pero durante los ensayos realizados sólo se ha empleado uno en el que se almacena una disolución alcalina.

Antes de la realización de las series experimentales se realiza sistemáticamente la calibración de las sondas de pH y temperatura y la calibración de las electroválvulas.

Sonda de temperatura: La medida de temperatura durante los ensayos no solo sirve para monitorizar este parámetro, sino para corregir la lectura del pHmetro de forma automática. Para ello se calibra dicha sonda introduciéndola en una solución de agua y hielo a 0°C y agua hirviendo a 100°C.

Sonda de pH: Los ensayos se realizaron en un intervalo de pH entre 8 y 8,5, por lo que en la calibración de la sonda se emplearon disoluciones tamponantes de pH 7,0 y 10.

Electroválvulas: La adición del agente titulante se controla mediante uso de electroválvulas, que se abren durante períodos de 2,5 segundos durante los cuales se adiciona un volumen determinado de disolución titulante. Antes de la realización de los ensayos se cuantificó el volumen adicionado por impulso.

Una vez puesto a punto el equipo se procede a la preparación de la disolución titulante alcalina de NaOH con una normalidad de 0,05 N. La composición exacta de la disolución de NaOH $0,05 \pm 0,001$ N se realizó por valoración de la muestra con una disolución patrón de H_2SO_4 (0,1 N).

La determinación comienza transfiriendo la muestra de lodo al vaso del equipo y adicionando el sustrato correspondiente. El sistema detecta la variación de pH del licor de mezcla respecto al pH de equilibrio (pH_{eq}) previamente establecido, lo cual activa la adición de la disolución titulante con objeto de contrarrestar la variación de pH producto de la producción de H^+ o OH^- . En el ordenador se almacenan los valores de pH y el volumen de disolución titulante adicionada a lo largo del ensayo. Por otro lado, el termostato activa la resistencia que se utiliza para mantener la temperatura del licor de mezcla cuando ésta disminuye por debajo del intervalo de temperatura establecida como referencia, desactivándose cuando se alcanza la temperatura requerida. La agitación y la aireación en el sistema durante los experimentos se mantienen mediante un difusor.

2.2.2.- Ensayos realizados

2.2.2.1.- Determinación de actividades amonio oxidantes de biomásas en suspensión

Se realizaron ensayos con muestras de lodo provenientes de la planta depuradora de aguas residuales urbanas de Bertamiráns (A Coruña - España). Durante la realización de los ensayos el lodo se mantuvo almacenado en condiciones anóxicas a una temperatura de 4°C por un periodo inferior a 3 semanas.

Antes de realizar las pruebas de determinación de actividad las muestras de fango se lavaron con una disolución de lavado según el procedimiento descrito por Ficara y Rozzi (2001). La disolución de lavado está compuesta por 950 ml de agua desionizada, 50 ml de solución de Winogradsky (Tabla 2.1) y 0,3 g NaHCO_3/L . El objetivo de este lavado es evitar eventuales interacciones sinérgicas o antagónicas debido a la presencia de sustancias químicas disueltas e igualar la respuesta del fango en los ensayos mejorando la repetibilidad de las pruebas.

Tabla 2.1: Composición de las disoluciones utilizadas para el lavado del fango.

DISOLUCIÓN DE OLIGOELEMENTOS		DISOLUCIÓN DE WINOGRADSKY Martinotti <i>et al.</i> (1999)	
Componentes	g	Componentes	g
K_2MoO_4	0,05	KH_2PO_4	5
Na_3BO_3	0,05	MgSO_4	2,5
$\text{Fe}(\text{ClO}_4)_3$	0,01	NaCl	2,5
CoN_2O_6	0,05	$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$	0,05
CdSO_4	0,05	MnSO_4	0,05
CuSO_4	0,05	Sol.Oligoelementos	1 mL
ZnSO_4	0,05	Agua destilada	1 L
MnSO_4	0,05		
Agua destilada	1 L		

Después del lavado, el fango se resuspende en 1 L de disolución de lavado, se adiciona una concentración de 10 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$ y se mantiene durante 24 h en aireación a temperatura ambiente con objeto de restablecer la actividad de las muestras del lodo activo después del periodo de almacenamiento. Posteriormente, se transfiere el licor de mezcla al vaso del equipo midiendo el pH hasta que éste alcanza el pH de equilibrio (pH_{eq}). Cuando la velocidad de producción de CO_2 , debido a la respiración endógena de las bacterias se iguala a la velocidad de stripping del CO_2 debido a la aireación. Se considera que se alcanza el pH_{eq} cuando los valores promedios de pH calculados durante 1 ó 2

minutos no presentan una variación mayor de 0,05 durante un periodo de 20 minutos. Normalmente son necesarias 2 h para que la suspensión alcance el pH_{eq} .

Una vez alcanzado el pH_{eq} , la muestra se mantiene constantemente aireada y agitada. Los experimentos se desarrollaron a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, con unas concentraciones de biomasa comprendidas entre 2 y 3 g SSV/L y un pH_{eq} entre 7,0 y 7,5. Para determinar la actividad amonio oxidante, transcurridos 20 minutos, se adiciona a la suspensión una concentración de 30 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$, activándose la adición de disolución titulante para compensar la producción de H^+ producidos por oxidación de NH_4^+ .

2.2.2.2.- Ensayos de inhibición sobre biomasa en suspensión; ejercicio de intercalibración.

Con objeto de validar la metodología y el sistema de titulación desarrollado por el Politécnico de Milán, en la determinación de los efectos inhibitorios de diversas sustancias usando ANITA, se realizó un ejercicio de intercalibración en el que participaron los siguientes laboratorios:

Plantas de tratamientos de Bulgarograsso y Valmadrera,
Acueducto di Firenze,
Centro de investigación Ispra,

Las universidades Italianas: Università degli Studi di Trento, Università degli Studi di Cagliari, Università degli Studi di Milano, Università degli Studi della Basilicata, además participaron la University of Natal (Sudáfrica), Universidad de Santiago de Compostela (España), Politécnico de Milano y GlaxoSmithKline (Reino Unido).

Los participantes en el estudio utilizaron lodos con una actividad entre 1,5 y 6,5 mg $\text{N-NH}_4^+/(g \text{ SSV} \cdot h)$. En nuestro caso los ensayos de intercalibración, se realizaron también con muestras de lodo en suspensión procedentes de la EDAR citada anteriormente. Al igual que en los ensayos anteriores, el lodo se mantuvo almacenado en condiciones anóxicas a una temperatura de 4°C por un periodo inferior a 3 semanas.

El procedimiento seguido es el mismo que en el apartado anterior. Una vez establecido el pH_{eq} entre 7,0-7,5, los experimentos se realizaron a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ con aireación y agitación constantes, las concentraciones de biomasa variaron entre 1 y 2 g SSV/L. Transcurridos los primeros 20 minutos en condiciones endógenas, se adicionan 30 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$ y se emplea una disolución de NaOH (0,05 N) como titulante. A intervalos de aproximadamente 20 minutos se adicionan a la suspensión una alícuota del compuesto evaluado. Como regla general, se añadieron cinco volúmenes de

concentraciones de compuestos inhibitorios. La adición de la disolución a evaluar no debe incrementar el volumen del licor de mezcla en más de un 10% (Ficara y Rozzi, 2001).

En la tabla 2.2, se muestran las concentraciones utilizadas en los ensayos para los tres compuestos evaluados, que eran desconocidos durante la realización del ensayo.

Tabla 2.2: Concentraciones adicionadas en los ensayos de inhibición

S1 (mg/L)	S2 (mg/L)	S3 (mg/L)
0,1	1	3
0,2	2	6
0,4	4	12
0,6	8	24
0,8	16	36

S1: ATU; S2: anilina; S3:sulfato de plata

La selección de los tres compuestos se basó en el cumplimiento de los siguientes objetivos:

- ☐ Evaluar de sustancias orgánicas e inorgánicas
- ☐ Comparar los datos obtenidos con valores que aparecen en la literatura
- ☐ Cubrir un amplio intervalo de IC_{50}
- ☐ Fácil manipulación de compuesto, evitando así efectos tóxicos para el analista

2.2.2.3.- Ensayos de inhibición sobre biopelículas

Se realizaron otra serie de ensayos con muestras de biomasa adherida a un soporte granular plástico de polietileno, que se desarrolló en un reactor de lecho circulante flotante (Lazarova y Manem, 1996, Garrido *et al.* 2000). El reactor se alimentó con agua residual conteniendo una concentración de amonio de 600 mg $N-NH_4^+/L$ y una concentración de materia orgánica de 200 mg DQO/L con una velocidad de carga de amonio de 0,5 kg $N-NH_4^+/(m^3 \cdot d)$. En el momento en que se realizaron los experimentos la concentración de la biopelícula era de 2,2 g proteína/L soporte y la actividad específica determinada en un respirómetro era de 0,4 g $N-NH_4^+/g$ SSV (BOM, Yellow Spring instrument YSI 5331).

Para cada ensayo, se toma un volumen aproximado de 100 mL de biopelícula del reactor de lecho circulante. Las muestras se enjuagan con la disolución de lavado descrita anteriormente y posteriormente se resuspenden en la disolución de

lavado hasta alcanzar un volumen de 250 mL. Se transfieren al reactor del sistema determinándose el pH_{eq} .

Los experimentos se desarrollan a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ y un pH_{eq} entre 7,0 y 7,5. Transcurridos 20 minutos, se agrega una concentración inicial de 30 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$ a la suspensión, activándose la adición de NaOH (0,05 N) para compensar los H^+ producidos en la reacción biológica. Posteriormente, se inyecta la disolución que contiene el compuesto inhibitorio. Cada 15 ó 20 minutos se adicionan concentraciones crecientes del compuesto evaluado hasta alcanzar la máxima concentración, cuidando que el volumen total adicionado no incremente el volumen del licor de mezcla en más de un 10%.

Después de 20 min. de la adición de la última concentración de la disolución tóxica, se adiciona 5 mg ATU/L que inhibe completamente la etapa amonio oxidante con lo que se verifica si existe alguna interferencia por la adición del compuesto o disolución evaluada. Transcurridos 20 minutos de la adición de ATU, se finaliza el ensayo.

2.2.3.- Cálculo de las actividades

2.2.3.1.- Cálculo de la actividad amonio oxidante

El cálculo de la velocidad específica amonio oxidante para la biomasa se determina mediante la ecuación (2.1).

$$AO = \frac{[m_0 - m_{ATU}] * M * 14 * 60}{2 * SSV} \quad (\text{Ecuación 2.1})$$

Donde;

- AO : Corresponde a la actividad amonio oxidante ($\text{mg N-NH}_4^+/\text{g SSV} \cdot \text{h}$)
- m_0 : Corresponde a la velocidad máxima de adición de agente titulante obtenida después de adicionar sustrato (mL/min)
- m_{ATU} : Corresponde a la velocidad de adición del agente titulante después de adicionar ATU (mL/min)
- M : Molaridad de la solución alcalina
- SSV : Concentración de sólidos en suspensión volátiles en el ensayo (g/L)

2.2.3.2.- Cálculo del porcentaje de inhibición

El porcentaje de inhibición se determina a partir de la relación entre la velocidad de adición de la disolución titulante medida en presencia de una determinada

concentración de la sustancia evaluada y la medida después de la adición del sustrato, que corresponde a la actividad amonio oxidante (ecuación 2.2).

$$I_i (\%) = \frac{m_0 - m_i}{m_0 - m_{ATU}} * 100 \quad (\text{Ecuación 2.2})$$

Donde;

$I_i (\%)$: Porcentaje de inhibición relativo a la concentración C_i de la sustancia
 m_0 : Velocidad máxima de adición de agente titulante después de la adición de NH_4Cl (mL/min)
 m_i : Velocidad de adición del agente titulante en presencia de una determinada concentración de la sustancia a evaluar (mL/min)
 m_{ATU} : Velocidad de adición de agente titulante después de adicionar ATU (mL/min)

Si después de la adición de ATU el sistema adiciona disolución ácida, en vez de solución alcalina, la velocidad de adición podría considerarse negativa lo que indica una completa inhibición de la biomasa amonio oxidante.

La velocidad de flujo (m_0), se calcula por regresión lineal sobre la serie de volumen de disolución titulante adicionada en el tiempo. La velocidad de flujo relativa a la sustancia inhibitoria evaluada (m_i) se calcula determinando la velocidad de adición de agente titulante obtenida en el intervalo comprendido entre dos adiciones sucesivas de solución inhibitoria.

2.2.3.3.- Estimación de la concentración inhibitorio en un 50% (IC_{50}).

La estimación de la concentración de un compuesto inhibitorio que reduce la actividad en un 50% (IC_{50}) se obtiene empleando la ecuación 2.3. Esta ecuación modeliza la inhibición del proceso en función de la concentración del compuesto inhibitorio.

$$I_i (\%) = \left[1 - \frac{1}{1 + \frac{C_i^s}{k}} \right] * 100 \quad (\text{Ecuación 2.3})$$

Donde:

- I_i (%) : Porcentaje de inhibición relativo a la concentración de la sustancia inhibitoria
- C : Concentración de la sustancia inhibitoria (g/L)
- i : número de las diferentes concentraciones de la sustancia inhibitoria estudiadas en el ensayo
- S, k : Parámetros de correlación entre la inhibición y la concentración de sustancia inhibitoria.

La ecuación 2.3 se obtiene a partir de la ecuación empírica descrita por Kroiss *et al.* (1992) que considera que la inhibición es de tipo no competitivo y que la concentración de sustrato es significativamente mayor que la constante de afinidad por el sustrato.

La representación gráfica del IC_{50} , se obtiene ajustando los porcentajes de inhibición obtenidos experimentalmente para cada concentración de sustancia inhibitoria a la función sigmoideal que describe la ecuación 2.3 por medio de un programa informático (*Table Curve*). La Figura 2.2, muestra ejemplos de curvas descritas por la función sigmoideal que ajustan los valores experimentales de porcentaje de inhibición y concentración de compuesto inhibitorio obtenidos en varios ensayos. El valor de IC_{50} se obtiene por interpolación en la curva correspondiente a una inhibición del 50%.

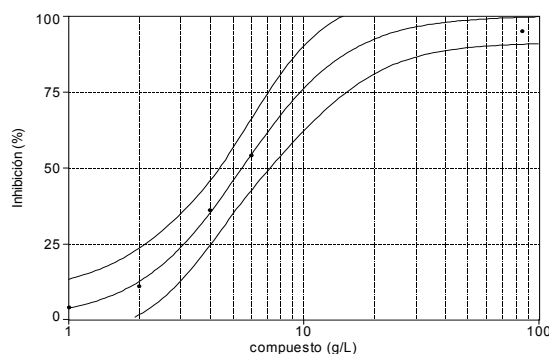


Figura 2.2: Representación de la función sigmoideal obtenida a partir de los porcentajes de inhibición para cada concentración de compuesto inhibitorio.

2.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1.- Determinación de actividades amonio oxidantes de biomásas en suspensión

En la Figura 2.3, se muestra un perfil típico de la curva de titulación obtenida tras adicionar cloruro de amonio. El ensayo se mantuvo hasta la completa oxidación del amonio, que se observa a partir del minuto 200, donde el consumo del agente titulante disminuye a un mínimo. La actividad amonio oxidante se obtuvo a partir de la velocidad de adición de agente titulante (m_0), teniendo en cuenta la estequiometría de la reacción, la concentración de la disolución titulante y la concentración de sólidos en suspensión volátiles

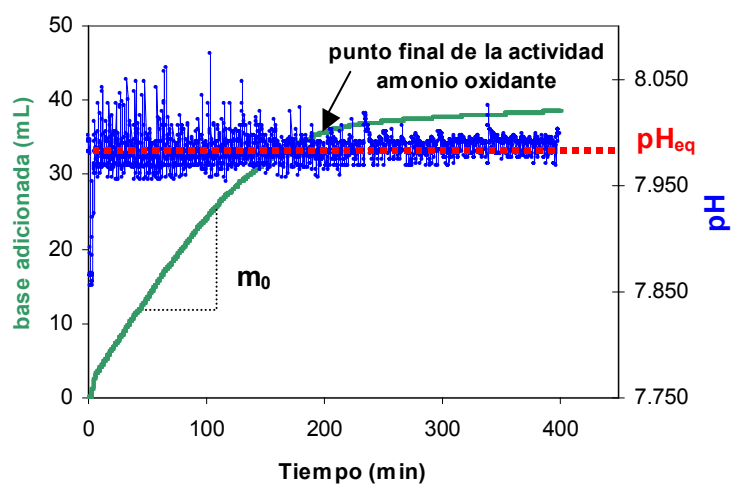


Figura 2.3: Curva típica de titulación obtenida durante experimentos con muestras de lodos activos.

A partir de la curva de la Figura 2.3 se puede determinar la velocidad específica para concentraciones de sustrato menores o iguales a la que se adiciona al inicio del experimento, si se tienen en cuenta la relación entre los coeficientes estequiométricos de los H^+ generados y NH_4^+ consumidos (Figura 2.4).

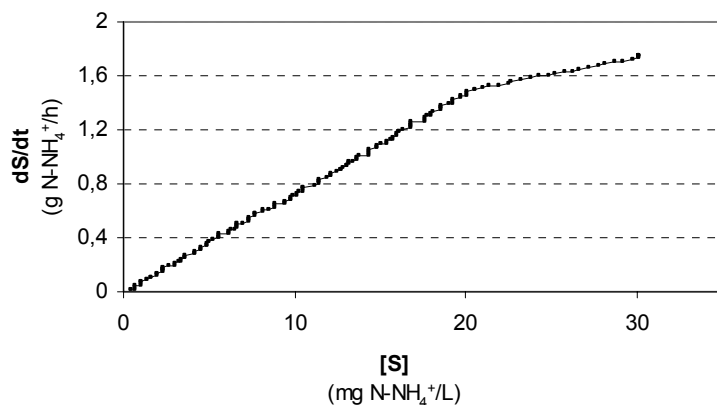


Figura 2.4: Curva que representa la velocidad específica de oxidación de amonio para una determinada concentración de sustrato.

Los datos obtenidos de dS/dt frente a S se ajustan al modelo de Monod, por lo que a partir de los datos experimentales se puede determinar no solo la velocidad máxima de oxidación de amonio sino también la constante de saturación o afinidad.

En los experimentos de determinación de las actividades de biomasa en suspensión se realizaron 12 repeticiones de las cuales se obtuvo una actividad amonio oxidante promedio de $1,52 \pm 0,22$ mg N-NH₄⁺/(g SSV·h) para la biomasa utilizada. La baja desviación standard que se obtuvo indica una buena repetibilidad de los valores. El valor de la actividad obtenida está dentro del rango de actividades para sistemas de lodos activos que suelen estar entre 1,5 y 5 mg N-NH₄⁺/(g SSV·h) (Andreottola *et al.* 1990).

En la tabla 2.3, se aprecia que las condiciones y el tiempo de almacenamiento de dos semanas del lodo no afectaron a la actividad amonio oxidante de la biomasa, ya que no se observó una disminución gradual de ésta en el tiempo.

Tabla 2.3: Determinaciones de la actividad amonio oxidante

Número de prueba (día)	mg N-NH ₄ ⁺ /(g SSV·h)
1	1,60
2	1,57
3	1,67
4	1,10
5	1,52
6	1,66
7	1,46
8	1,09
9	1,47
10	1,85
11	1,62
12	1,58
Promedio	1,52
Desviación estándar	0,22
CV(%)	14,63

Día cero: toma de muestra del lodo en la depuradora

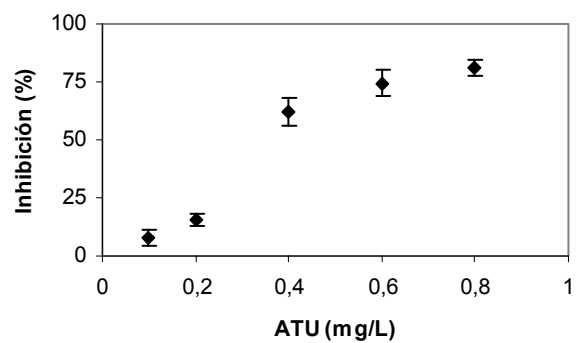
Al igual que en ensayos realizados por Ficara y Rozzi (2001), la disolución de lavado empleada, con una dilución de 1/20 (v/v) de disolución Winograsky, no afectó negativamente a la determinación de la actividad, ya que la concentración de bicarbonato no afectó la capacidad tamponante de las muestras de lodo. Gernay *et al.*, (2001) realizaron un seguimiento empleando la metodología descrita para determinar la actividad de diferentes muestras de lodos de plantas de tratamiento realizando ensayos sin lavar el lodo y diferentes diluciones de la solución de Winograsky (1/10) y (1/20) (v/v). Se obtuvieron valores similares de actividad de las muestras de lodo sin lavar y lavado con diferentes diluciones de la disolución de Winograsky, por lo tanto la utilización de la esta disolución no afecta a la determinación de la actividad.

2.3.2.- Ensayos de inhibición sobre biomasa en suspensión para la intercalibración.

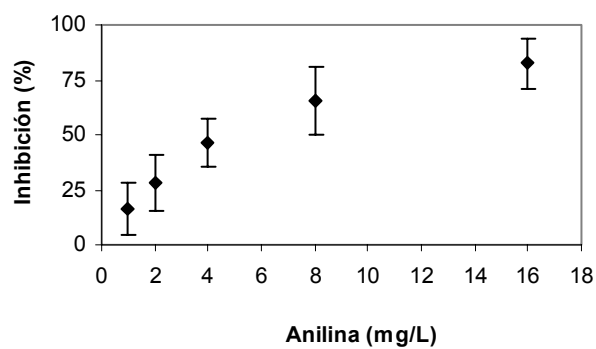
El objeto de este apartado ha sido validar la metodología propuesta por el Politécnico de Milán, para la determinación de efectos tóxicos o inhibitorios de diferentes compuestos o disoluciones sobre la biomasa usada en los ensayos con el pH-stat, de acuerdo con la metodología indicada en el apartado 2.2.2.2. Para ello se han empleado tres disoluciones cuya procedencia inicial era desconocida, que como ya se indicó fueron posteriormente identificadas como aliltiurea (ATU), anilina y sulfato de plata.

Antes de realizar los ensayos de inhibición se evaluó de manera independiente la posible interferencia que podrían presentar los compuestos en estudio. El procedimiento consistió en adicionar a una muestra de lodo, previamente establecido su pH_{eq} , sustrato y posteriormente 5 mg ATU/L y finalmente la máxima concentración de disolución inhibitoria a evaluar. Transcurridos aproximadamente 20 minutos, no se observó adición de disolución titulante en ninguno de los tres casos, lo que indica que las disoluciones a utilizar no contienen elementos que interfieran en los ensayos, por lo que esta metodología puede ser aplicable a los tres compuestos, ya que de acuerdo a Ficara, (2001), si después de adicionar la disolución de compuestos inhibitorios, hay adición durante 20-30 minutos de disolución titulante alcalina o ácida y esta adición no es constante, este método no puede ser aplicado para esos compuestos. En cambio, si el sistema de titulación automático adiciona las disoluciones titulantes a velocidad constante durante unos 20 ó 30 min, probablemente la disolución contenga materia orgánica rápidamente biodegradable o alguna otra sustancia que se oxide y cause efectos sobre el pH. En este caso es necesaria una nueva muestra de lodo nitrificante para cada concentración de tóxico, adicionando al final de cada ensayo ATU con el objeto de determinar la actividad residual.

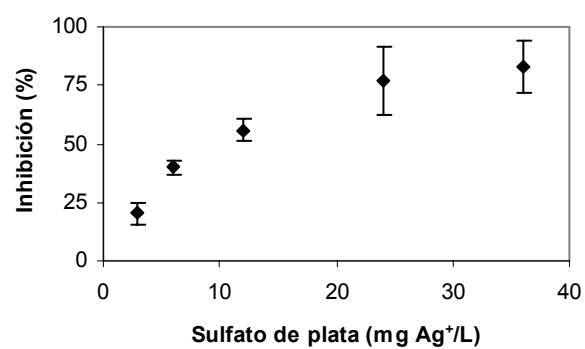
En la Figura 2.5, se observan los porcentajes promedio de inhibición y las correspondientes desviaciones standard para las distintas concentraciones de compuesto inhibitorio evaluados (ATU, anilina y sulfato de plata) aplicada sobre biomasa nitrificante en suspensión. Se realizaron 3 repeticiones para cada compuesto.



(a)

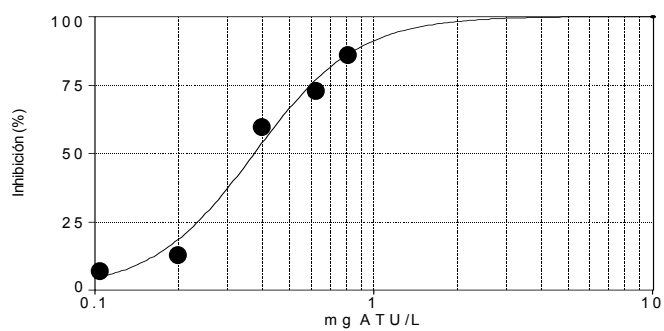


(b)

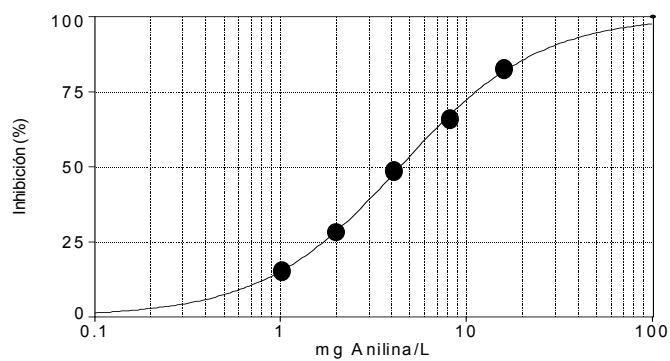


(c)

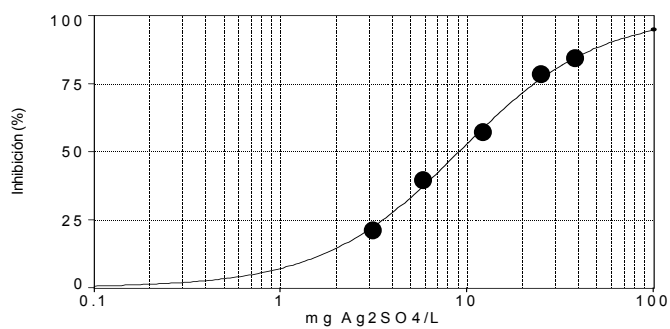
Figura 2.5: Efecto inhibitorio sobre la actividad amonio oxidante, (a) ATU, (b) Anilina y (c) sulfato de plata. Las barras verticales representan la desviación estándar obtenida en los experimentos.



(a)



(b)



(c)

Figura 2.6: Determinación de IC_{50} sobre la actividad amonio oxidante para (a) ATU; (b) Anilina y (c) sulfato de plata.

Ajustando los valores experimentales de porcentaje de inhibición y concentración de compuesto inhibitorio a la función sigmoïdal, descrita en la ecuación 2.3, empleando el programa *Table Curve* se obtuvieron los perfiles de las curvas que permiten obtener los valores de IC_{50} para cada sustancia inhibitoria que se muestran en la Figura 2.6. El resumen de los resultados de los IC_{50} para los tres compuestos evaluados se muestran en la Tabla 2.4.

Tabla 2.4: Resumen estadístico de la repetibilidad de los experimentos realizados en la Universidad de Santiago de Compostela (USC).

Parámetros	ATU	Anilina	Sulfato de plata*
IC_{50} (mg/L)	0,36	4,58	9,37
Des.Stand (mg//L)	0,01	0,81	1,58
CV (%)	3,98	17,77	16,91
Nº muestras	3	3	3

(*) expresado en mg Ag^+ /L

Al comparar los resultados obtenidos con valores de la bibliografía (Tabla 2.5) se observa una variabilidad de los valores de IC_{50} obtenidos dependiendo de la biomasa o la técnica empleada.

El valor de IC_{50} que se obtuvo para la ATU de 0,4 mg/L es menor que el citado por Ficara y Rozzi (2001) de 1,4 mg ATU/L, a pesar de que ambos se determinaron con el mismo sistema experimental y bajo condiciones de trabajo similares. Esta diferencia puede ser atribuida a la biomasa empleada que presentó una diferente respuesta al efecto de la ATU. Ensayos de inhibición realizados por otros autores muestran que la concentración de ATU para reducir la actividad amonio oxidante en un 50% varía entre 1,4 y 8,2 mg/L. Benes *et al.* (2002) sugieren utilizar una concentración de 10 mg/L para inhibir completamente la etapa amonio oxidante.

El valor de IC_{50} para la anilina que se obtuvo en estos ensayos de 4,6 mg/L fue similar al obtenido por Ficara y Rozzi (2001) de 4,9 mg anilina/L, diferente al de 1,2 mg/L obtenido por König (1998).

El valor de IC_{50} para el sulfato de plata fue de 9,4 mg Ag^+ /L con una pequeña desviación de 1,6%. Si se compara con otras referencias de valores de inhibición por metales pesados se observa que los valores de inhibición varían dependiendo del tipo de metal (Amor *et al.* 1999).

Tabla 2.5: Valores toxicidad de ATU y anilina sobre biomasa nitrificante

Compuesto	Concentración (mg/L)	Inhibición (%)	Referencia
ATU	1,35-1,50		Hayes <i>et al.</i> (1998)
	1,4	50	Ficara and Rozzi(2001)
	2	100	Jönsson <i>et al.</i> (2001)
	5	100	Wood <i>et al.</i> (1981)
	8,2	50	König (1998)
	13,8	100	Ginestet <i>et al.</i> (1998)
	10	100	Benes <i>et al.</i> (2002)
Anilina	1,2		König (1998)
	4,9		Ficara and Rozzi (2001)

En los ensayos realizados el intervalo del coeficiente de variación (CV) para la estimación del IC₅₀ fue entre 4 y 18%, lo que indica una aceptable repetibilidad. Ficara y Rozzi (2001) obtuvo valores de CV para ATU y anilina de 11 y 38%, respectivamente, utilizando ANITA. Los ensayos de inhibición realizados por Kong *et al.* (1993) utilizando respirometría generaron valores del CV de 3-22%. La obtención de datos de inhibición/toxicidad con muy amplios coeficientes de variación es habitual a la hora de determinar dicho parámetro en microorganismos y en otros seres vivos. Whitehouse *et al.* (1996) encontraron variaciones del 33% en un 75% de los ensayos realizados con organismos invertebrados como *Daphnia magna* y *Acartia tonsa* y la especie de algas *Skeletonema costatum* y McFeters *et al.* (1983) obtuvieron coeficientes de variación entre el 1 y el 116% al evaluar 32 compuestos químicos en Microtox.

Los ensayos de inhibición se realizaron con una concentración de biomasa entre 1,1 y 1,85 g SSV/L, de manera que la relación concentración de compuesto inhibitorio/concentración de biomasa no varió significativamente. Rozzi *et al.* (1999b) mencionan que debido a la alta sensibilidad de los sistemas de titulación la relación compuesto inhibitorio/biomasa es un parámetro importante que puede afectar a la respuesta de la actividad.

Referente a la naturaleza de los tres compuestos evaluados, la aliltourea (ATU) y la anilina son sustancias químicas caracterizadas por ser inhibidores específicos de la nitrificación (McCarty, 1999). La aliltourea se caracteriza por ser un compuesto difícilmente biodegradable que inhibe la etapa amonio oxidante, mientras que la anilina inhibe ambas etapas de la nitrificación. Xiong *et al.* (1998) indicaron que la biodegradabilidad de la anilina puede tener lugar después de un corto período de aclimatación de la biomasa, aunque otros autores mencionan que la anilina puede biodegradarse rápidamente bajo condiciones de salinidad relativamente bajas (0,85% NaCl (p/v)) y pH neutro (Oneill *et al.* 2000). Por tanto, las aguas residuales que contengan elevadas concentración de sal y un pH bajo pueden limitar la degradación de la anilina.

El sulfato de plata, se empleó en estos ensayos debido que su efecto inhibitorio sobre la actividad nitrificante es menor que la ATU y la anilina, permitiendo estudiar su efecto inhibitorio en un mayor rango de concentraciones.

Una vez determinados los valores de IC_{50} para los tres compuestos (ATU, anilina y sulfato de plata), estos se compararon con los obtenidos por los demás participantes en los ensayos de intercalibración. En la Figura 2.7 se muestran los estudios comparativos entre los laboratorios participantes incluyendo nuestros resultados.

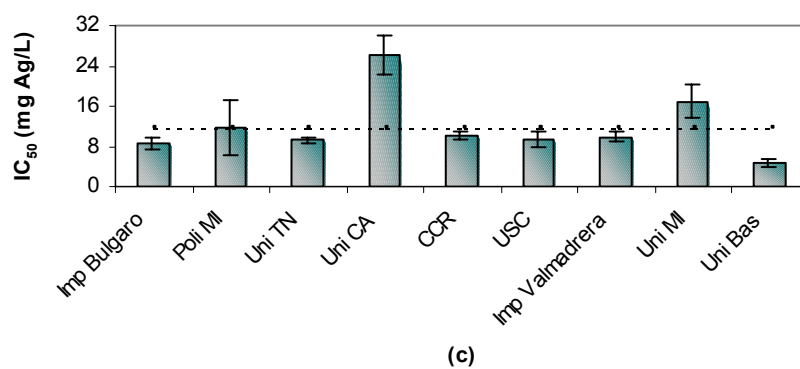
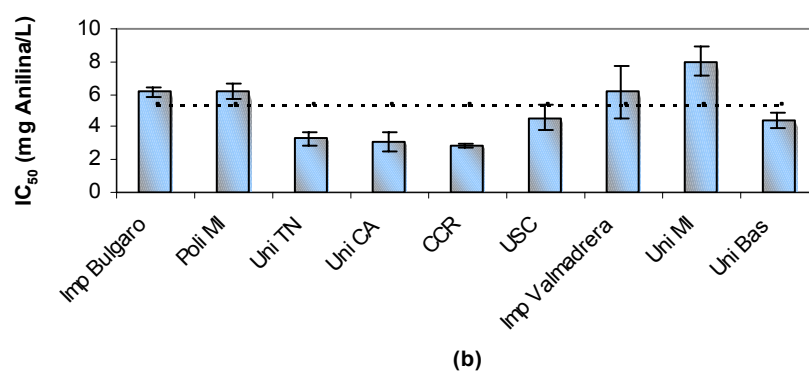
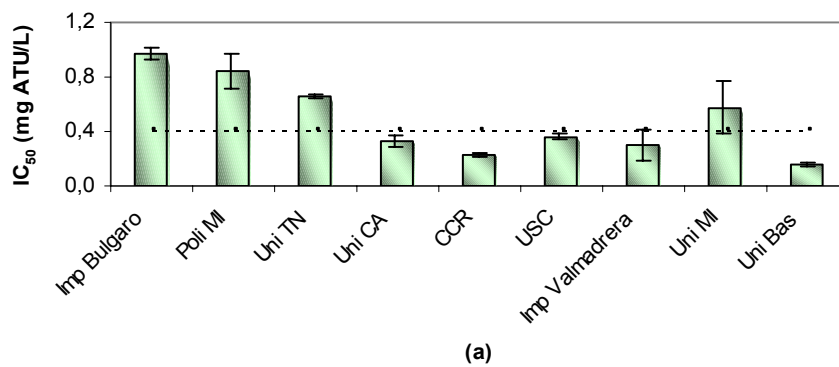


Figura 2.7: Resultados de IC₅₀ obtenidos por los diferentes laboratorios participantes (a) ATU, (B) anilina y (c) sulfato de plata, medida como concentración de ión Ag⁺.

Los valores promedios de IC_{50} obtenidos por los 9 laboratorios participantes para los tres compuestos evaluados fueron de $0,41 \pm 0,27$ mg ATU/L, $4,97 \pm 1,76$ mg Anilina/L y $11,83 \pm 6,23$ mg Ag^+ /L. Al comparar los resultados de IC_{50} obtenidos por cada laboratorio se observó una adecuada repetibilidad entre los ensayos ya que para cada compuesto evaluado las desviaciones estándar que se obtuvieron se encontraron en un rango de intervalo entre 0,02-0,19 mg/L para la ATU; 0,13-1,62 mg/L para la anilina y 0,5-5,4 mg/L para el sulfato de plata.

La metodología de adiciones sucesivas del compuesto a evaluar se presentó como una alternativa a la ISO 9509 descrita en el Standard Methods (1997). Con objeto de comparar los resultados obtenidos por ambas metodologías se realizaron ensayos con los tres compuestos inhibitorios siguiendo la metodología mencionada en el Standard Methods en la que participaron 5 laboratorios. Los valores de IC_{50} promedio obtenidos se muestran en la Figura 2.8 y se comparan con los obtenidos empleando la metodología propuesta por el Politécnico de Milán.

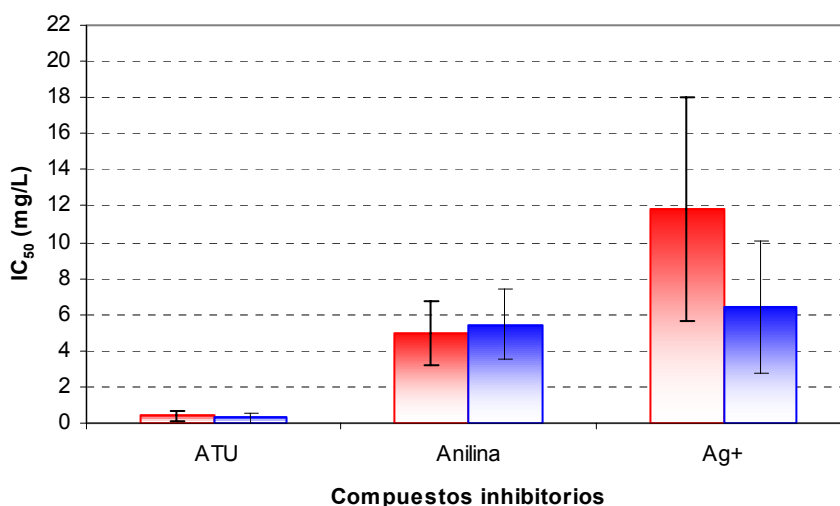


Figura 2.8: Valores de IC_{50} promedio de los laboratorios participantes para ATU, anilina y sulfato de plata empleando la metodología: (■) descrita en el Standard Methods y la (■) propuesta por el Politécnico de Milán.

Se observa que los valores medios de IC_{50} obtenidos por las dos metodologías aplicadas a cada compuesto son muy similares. Para el sulfato de plata se observa una mayor diferencia entre el IC_{50} obtenido por la metodología propuesta en el Politécnico de Milán de 11,83 mg Ag^+ /L y la descrita en el

Standard Methods de 6,43 mg Ag⁺/L. Esta variabilidad puede ser atribuida a los altos valores de la desviación estándar. En la tabla 2.6 se muestran los valores obtenidos para cada compuesto inhibitorio analizado, empleando la metodología propuesta en el Standard Methods.

Tabla 2.6: Resumen estadístico de la repetibilidad de los experimentos realizados por seis universidades participantes empleando la metodología descrita en el Standard Methods.

Parámetros	ATU	Anilina	Sulfato de plata (Ag ⁺)
IC ₅₀ (mg/L)	0,29	5,47	6,43
Des.Stand (mg//L)	0,24	1,98	3,64
CV (%)	83	36	97

2.3.3.- Ensayos de inhibición sobre biopelículas.

En este apartado se analiza el efecto inhibitorio sobre la actividad amonio oxidante de biopelículas de dos compuestos (NaCl y extracto de quebracho) que se encuentran habitualmente presentes en las aguas residuales de la industria de curtidos.

Debido a las características intrínsecas de los ensayos de actividad se verificó en primer lugar la posible interferencia que podrían presentar estos dos compuestos agregando ATU. En la Figura 2.9 se observa el comportamiento encontrado en los ensayos en el que se puede constatar que no existe adición de disolución alcalina tras la adición de ATU, lo que indicaría una inhibición de la primera etapa de la nitrificación. La adición del compuesto inhibitorio a ensayar no causó posteriormente ningún consumo de disolución alcalina, descartándose que estos compuestos interfieran en la determinación de la actividad, siendo posible la aplicación de la estrategia de adiciones sucesivas en un único ensayo.

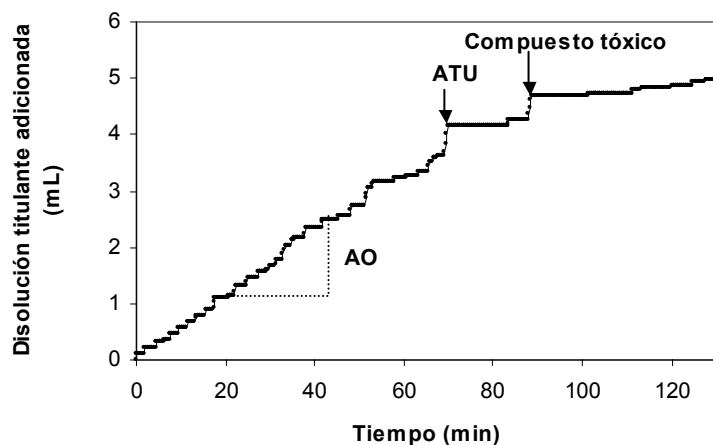


Figura 2.9: Curva típica de titulación en la que se evalúa la posible interferencia de un compuesto en el ensayo de inhibición.

Los ensayos de toxicidad se realizaron empleando 5 concentraciones crecientes de cada compuesto. Un experimento típico es presentado en la Figura 2.10, en la cual se observa un cambio de pendiente en la velocidad de consumo con el incremento de concentración de tóxico, siendo en promedio la duración de cada prueba de 3 horas, por lo que se puede descartar el efecto de aclimatación de la biomasa a estos compuestos durante los ensayos.

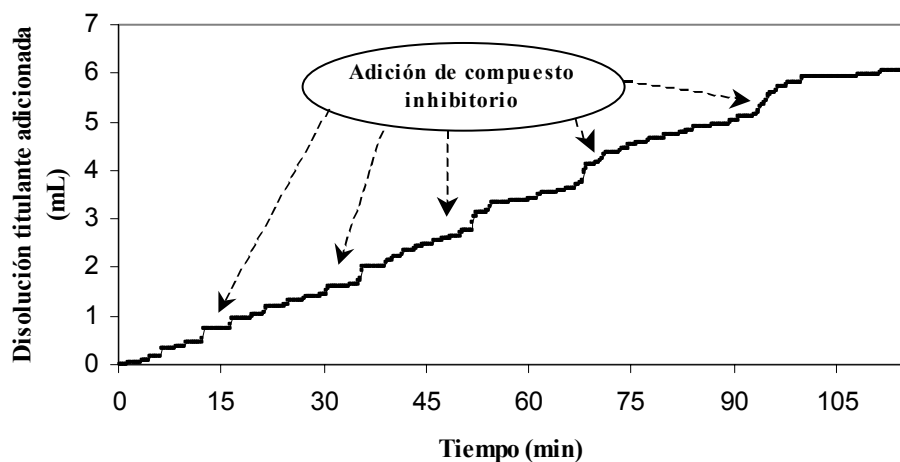


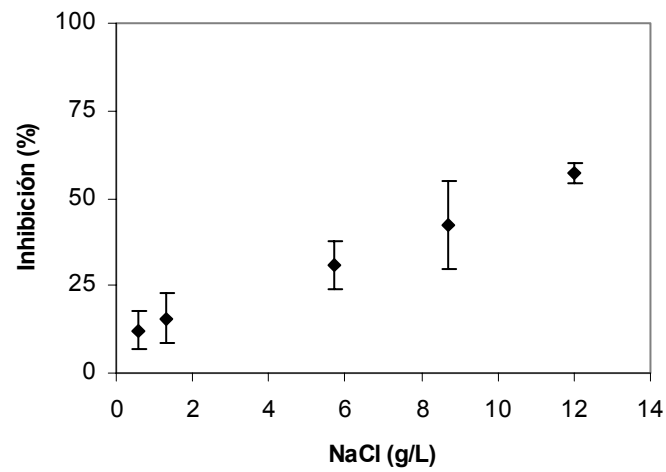
Figura 2.10: Curva típica de titulación de un ensayo de inhibición adicionando cinco concentraciones de compuesto inhibitorio

En la Figura 2.11 se muestran los resultados extraídos a partir de las curvas de titulación que han sido obtenidas para las dos sustancias evaluadas en este trabajo. Todos los ensayos se han realizado por sextuplicado y cada uno indica el valor medio de la actividad conjuntamente con la desviación standard observada.

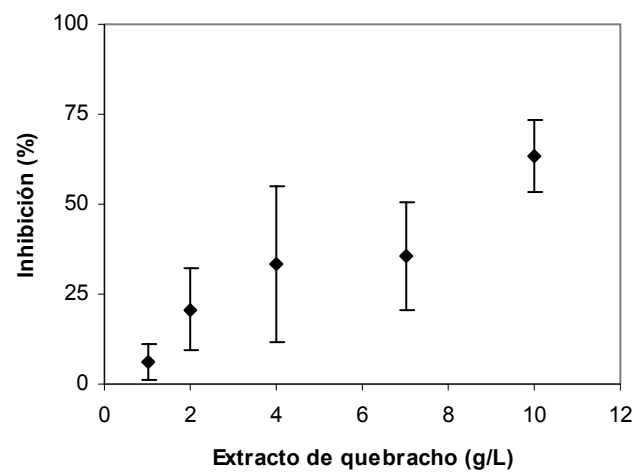
La Figura 2.11a, muestra los resultados obtenidos en los ensayos con cloruro de sodio en los que se evaluaron concentraciones entre 0,6 y 12 g/L. Se encontró un IC_{50} de 10,2 g NaCl/L, la desviación estándar no excedió de un 12% para cada concentración evaluada, lo que implica una buena reproducibilidad de los datos. De los resultados obtenidos se puede ver que el efecto inhibitorio sobre este tipo de biomasa es en algunos casos comparable con resultados obtenidos por otros autores empleando biomasa en suspensión. Campos *et al.* (2001) obtuvieron un 25% de la actividad máxima a concentraciones de NaCl de 8,7 g/L en un sistema de lodos activos nitrificante. Hunik *et al.* (1992) obtuvieron valores similares. Sin embargo, Panswad y Anan (1999) obtuvieron un 55% de inhibición en la nitrificación a una concentración de 20 g NaCl/L.

El efecto de taninos vegetales sobre la actividad amonio oxidante se evaluó empleando extracto de quebracho (Figura 2.11b). La máxima concentración evaluada correspondió a 10 g/L. El valor de IC_{50} obtenido para el extracto de quebracho fue de 8,5 g/L. La desviación standard que se obtuvo para estos ensayos dependió de la concentración aplicada fluctuando entre 5 y 22%, siendo mayor a partir de una concentración de 4 g/L. Esta mayor desviación es probablemente debido a la estructura compleja de este compuesto (anillo flavonoide) y a la formación de espuma a partir de los 4 g/L de extracto de quebracho en el vaso de reacción. Los valores obtenidos son más altos que los obtenidos por López-Fiuza *et al.* (2002) mediante ensayos realizados por el método respirométrico sobre biomasa nitrificante en suspensión, lo que indica que la biomasa inmovilizada presenta una mayor resistencia que la biomasa en suspensión.

Los resultados experimentales indican que la metodología de adiciones sucesivas ha servido para determinar la actividad nitrificante, no solo en muestras de biomasa en suspensión, sino también en biopelícula.



(a)



(b)

Figura 2.11: Efecto inhibitorio de las formulaciones de (a) NaCl y (b) extracto de quebracho sobre la actividad nitrificante de una biopelícula. Las barras representan las desviaciones observadas a partir de los ensayos por sextuplicado.

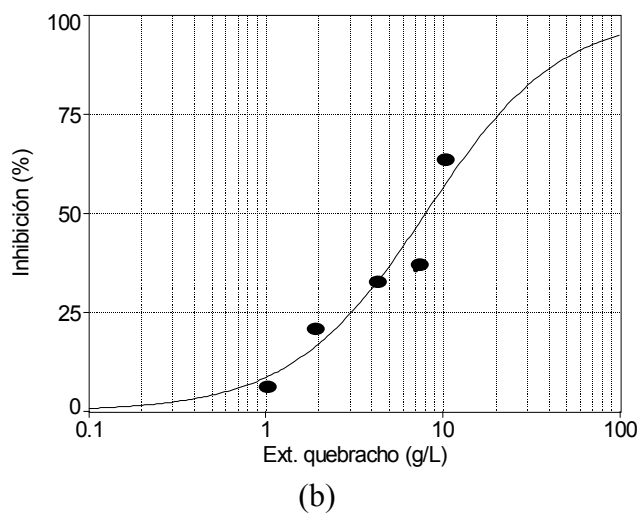
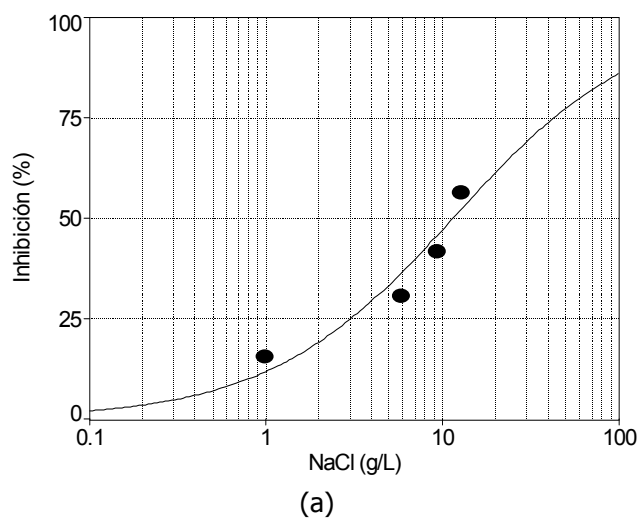


Figura 2.12: Determinación de IC_{50} sobre la actividad amonio oxidante para (a) cloruro de sodio y (b) extracto de quebracho.

2.4.- CONCLUSIONES

Los ensayos realizados mediante el sistema de titulación para determinar la actividad amonio oxidante tanto de biomasa en suspensión y adherida son de fácil desarrollo, no requieren de ninguna determinación analítica excepto la determinación de sólidos en suspensión, son de bajo coste y se pueden obtener en un tiempo corto mostrando una aceptable repetibilidad.

Los resultados de inhibición obtenidos mediante el sistema de titulación muestran que este procedimiento puede ser considerado como una metodología alternativa a la ISO 9509E para valorar efectos inhibitorios en la etapa amonio oxidante, aunque en muchos casos por ser ésta la etapa limitante se puede considerar como el efecto inhibitorio sobre la nitrificación. En los ensayos interlaboratorio los valores de IC_{50} obtenidos empleando el sistema de titulación ($0,41 \pm 0,27$ mg ATU/L; $4,97 \pm 1,76$ mg anilina/L y $11,83 \pm 6,23$ mg Ag^+ /L) fueron muy similares a los obtenidos utilizando la metodología mencionada en el Standard Methods ($0,29 \pm 0,24$ mg ATU/L; $5,47 \pm 1,98$ mg anilina/L y $6,43 \pm 3,64$ mg Ag^+ /L).

El sistema de titulación puede ser aplicado para biomasa inmovilizada, detectándose el efecto inhibitorio de dos compuestos empleados en la industria de curtidos, previa evaluación de factores experimentales críticos que puedan interferir en los ensayos. Se obtuvo un IC_{50} para el cloruro de sodio y el extracto de quebracho de 10,2 g /L y 8,5 g /L, respectivamente.

2.5.- REFERENCIAS

Amor L., Kennes C., Veiga M. C. (1999) Effect of heavy metals on phenol biodegradation and nitrification. IWA 2ND World water congress. P. 244-October-Berlin.

Andreottola G., Canziani R. and Cossu R. (1990) Rimozione Biologica dei Nutrienti dalle acque di scarico. Published by Istituto per l'Ambiente, Milano, pp. 59.

APHA-AWWA-WPCF. (1998). Standard Methods for examination of water and wastewater. 20th Ed. Washington.

Beccari M., Passino R., Ramadori R. and Tandoi V. (1980) Inhibition effects on nitrification by typical compounds in coke plant wastewaters. *Environmental Technology Letter*, **1**, 245-252.

Benes O., Spanjers H. and Holba M. (2002) Respirometry techniques and activated sludge models. *Water Science Technology*, **46**(4-5), 1-6.

Bogaert H., Vanerhasselt A., Gernaey K., Yuan Z., Thoeys C. and Verstraete W. (1997) A new sensor based on pH-effect of the denitrification process. *Journal Environmental Engineering*, 132, 884-891.

Campos J.L., Mosquera-Corral A., Sánchez M., Méndez R. and Lema J.M. (2001) Nitrification in saline wastewater with high ammonia concentration in an activated sludge unit. *Water Research*, **36**, 2555-2560.

Cicek N., Macomber J., Davel J., Suidan M.T., Audic J. and Genestet P. (2001) Effect of solids retention time on the performance and biological characteristics of membrane bioreactor. *Water Science Technology*, **43**(11), 43-50.

Ficara E. (2001) pHstat and DOstat techniques to monitor the activated sludge process. Thesis Politecnico di Milano, Italy.

Ficara E. and Rozzi A. (2001) pH-stat titration to assess nitrification inhibition. *Journal Environmental Engineering*, **127**, 8, 698-704.

Garrido J.M., Méndez R., Lema J.M. and Lazarova V. (2000) The circulating floating bed reactor effect of particles size distribution of the carrier on ammonia conversion. *Water Science Technology*, **41** (4-5), 393-400.

Gernaey K., Bogaert H., Massone A., Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1997) On-line nitrification monitoring in activated sludge with a titrimetric sensor. *Environmental Science Technology*, **31**, 2350-2355.

Gernaey K., Bogaert H., Vanrolleghem P., Massone A., Rozzi A. and Verstraete W. (1998) A titration technique on-line nitrification monitoring in activated sludge. *Water Science Technology*, **37**, 103-110.

Gernaey K., Maffei D., Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1999) A new pH-based procedure to model toxic effects on nitrifiers in activated sludge. *J. of Chem. Technology Biotechnol.* **74**, 6679-687.

Gernaey K., Yuan Z. and Vanrolleghem P. (2001) Titrimetric biosensing of biological wastewater treatment plants. *1st IWA Conference on Instrumentation, Control and Automation, Sweden*, 107-114.

Ginestet P., Audic Jean-Marc., Urbain V. and Block Jean-Claude (1998) Estimation of nitrifying bacterial activities by measuring oxygen uptake in the presence of the metabolic inhibitors allylthiourea and azide. *Applied and Environmental Microbiology*. **64**, 6, 2266-2268.

Hunik J.H., Meijer H.J.G. and Tramper J. (1993) Kinetics of *Nitrobacter agilis* at extreme substrate, product and salt concentrations. *Appl. Microbiol Biotechnol.*, **40**, 442-448.

Kong Z., Vanrolleghem P.A. and Verstraete W. (1993) An activated sludge-based biosensors for rapid IC₅₀ estimation and on-line toxicity monitoring. *Biosens. Bioelectron.*, **8**, 49-58.

König A., Riedel K. and Metzger J.W. (1998) A microbial sensor for detecting inhibitors of nitrification in wastewater. *Biosens. Bioelectron.*, **13**, 867-874.

Kroiss H., Schweighofer P., Frey W. and Matsche N. (1992) Nitrification inhibition – a source identification methods for combined municipal and/or industrial wastewater treatment plants. *Water Science Technology*, **26**(5-6), 1135-1146.

Lazarova V. And Manem J. (1996) An innovative process for wastewater treatment: the circulating floating bed reactor. *Water Science Technology*, **34**(9), 89-99.

López-Fiuza J. and Méndez R. (2002) Toxic effects exerted on methanogenic, nitrifying and denitrifying bacteria by chemical used in a milk analysis laboratory. *Enzyme and Microbial Tech.*, **31**, 976-985.

Massone A., Gernaey K., Rozzi A., Willelms P. and Verstraete W. (1995a) Biosensors for nitrogen control in wastewater. *Water Science Technology*, **34**(1-2), 213-220.

Massone A., Gernaey K., Rozzi A., Willelms P. and Verstraete W. (1995b) Ammonium concentration measurements with a titrimetric biosensor. Proceedings 9th Forum of Applied Biotechnology, September 27-29, Gent (Belgium), 60, 2361-2368.

McCarty G.W. (1999) Modes of action of nitrification inhibitors. *Biol. Fertil. Soils*, **29**, 1-9.

McFeters G.A., Bond P.J., Olson S.B., and Tchan Y.T. (1983) A comparison of microbial bioassays for the detection of aquatic toxicants. *Water Research*, **17**(12), 1757-1762.

Martinotti M.G., Puppo M., Varese G.C., Gautier E. and Bertolotto A. (1999) Phenotypic and functional characterization of the microbial communities isolated from a compost. *17th International Wastewater Management and landfill symposium*. Italy, October.

Oneill F.J., Bromley-Challenor K.C., Greenwood R.J. and Knapp J.S. (2000) Bacterial growth on aniline implications for the biotreatment of industrial wastewater. *Water Research*, **34**(18), 4397-4409.

Orhon D., Ates E. and Sözen E. (2000) Experimental evaluation of the nitrification kinetics for tannery wastewaters. *Water S.A.* **26** (1), 43-50.

Panswad T. and Anan C. (1999) Specific oxygen, ammonia and nitrate uptake rates of a biological nutrient removal process treating elevated salinity wastewater. *Bioresource Technology*, **70**, 237-243.

Ramadori R., Rozzi A. and Tandoi W. (1980) An automated system for monitoring the kinetics of biological oxidation of ammonia. *Water Research*, **14**, 1555-1557.

Rozzi A., Massone A. and Verstraete W. (1999a) European patent "Method to monitor in liquids the concentration of substances which are degraded by acidifying or alkalisating microorganisms and related instrumentation". N.07057017 (granted 20.10.99).

Rozzi A., Ficara E., Cellamare C.M. and Bortone G. (1999b) Characterization of textile wastewater and other industrial respirometric and titration biosensors. *Water Science Technology*, **40**(1), 161-168.

Rozzi A., Ficara E., Massone A. and Verstraete W. (2000) titration biosensors for wastewater treatment process control. *Water* **21**, 4, 50-55.

Rozzi A., and Malpei F. (2003) Risultati e prospettive di applicazione di reattori MBR in campo agro-industriale. *Conferenza Internazionale "Applicazioni e prospettive dei reattori MBR nel trattamento ed il riuso delle acqua reflue"*. Cremona (I), Aprile.

Whitehouse P., Crane M., Redshaw C.J. and Turner C. (1996) Aquatic toxicity test for the control of effluent discharges in the UK-The influence of test precision. *Ecotoxicology*, **5**, 155-168.

Xiong X., Hirata M., Takanashi H., Lee Min-Gyu and Hano T. (1998) Analysis of acclimation behaviour against nitrification inhibitors in activated sludge process. *Journal of fermentation and bioengineering*, **86**, 2, 207-214.

Yuan Z., Bogaert H., Vanrolleghem P., Thoeve C., Vansteenkiste G. and Verstraete W. (1997) Control of external carbon addition to predenitrifying systems. *Journal Environmental Engineering*, 1080-1086.

CARACTERIZACIÓN DE BIOMASA NITRIFICANTE Y DESNITRIFICANTE MEDIANTE UN SISTEMA DE TITULACIÓN pH-DOstat

Resumen. El sistema MARTINA supone una mejora del sistema de titulación ANITA, al incorporar una sonda de oxígeno al sistema titrimétrico. Este nuevo sistema se utilizó para determinar diversos parámetros cinéticos de diferentes muestras de lodos: actividad nitrificante de biomasa procedente de sistemas biológicos industriales de lodos activos, actividad amonio oxidante de un lodo proveniente de un sistema SHARON de laboratorio y actividad desnitrificante autótrofa. El sistema permite medir las actividades a partir de los volúmenes consumidos de cada disolución titulante frente al tiempo.

Se estimaron los parámetros cinéticos, velocidad máxima de consumo de sustrato ($V_{\max}$) y constante de afinidad por el sustrato (K_s) para las distintas muestras de biomasa ajustando los perfiles de consumo de especies nitrogenadas al modelo de Monod. Los valores de K_s de la biomasa nitrificante indican una buena afinidad por el sustrato 0,34-0,68 mg N-NH₄⁺/L para la biomasa amonio oxidante y 0,23-0,40 mg N-NO₂⁻/L para la nitrito oxidante, a diferencia de la biomasa proveniente del reactor SHARON para la que se obtuvo un K_s de 15,4-17,7 mg N-NH₄⁺/L. Para las muestras de biomasa desnitrificante autótrofa se obtuvo una $V_{\max}$ de 51,04 ± 9,24 mg N-NO₃⁻/(g SSV·h) y las K_s para cada sustrato de 1,30 ± 0,14 mg N-NO₃⁻/L y 32,4 ± 3,04 mg S-S₂O₃²⁻/L.

Se realizaron diferentes ensayos de inhibición con disoluciones utilizadas habitualmente en curtidurías, tanto para la etapa amonio y nitrito oxidante, con el fango proveniente de la planta de aguas residuales industriales. Se obtuvo un IC₅₀ para las sales de cromo de 4,46 g sales de cromo/L para las bacterias amonio oxidante y de 7,45 g sales de cromo/L para las bacterias nitrito oxidante, para la mezcla de NaCl y Na₂SO₄ se obtuvo un IC₅₀ de 0,011 y 0,029 mol de sales/L para las bacterias amonio y nitrito oxidante, respectivamente.

Los resultados mostraron una buena repetibilidad, confiabilidad y precisión. El desarrollo de los experimentos se caracteriza por una baja carga analítica. Este método de titulación es una alternativa a los sistemas respirométricos, ya que es un sistema apropiado para estimar parámetros cinéticos para reacciones que combinan variaciones de pH y concentración de oxígeno disuelto, siendo posible la monitorización en condiciones aerobias y anóxicas.

3.1.- INTRODUCCIÓN

La incorporación de una sonda de oxígeno a la unidad pH-stat (ANITA) ha dado origen a un nuevo sistema denominado MARTINA (Multiple Analyte Reprogrammable Titration Analyser). Este nuevo equipo permite realizar el seguimiento de diversas reacciones en las que exista consumo de oxígeno, caracterizándose las dos etapas del proceso de nitrificación: oxidación de amonio a nitrito por medio de bacterias amonio oxidante y la oxidación de nitrito a nitrato llevada a cabo por bacterias nitrito oxidantes. Además, las medidas de oxígeno disuelto realizadas en paralelo permiten minimizar y/o eliminar algunas interferencias que afectaban a la unidad pH-stat (Ficara *et al.* 2000, Yuan y Bogaert, 2001).

Frecuentemente la cinética global del proceso de nitrificación, la oxidación directa de amonio a nitrato, se estudia simplemente considerando los parámetros cinéticos de la primera etapa del proceso, oxidación de amonio a nitrito. Esta aproximación es aceptable si la velocidad de oxidación de amonio es apreciablemente menor que la oxidación de nitrito, no existiendo por tanto acumulación de nitrito. Sin embargo, hay casos en que la cinética de la segunda etapa de la nitrificación es más lenta que la oxidación del amonio, acumulándose nitrito (Alleman, 1985; Nowak *et al.* 1995).

Diversos investigadores han realizado determinaciones de los parámetros cinéticos de bacterias nitrificantes mediante ensayos respirométricos discontinuos o continuos (Čech *et al.* 1984; Chudoba *et al.* 1985; Drtil *et al.* 1993; Surmacz-Gorska *et al.* 1996, Young y Bogaert, 2001). Los datos obtenidos de la variación de la concentración con el tiempo han sido linealizados e integrados ajustándolos al modelo de Monod (Corman y Pave, 1983; Grady *et al.* 1999). MARTINA se ha utilizado en ensayos de titulación que combinan las medidas de pH y oxígeno disuelto (Rozzi *et al.* 2000). La velocidad máxima de oxidación ($V_{\max}$) y la constante de afinidad (K_s) de las bacterias amonio oxidantes y nitrito oxidantes se han determinado utilizando los datos de consumo de disolución titulante y los correspondientes coeficientes estequiométricos para cada una de las etapas de la nitrificación.

Una ventaja de estos sistemas de titulación, con respecto a los métodos respirométricos convencionales, es la posibilidad de realizar ensayos en condiciones aerobias y anóxicas. En estos sistemas de titulación es posible realizar ensayos de inhibición empleando diversos compuestos, evaluando además el efecto sobre cada etapa de la nitrificación. Völsch *et al.* (1990) propusieron un método respirométrico para determinar la velocidad de degradación del amonio y del nitrito utilizando inhibidores específicos para determinar las actividades de cada etapa de la nitrificación.

El NaClO_3 es un inhibidor de la oxidación de NO_2^- a NO_3^- a concentraciones en torno a 20 mM (Belser y Mays, 1980; Hynes y Knowles, 1983), presentando también efectos negativos sobre la oxidación de amonio. Su efecto inhibitorio sobre las bacterias amonio oxidantes es detectable solo después de 30 minutos debido a la conversión del NaClO_3 a NaClO_2 (Hynes y Knowlws, 1983). La ATU es un inhibidor selectivo de la oxidación de amonio por bacterias amonio oxidante y se utiliza a concentraciones en torno a 5 mg/L (Wood *et al.* 1981).

Los objetivos planteados en este capítulo son:

1. Comparar los valores de la actividad amonio oxidante obtenidos mediante medidas de pH y oxígeno disuelto para dos muestras de lodo nitrificante, procedentes de dos plantas diferentes.
2. Estimación de los parámetros cinéticos a partir de los perfiles de concentración de las especies nitrogenadas obtenidos de los datos experimentales empleando el modelo de Monod, para diferentes muestras de lodo (nitrificante, amonio oxidante y desnitrificante).
3. Determinación del efecto inhibitorio sobre bacterias amonio y nitrito oxidantes de sales de cromo y una mezcla de NaCl y Na_2SO_4 , mediante las dos unidades de titulación.

3.2.- MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1.- Equipo pH-DO-stat y procedimiento utilizado.

El sistema **MARTINA** (Multiple Analyte Reprogrammable Titration Analyser) combina medidas de pH y de concentración de oxígeno disuelto, este sistema ha sido desarrollado por el Politecnico di Milano en cooperación con SPES (Fabriano, AN, Italia). En la Figura 3.1, se observa una fotografía del sistema, donde se aprecia la posibilidad de la conexión de diversos actuadores o sondas.



Figura 3.1: Fotografía del instrumento (a) frontal y (b) posterior

El equipo básico de titulación está constituido por un recipiente donde tiene lugar la reacción, sondas de oxígeno y temperatura, electrodo de pH, agitador magnético y un sistema automático de adición de las disoluciones titulantes correspondientes (NaOH o HCl para la corrección de pH y H_2O_2 para mantener el oxígeno disuelto en la concentración deseada) (Figura 3.2). Todas las sondas se encuentran conectadas a un ordenador donde se recopilan los datos experimentales.

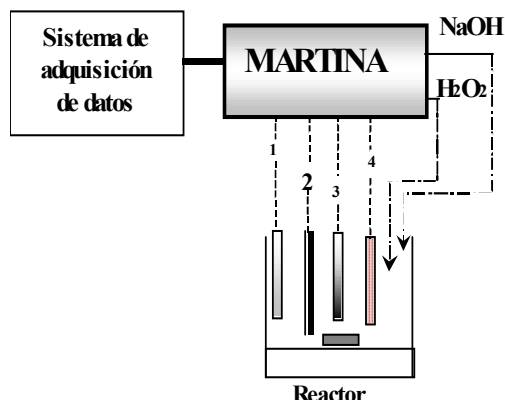


Figura 3.2: Esquema de la unidad de titulación, sondas: (1) potencial redox, (2) temperatura (Pt100), (3) pH y (4) oxígeno.

Adicionalmente es posible además conectar a un canal del sistema una sonda de medida del potencial de oxidación-reducción, que facilita información adicional de las condiciones en las que se realiza el ensayo, ya que esta medida no proporciona información directa sobre la actividad.

La adquisición de los datos se realiza transformando la señal eléctrica analógica obtenida en la prueba en una señal digital, mediante el paso de esta señal a través de un convertidor analógico digital. Éste envía la señal transformada al ordenador donde un programa diseñado especialmente almacena las medidas (Figura 3.3).

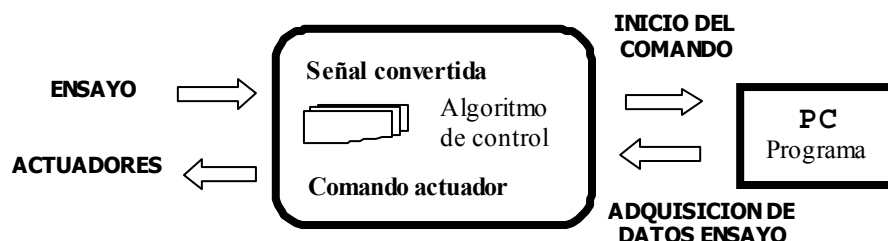


Figura 3.3: Funcionamiento del sistema controlado automáticamente

Dependiendo del ensayo a realizar, el sistema puede operar en dos modalidades diferentes fijando o bien un límite superior (Figura 3.4a) o inferior (Figura 3.4b) respecto a los valores de los parámetros de referencia pre-establecidos (pH y O.D). La elección de la modalidad de operación viene dada por las características de la reacción que tendrá lugar.

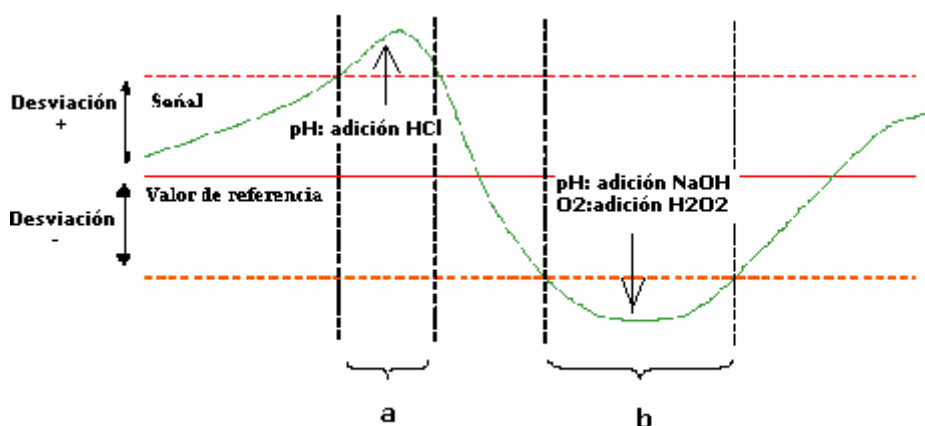


Figura 3.4: Esquema de las modalidades de control respecto al valor de referencia (a) desviación superior, control de pH mediante adición de ácido (b) desviación inferior al control de pH y de O.D, ajuste del pH mediante la adición de álcali y control de oxígeno mediante la adición de H_2O_2 .

Los ensayos de nitrificación se realizaron en la modalidad en la que se fija un valor límite superior de pH y O_2 (Figura 3.4b). Esto significa que si el valor de la señal es menor que el valor de referencia preestablecido se adiciona disolución titulante, con objeto de alcanzar el valor de referencia.

Previa a la utilización del instrumento se realizaron las calibraciones de las diferentes sondas utilizadas. El procedimiento de calibración del pH-metro y de la

sonda de temperatura se realiza una vez por semana y se controla diariamente según se describe en el apartado 2.2.1 del capítulo 2. La calibración de la sonda de oxígeno disuelto y las electroválvulas se describen a continuación:

- ❑ **Sonda de O.D.:** Se calibra con aire saturado con agua, colocándola próxima a la superficie de un recipiente con agua.
- ❑ **Electroválvulas:** se mide el volumen de la disolución de titulante adicionada en un determinado tiempo de apertura y cierre de la válvula para cuantificar la cantidad media adicionada. Después de realizar pruebas de calibración en las dos electroválvulas para las disoluciones titulantes a diferentes tiempos de apertura y de cierre se establecieron los siguientes tiempos. La electroválvula que adiciona NaOH se programó con un tiempo de apertura de 1 segundo y de cierre 1,5 segundos y para la electroválvula que adiciona H_2O_2 el tiempo de apertura se fijó en 2 segundos y el tiempo de cierre en 3 segundos. Dichas actuaciones garantizan que durante los períodos de cierre de las electroválvulas se produzca la correcta mezcla de los reactivos en el reactor y la disociación completa del H_2O_2 , antes de que se realice una nueva adición de este reactivo.

La sonda de potencial redox no necesitó una calibración especial ya que la señal generada corresponde a una señal eléctrica proporcionada por la sonda y el interés de la medida reside más en las variaciones de dicho potencial redox que en su valor absoluto.

3.2.2.- Ensayos realizados

3.2.2.1.- Determinación de actividades nitrificantes de lodos activados

Las muestras de lodo utilizados en los ensayos nitrificación se obtuvieron en dos EDARs: Planta de tratamiento de aguas residuales industriales San Giuliano (Milano) y planta de tratamiento de aguas residuales municipales Peschiera del Garda (Verona).

Las muestras de fango de la planta de Peschiera del Garda (Verona) se almacenaron a 4°C en condiciones anóxicas durante un periodo inferior a un mes. Con objeto de restablecer la actividad del lodo nitrificante después del período de almacenamiento se dejaron las muestras a temperatura ambiente en aireación durante toda la noche, y se adicionó una concentración de 10 mg $N-NH_4^+/L$. Antes de la realización de las pruebas, las muestras de lodo se lavaron con la correspondiente disolución descrita anteriormente y de acuerdo al procedimiento descrito por Ficara y Rozzi (2001).

Una muestra de lodo nitrificante (0,25-0,5 L), en fase de respiración endógena se transfirió al vaso del sistema donde se mantuvo agitada (Figura 3.5). Los experimentos se desarrollaron a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$. La concentración de biomasa presente en el reactor se fijó alrededor de 2-3 g SST/L. Los valores de pH_{eq} y la concentración de oxígeno disuelto en el licor de mezcla establecidos como referencia se determinaron previamente; en este caso se fijaron un pH_{eq} de 8,3, valor medio característico del lodo, y una concentración de oxígeno disuelto de 8,3 mg O_2/L , para asegurar la realización de los ensayos en condiciones de saturación.

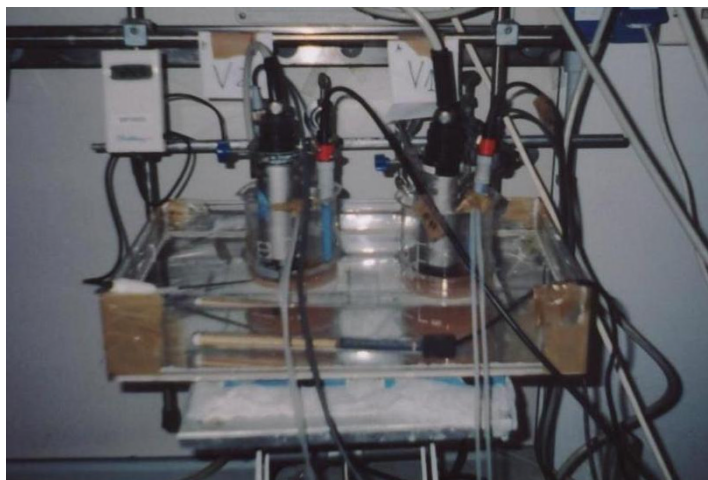


Figura 3.5: Fotografía de un ensayo en condiciones aerobias

Se realizaron ensayos conjuntos de actividad amonio y nitrito oxidante, en los que tras 30 minutos sin sustrato se adicionó nitrito para obtener una concentración inicial de 10 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$ y después de un intervalo de tiempo se adicionó amonio para obtener en el reactor una concentración inicial de 3,5 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$. Se escogieron las concentraciones de sustrato mencionadas anteriormente, ya que los lodos empleados en los ensayos tenían constantes de afinidad bajas, y la adición de mayores concentraciones de sustrato incrementaría el tiempo del ensayo.

3.2.2.2.- Determinación de actividades amonio oxidantes de biomasa proveniente de un reactor SHARON.

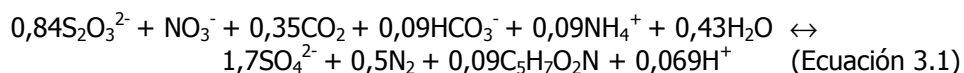
Se determinó la actividad amonio oxidante de muestras de lodos tomadas de un reactor SHARON (Single reactor High activity Ammonia Removal Over Nitrite) de 5 L alimentado con influente sintético (1 g $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$ y 20 g NaCl/L) que operó

con un tiempo de retención hidráulico (TRH) de 1 día, 34°C, pH 7,0-7,5 y una concentración de oxígeno 3 mg O₂/L (Mosquera-Corral *et al.*, 2005).

Los ensayos se desarrollaron agregando cada 20 minutos los correspondientes volúmenes de sustrato (cloruro de amonio) hasta alcanzar la máxima concentración deseada. Se adicionaron secuencialmente concentraciones de 5, 10, 30, 50, 80, 120 y 170 mg N-NH₄⁺/L. Los experimentos se desarrollaron a 30°C con una concentración de biomasa comprendida entre 2 y 3 g SSV/L.

3.2.2.3.- Estimación de parámetros cinéticos de una biomasa desnitrificante autótrofa.

Para los ensayos de actividad desnitrificante se utilizaron muestras de biomasa desnitrificante autótrofa. El proceso de desnitrificación autótrofa se ajusta a la reacción descrita en la ecuación 3.1. La biomasa oxida tiosulfato para reducir el NO_x⁻ a N₂ gas. Las principales características de operación del reactor del que se extrajeron las muestras están descritas por Kleerebezem y Méndez (2002).



Antes de la realización de los ensayos, las muestras de biomasa desnitrificante se lavaron con la disolución de lavado indicada anteriormente y se gasificó con N₂ durante 20 min para asegurar condiciones anóxicas (Figura 3.6). Los ensayos se realizaron a 30°C con un volumen total de 0,25 L y una concentración de biomasa menor a 1 g SSV/L. Se empleó la sonda de potencial redox para verificar las condiciones anóxicas del sistema.

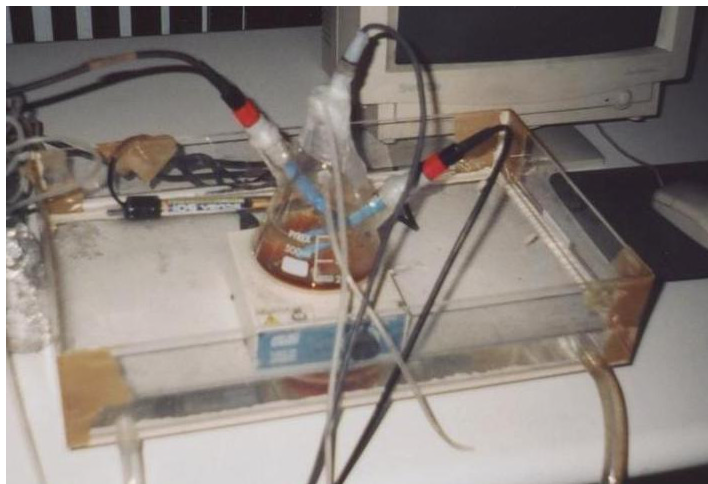


Figura 3.6: Ensayo en condiciones anóxicas, empleando MARTINA.

Se determinaron los parámetros cinéticos de la biomasa desnitrificante autótrofa realizando en duplicado 3 ensayos, en los que se emplearon diferentes concentraciones y relaciones de N-NO_3^- y $\text{S-S}_2\text{O}_3^{2-}$ (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Experimentos desarrollados con las muestras de biomasa de desnitrificación autótrofa.

Ensayos	Concentración de sustrato en el licor de mezcla		g SSV/L	pH_{eq}	Temperatura (°C)
	mg N-NO_3^- /L	mg $\text{S-S}_2\text{O}_3^{2-}$ /L			
A	3,2	12	0,5-0,8	8,0	30
B*	10	100	0,5-0,8	8,0	30
C*	100	10	0,5-0,8	8,0	30

(*) Los ensayos B y C se realizaron con muestras de biomasa desnitrificante almacenadas por un periodo dos semanas.

En el ensayo A, se determinó la velocidad específica máxima de consumo de sustrato utilizando la relación estequiométrica S/N de 3,7 encontrada experimentalmente por Oh *et al.*, (2000). Los valores de la constante de afinidad (K_s) para cada sustrato se obtuvieron a partir de los ensayos B (10 mg N-NO_3^- /L y 100 mg $\text{S-S}_2\text{O}_3^{2-}$ /L) y C (100 mg N-NO_3^- /L y 10 mg $\text{S-S}_2\text{O}_3^{2-}$ /L), en los que el sustrato limitante será el nitrato para el ensayo B y el sulfato en el ensayo C.

Los ensayos para la determinación de los parámetros cinéticos finalizaron cuando el sustrato limitante se ha consumido, que corresponde a la disminución de la pendiente a valores correspondientes a condiciones endógenas.

3.2.2.4.- Ensayos de inhibición sobre biomasa nitrificante

Los ensayos de inhibición se realizaron con el lodo proveniente de la planta industrial de tratamiento de San Giuliano (Italia). Se determinó el efecto inhibitorio de dos formulaciones comúnmente empleadas y presentes en las aguas residuales de curtiembres (sales de cromo y una mezcla de cloruro de sodio y sulfato de sodio) sobre las bacterias amonio y nitrito oxidante.

Las sales de cromo utilizadas se caracterizan por ser sales autobasificantes, constituidas principalmente por sulfato de cromo, correspondiendo un 27-33% (p/v) de Cr_2O_3 .

Para estudiar el efecto de las sales de cloruro de sodio y sulfato de sodio se utilizó una relación $\text{Cl}^-/\text{SO}_4^{2-}$ de 1,67 que corresponde a la que típicamente

presentan las aguas residuales tratadas en la planta real de donde proviene el lodo.

Para poder determinar el efecto inhibitorio que presentan estas formulaciones sobre las bacterias amonio y nitrito oxidantes, se realizaron ensayos en paralelo utilizando dos reactores de manera que los datos obtenidos se complementen (Figura 3.7).

En el reactor 1, se adicionó como sustrato inicialmente una disolución de NaNO_2 para alcanzar una concentración en el vial de $12 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L}$, transcurridos 30 minutos se añadió una disolución de NH_4Cl para alcanzar una concentración de $10 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{L}$ y posteriormente cada 20 minutos se adicionaron diferentes volúmenes de disolución inhibitoria a evaluar hasta alcanzar la máxima deseada, 8 g/L para las sales de cromo y $0,04 \text{ mol/L}$ de la mezcla de sales de NaCl y Na_2SO_4 . A partir de la curva de consumo de disolución alcalina se obtuvo solo el efecto inhibitorio de los compuestos sobre la actividad amonio oxidante en la que se produce H^+ . Con la curva de adición de H_2O_2 se determinó el efecto inhibitorio sobre las actividades amonio oxidante y nitrito oxidante.

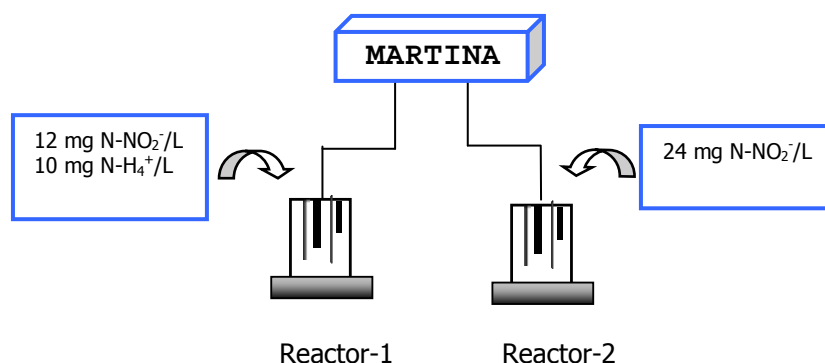


Figura 3.7: Esquema de la metodología aplicada para los ensayos de inhibición con sales de cromo y la mezcla de sales

En el reactor 2, inicialmente solo se adicionó una disolución de nitrito de sodio hasta alcanzar en el vial una concentración de $24 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{L}$ como sustrato, posteriormente se agregó con intervalos de 20 minutos la misma concentración de compuesto inhibitorio adicionada al reactor 1, de acuerdo a la metodología descrita en el capítulo 2 (apartado 2.2.2.2). Por tanto, en el reactor 2, solo se determinó el efecto inhibitorio de las soluciones sobre la actividad nitrito oxidante a partir de la curva de consumo de H_2O_2 , ya que por las características de la reacción no hay variación de pH.

Al final de cada ensayo con objeto de verificar una posible interferencia del compuesto se adicionaron 10 mg ATU/L con objeto de inhibir las bacterias amonio oxidantes y 10 mg ClO_3^-/L para inhibir tanto las bacterias amonio y nitrito oxidantes.

3.2.3.- Cálculo de parámetros cinéticos

3.2.3.1.- Biomasa nitrificante

Para estimar los parámetros cinéticos, velocidad máxima y constante de afinidad de biomasa nitrificante, se emplearon los datos obtenidos experimentalmente de la cantidad de disolución titulante adicionada en función del tiempo. A partir de estos datos con los respectivos coeficientes estequiométricos se obtuvieron los perfiles de sustrato consumido. Se determinaron además, las correspondientes velocidades de consumo en función de la concentración y se ajustaron los datos de velocidad de consumo frente a la concentración de sustrato usando la ecuación de Monod (ecuación 3.2), estimándose de esta forma parámetros como $V_{\max}$ y K_s utilizando como criterio de aceptación el método de los mínimos cuadrados (Ficara *et al.* 2000).

$$V_{esp} = V_{\max} * \left(\frac{S}{S + K_s} \right) \quad (\text{Ecuación 3.2})$$

donde;

V_{esp} : velocidad específica de consumo de sustrato (g sustrato/g SSV·h)

$V_{\max}$: velocidad máxima de consumo de sustrato (g sustrato/g SSV·h)

K_s : constante de afinidad por el sustrato (g sustrato/L)

S: concentración de sustrato (g sustrato/L)

3.2.3.2.- Biomasa desnitrificante autótrofa

Los parámetros cinéticos de la biomasa desnitrificante autótrofa se determinaron utilizando una función doble de Monod (ecuación 3.3), que tiene en cuenta el efecto de la concentración de cada uno de los dos sustratos empleados (NO_3^- y $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$).

$$V_{esp} = V_{\max} * \left(\frac{S_N}{S_N + K_{SN}} \right) \left(\frac{S_S}{S_S + K_{SS}} \right) \quad (\text{Ecuación 3.3})$$

donde;

V_{esp} : velocidad específica de consumo de sustrato (g sustrato/g SSV·h)

$V_{\max}$: velocidad máxima de consumo de sustrato (g sustrato/g SSV·h)
 K_{SN} y K_{SS} : constante de afinidad para $N-NO_3^-$ y $S-S_2O_3^{2-}$, respectivamente
 S_N y S_S : concentración de sustrato, $N-NO_3^-$ y $S-S_2O_3^{2-}$, respectivamente

3.2.3.3.- Parámetros de inhibición sobre biomasa nitrificante

El porcentaje de inhibición se estimó como la relación entre la velocidad de flujo de la disolución titulante medida en presencia de una determinada concentración de la sustancia evaluada y la medida después de la adición del sustrato, tal como se describe en el capítulo 2 (apartado 2.2.3.2)

Para estimar el valor de IC_{50} , los datos de concentración de compuesto inhibitorio y porcentaje de inhibición se adaptaron a la función sigmoideal descrita en la ecuación 2.3.

3.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1.- Determinación de actividades amonio y nitrito oxidantes.

En esta serie de ensayos se determinó y comparó la actividad amonio oxidante para los lodos provenientes de las dos plantas de tratamiento citadas anteriormente. Se emplearon las disoluciones titulantes de NaOH y H_2O_2 , correlacionando la adición de la disolución de álcali directamente con la actividad amonio oxidante. La disolución de peróxido de hidrógeno compensa el consumo oxígeno debido a la oxidación de amonio a nitrato y de nitrito a nitrato.

En las Figuras 3.8a y 3.8b, se presentan las curvas típicas de adición de base y de peróxido de hidrógeno obtenidas durante un experimento de titulación realizado a 25°C, un pH_{eq} de 8,3 y una concentración de oxígeno disuelto de 8,3 mg/L, siendo el volumen de licor de mezcla 500 mL. En el ensayo se adicionaron 4 mg $N-NO_2^-/L$ y 3,5 mg $N-NH_4^+/L$ a los 30 y 90 minutos, respectivamente.

En las Figuras 3.8a y 3.8b, se pueden distinguir tres etapas: En la primera de ambas figuras se observa el consumo de agentes titulantes debido a las condiciones endógenas. La segunda etapa, se inicia tras la adición de nitrito en el sistema, pudiéndose observar un aumento del consumo de H_2O_2 , pero no de NaOH debido a las características de la reacción de nitrito oxidación. La diferencia en la pendiente de consumo de H_2O_2 entre la segunda y la primera etapa se debe al proceso de oxidación de nitrito, lo cual permite el cálculo de la actividad nitrito oxidante.

La segunda etapa del ensayo finaliza tras el agotamiento de nitrito en el sistema lo cual se manifiesta al disminuir la velocidad de consumo de H_2O_2 hasta los

valores propios de la primera etapa, tras lo que se procede a la adición de amonio iniciándose la tercera etapa.

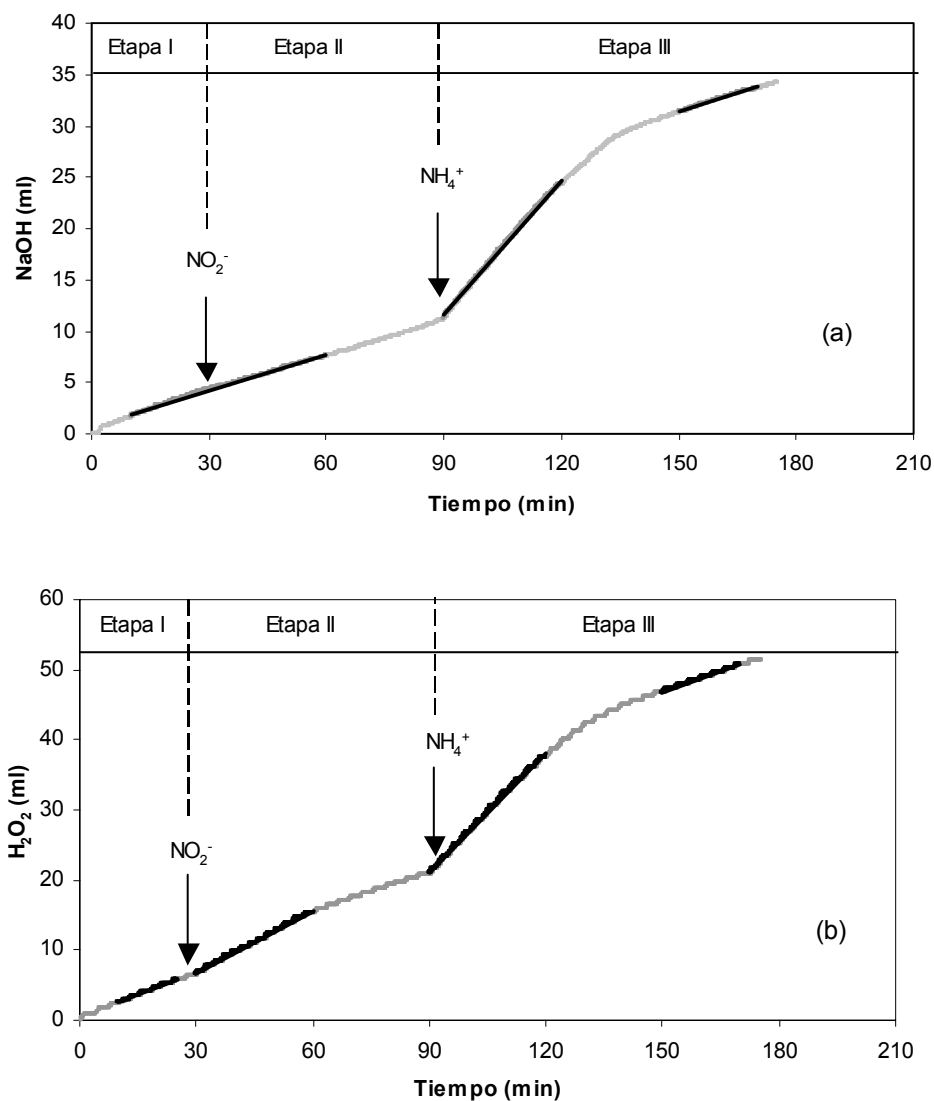


Figura 3.8: Curva típica de titulación empleando (a) NaOH y (b) H₂O₂ como disoluciones titulantes. Las flechas indican los momentos en que tiene lugar la adición de los sustratos.

En la tercera etapa, se produce una variación de la pendiente en la gráfica de consumo de NaOH y H_2O_2 (Figuras 3.8a y 3.8b, respectivamente). El consumo de NaOH se debe solamente al proceso de amonio oxidación lo cual permite determinar dicha actividad. En cuanto a la determinación de la actividad amonio oxidante debido al consumo de H_2O_2 , esta se calcula a partir de la diferencia de pendientes de la segunda y tercera etapa de la Figura 3.8b. Las actividades amonio oxidantes determinadas en paralelo pueden compararse, lo que permite validar la fiabilidad de ambos métodos a la hora de determinar actividades.

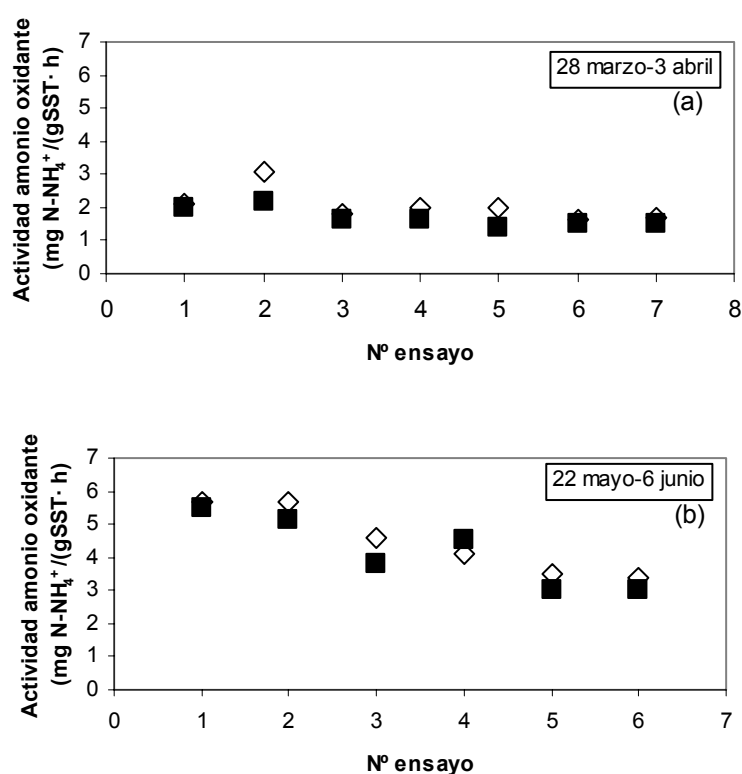


Figura 3.9: Comparación de la actividad amonio oxidante obtenidas a partir de ambas disoluciones titulante (■) NaOH y (◇) H_2O_2 . (a) fango municipal y (b) fango industrial. En el extremo superior de cada gráfica se indica el intervalo de tiempo en las cuales se realizaron los ensayos.

En las Figuras 3.9a y 3.9b se presentan los valores de las actividades amonio oxidante obtenidas a partir de ambas disoluciones titulante para las muestras de lodos provenientes de las EDARs.

En la Figura 3.9a, se presentan los valores de actividad amonio oxidante obtenidos para muestras de fango municipal. Se realizaron una serie de 7 ensayos con el lodo proveniente de la planta de aguas residuales municipales, obteniéndose valores de actividad amonio oxidante entre 1,5 y 3,1 mg N/(g SST·h).

Los valores de la actividad amonio oxidante obtenidos para la biomasa industrial estuvieron comprendidos entre 3,4 y 5,7 mg N/(g SST·h) (Figura 3.9b). La variación de la actividad amonio oxidante que se obtiene, para los dos tipos de lodos, con la disolución de NaOH es en promedio 11% inferior a la que se obtiene con la disolución de H₂O₂. Las actividades obtenidas para ambas muestras de lodo se encuentran dentro del rango típico para un sistema de lodos activos (1,5 y 5 mg N/(g SST·h), lo que concuerda con la procedencia de este fango (Andreottola *et al.* 1990).

En las Figura 3.9b, se observa además que la actividad amonio oxidante de las muestras disminuye con el tiempo, indicando que para obtener una repetibilidad de las medidas es necesario realizar las medidas antes de un mes de almacenamiento, ya que la conservación de la biomasa en condiciones críticas (carencia de sustrato y oxígeno) hacen que la actividad disminuya.

Estimación de parámetros cinéticos para la biomasa nitrificante

Para la determinación de los parámetros cinéticos del lodo proveniente de las dos E.D.A.R's y con el fin de minimizar el error experimental se utilizaron los datos de 5 ensayos que se realizaron consecutivamente durante 13 días para el lodo municipal y 8 días para el lodo industrial.

A partir de los datos de titulación obtenidos experimentalmente y empleando las relaciones estequiométricas correspondientes se obtuvo la curva de oxidación de amonio. El método de mínimos cuadrados se utilizó como criterio de aceptación para la estimación de los parámetros cinéticos mediante el ajuste de las curvas de N oxidado experimental, calculadas a partir de los miliequivalentes de disolución titulante empleada, con la curva de N obtenida teóricamente empleando la ecuación de Monod (Figura 3.10).

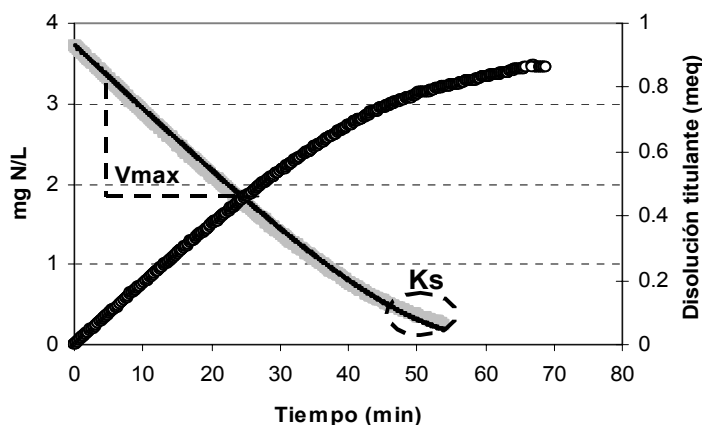


Figura 3.10: Perfil de nitrógeno, para la estimación de los parámetros cinéticos. La $V_{\max}$ es obtenida a partir de la máxima pendiente y la K_s bajo condiciones limitantes de sustrato.

En la Tabla 3.2 se muestran los valores de los parámetros cinéticos ($V_{\max}$ y K_s) que se han obtenido para las bacterias amonio oxidante de las muestras de lodos municipales e industriales.

Tabla 3.2. Comparación de los parámetros cinéticos obtenidos para biomasa amonio oxidante usando las dos soluciones en MARTINA.

	$V_{\max}$ (mg N-NH ₄ ⁺ /(g SST·h))		K_s (mg N-NH ₄ ⁺ /L)	
	NaOH	H ₂ O ₂	NaOH	H ₂ O ₂
Lodo Industrial				
promedio	2,40±0,11	2,50±0,18	0,34±0,04	0,36±0,08
CV (%)	4,4	7,5	12,9	19,4
Lodo municipal				
promedio	1,70±0,35	1,50±0,30	0,68±0,15	0,48±0,14
CV (%)	20,5	26,6	22,2	29,7

Número de determinaciones:5

Los valores de la $V_{\max}$ obtenidos mediante titulación con NaOH y H₂O₂ son similares siendo la variación entre los mismos menor de un 12%. La determinación de la constante de afinidad muestra conclusiones análogas. Los resultados que se obtienen indican que los valores promedio y desviaciones calculados mediante ambos métodos son similares, siendo destacable además que dichos resultados se obtienen para lodos con un valor bajo de la constante

de afinidad, K_s 0,34-0,36 mg N-NH₄⁺/L para el lodo de la EDAR industrial y K_s 0,68-0,48 mg N-NH₄⁺/L para el lodo de la EDAR municipal.

En cuanto a las bacterias nitrito oxidantes, se obtuvieron valores promedio de V_{max} y K_s de $2,80 \pm 0,59$ mg N-NO₂⁻/(g SST·h) y $0,40 \pm 0,08$ mg N-NO₂⁻/L con las muestras de lodo industrial y valores promedio de V_{max} y K_s de $1,00 \pm 0,17$ mg N-NO₂⁻/(g SST·h) y $0,23 \pm 0,02$ mg N-NO₂⁻/L con las muestras de lodo municipal (Tabla 3.3). Los parámetros cinéticos para las bacterias nitrito oxidante se obtuvieron a partir de los datos de titulación con H₂O₂ de acuerdo a las características intrínsecas de la biomasa.

Tabla 3.3: Parámetros cinéticos de biomasa nitrito oxidante estimadas a partir del consumo de H₂O₂.

	V_{max} (mg N-NO ₂ ⁻ /(g VSS·h))	K_s (mg N-NO ₂ ⁻ /L)
Lodo industrial		
promedio	$2,80 \pm 0,60$	$0,40 \pm 0,08$
CV (%)	21,1	19,9
Número de determinaciones: 5		
Lodo municipal		
promedio	$1,00 \pm 0,17$	$0,23 \pm 0,02$
CV (%)	17,3	6,71
Número de determinaciones: 4		

Los valores del coeficiente de variación obtenidos en la determinación de los parámetros cinéticos de la biomasa coinciden con el rango obtenido en ensayos previos desarrollados por Rozzi *et al.* (2000), utilizando un sistema de titulación llamado ANITA-DOstat que al igual que MARTINA combina las medidas de pH y concentración de oxígeno disuelto. Hay que destacar que los valores obtenidos en este estudio para el lodo industrial coinciden con los que encontraron previamente en la misma depuradora Ficara y Rozzi (2001) usando el sistema de titulación ANITA.

Los bajos valores de K_s obtenidos indican que existe una alta afinidad por el sustrato y es posible obtener un efluente de buena calidad. Dichos valores son similares a los encontrados por Hanaki *et al.* (1990) quienes obtuvieron valores de K_s para bacterias amonio oxidantes y nitrito oxidantes de 1 mg N/L y 0,35 mg N/L, respectivamente. Hunik *et al.* (1992) indicaron la influencia del pH sobre los parámetros cinéticos de las bacterias amonio oxidantes, obteniendo valores de K_s para una misma muestra de lodo de 6,44-5,36 mg/L a pH 8,0 y de 2,66-2,38 mg/L a pH 8,5 en ensayos realizados en un respirómetro. Miloslav *et al.* (1993), también mediante respirometría, obtuvieron valores de K_s para bacterias amonio oxidante entre 0,33 y 0,56 mg/L.

El lodo de la EDAR municipal muestra una actividad amonio oxidante ($1,7\text{--}1,5 \text{ mg N-NH}_4^+ / (\text{g SST} \cdot \text{h})$) mayor que la nitrito oxidante ($1 \text{ mg N-NO}_2^- / (\text{g SST} \cdot \text{h})$), indicando que en condiciones de sobrecarga se podría tener acumulación de nitrito. En cambio, para las muestras de lodo industrial la etapa limitante es la amonio oxidante, ya que los valores de actividad amonio oxidante ($2,4 \text{ y } 2,5 \text{ mg N-NH}_4^+ / (\text{g SST} \cdot \text{h})$) son menores a la actividad nitrito oxidante $2,8 \text{ mg N-NO}_2^- / (\text{g SST} \cdot \text{h})$ por lo que no debería haber problemas de acumulación de nitrito.

3.3.2.- Parámetros cinéticos de biomasa del reactor SHARON

El proceso SHARON es un sistema amonio oxidante de alta carga en que se logra una nitrificación parcial de amonio a nitrito (Van Dongen *et al.* 2000).

La estimación de los parámetros cinéticos, $V_{\max}$ y K_s para las muestras de lodo amonio oxidante del sistema SHARON se resumen en la tabla 3.4.

Tabla 3.4: Parámetros cinéticos de biomasa amonio oxidante

	$V_{\max}$ (mg N-NH ₄ ⁺ /(g SST·h))	K_s (mg N-NH ₄ ⁺ /L)
NaOH	15,7±4,2	15,4±0,1
H ₂ O ₂	11,8±6,9	17,7±10,4

Al comparar los valores de los parámetros cinéticos obtenidos, se observa que la actividad amonio oxidante obtenida a partir de los datos con NaOH presenta una variación de un 25% superior a la actividad estimada con H₂O₂, siendo la variación de K_s de un 13% superior a la obtenida de los datos de titulación con NaOH. Los valores de K_s obtenidos para este tipo de biomasa son bastante más altos que los obtenidos con las muestras de biomasa nitrificante de las EDARs.

3.3.3.- Parámetros cinéticos de una biomasa desnitrificante autótrofa

Los ensayos realizados fijando una relación S/N en 3,7 similar a la estequiométrica, han servido para determinar la velocidad específica máxima de las bacterias desnitrificantes autótrofas, determinándose una actividad de $51,04 \pm 9,24 \text{ mg N-NO}_3^- / (\text{g SSV} \cdot \text{h})$.

Las constantes de afinidad para el nitrato y el tiosulfato se obtuvieron a partir de dos ensayos B y C, con una concentración para el ensayo B de $10 \text{ mg N-NO}_3^- / \text{L}$ y $100 \text{ mg S S}_2\text{O}_3^{2-} / \text{L}$ y para el ensayo C una concentración de $10 \text{ mg S S}_2\text{O}_3^{2-} / \text{L}$ y $100 \text{ mg N-NO}_3^- / \text{L}$. En la Tabla 3.5 se indican los resultados de los parámetros cinéticos obtenidos en los ensayos, donde K_{SS} indica el coeficiente de afinidad del S-S₂O₃²⁻ y K_{SN} el coeficiente de afinidad por N-NO₃⁻.

Tabla 3.5: Resumen de los parámetros cinéticos para biomasa desnitrificante autótrofa.

Ensayo	Parámetros cinéticos	
A	Vmax [mg N-NO ₃ ⁻ /(g SSV·h)]	51,04 ± 9,24
B	Vmax [mg N-NO ₃ ⁻ /(g SSV·h)]	25,5 ± 0,6
	Ks [mg N-NO ₃ ⁻ /L]	1,30 ± 0,14
C	Vmax [mg S-S ₂ O ₃ ²⁻ /(g SSV·h)]	150,2 ± 32,6
	Ks [mg S-S ₂ O ₃ ²⁻ /L]	32,4 ± 3,04

Al comparar los valores de la constante de afinidad del nitrógeno (K_{SN}) obtenidos en los ensayos con valores de la bibliografía se observa que se encuentran dentro del orden obtenido por otros autores con ensayos realizados en discontinuo. Claus *et al.* (1985), Kim y Son (2000), Oh *et al.* (2000) obtuvieron valores de K_{SN} de 0,2 mg N-NO₃⁻/L, 7 mg N-NO₃⁻/L y entre 3-10 mg N-NO₃⁻/L, respectivamente. No se ha podido comparar los valores de la constante de afinidad del azufre K_{SS} al no haberse encontrado esta información en la bibliografía.

3.3.4.- Ensayos de inhibición

Se realizaron ensayos de inhibición con lodo industrial utilizando sales de cromo y mezcla de sales de cloruro de amonio y sulfato de amonio que habitualmente se encuentran en las aguas de curtidurías.

La Figura 3.11 muestra los valores promedios obtenidos de los ensayos de inhibición con sales de cromo sobre las bacterias amonio y nitrito oxidantes. En ella se puede observar el efecto inhibitorio sobre las dos poblaciones de biomasa nitrificante para una determinada concentración de sales de cromo. Los ensayos se realizaron monitorizando la variación de oxígeno disuelto, por tanto, los resultados se obtuvieron a partir de los volúmenes consumidos de la disolución de peróxido de hidrógeno, ya que el cambio de pH producto de la adición de una disolución de álcali hace que las sales de cromo precipiten en forma de Cr(OH)₃.

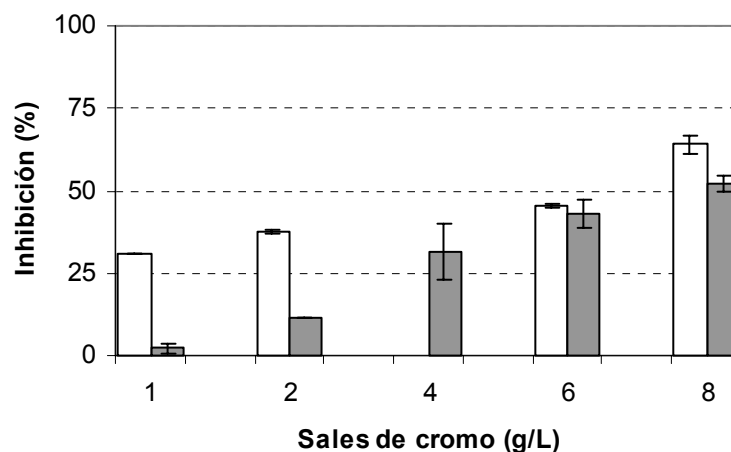


Figura 3.11: Porcentajes de inhibición para diferentes concentraciones de sales de cromo para las bacterias(□) amonio oxidante y (■) nitrito oxidante.

La Figura 3.12 muestra los valores de IC_{50} (concentración del compuesto evaluado que reduce la actividad en un 50%) calculados a partir de la función sigmoideal (ecuación 2.3) descrita en el capítulo anterior, que relaciona el porcentaje de inhibición con la concentración de sustancia inhibidora. Se obtuvo un valor de IC_{50} para las bacterias nitrito oxidante de 7,45 g sales de cromo/L equivalentes a 1,3 mol Cr^{+3} /L y para las bacterias amonio oxidante de 4,46 g sales de cromo/L equivalentes a 0,8 mol Cr^{+3} /L. Los resultados muestran que para la misma concentración de sales de cromo el porcentaje de inhibición es mayor en las bacterias amonio oxidante con respecto a las bacterias nitrito oxidante, lo que concuerda con lo mencionado por diversos autores que las bacterias amonio oxidante muchas veces son más sensibles al efecto de diversos compuestos tóxicos que las bacterias nitrito oxidante.

El IC_{50} de la biomasa heterótrofa no se determinó, ya que para una concentración de 8 g sales de cromo/L solo se alcanzó un 45% inhibición. Esto estaría en línea con la información dada por diferentes autores que indican que las bacterias heterótrofas son más resistentes al efecto inhibitorio de diferentes compuestos que las bacteria nitrificantes (Blum y Speece, 1991; Kong *et al.* 1996; Tendaj *et al.* 1992). Sin embargo, otros autores opinan lo contrario, como una regla general mencionan que las bacterias nitrificantes no son más sensibles a sustancias tóxicas que otras bacterias presentes en las plantas de tratamiento (Henze *et al.* 1996).

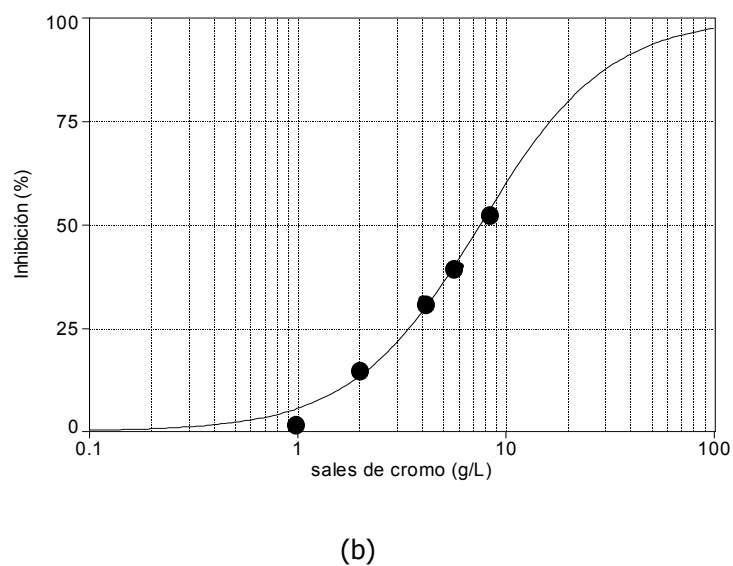
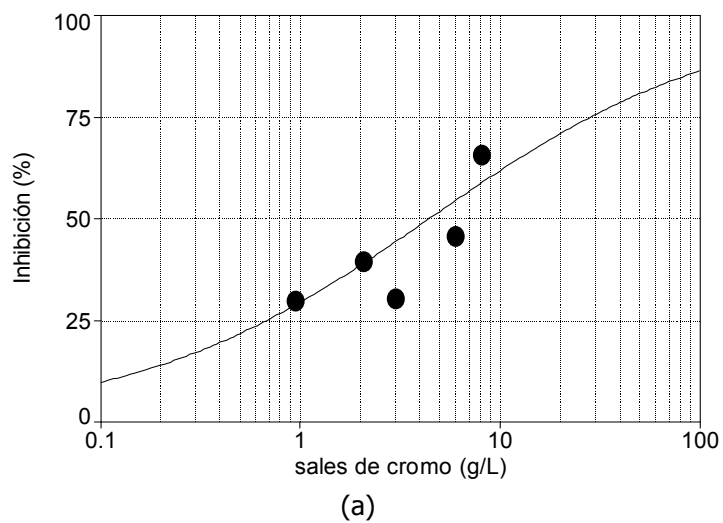


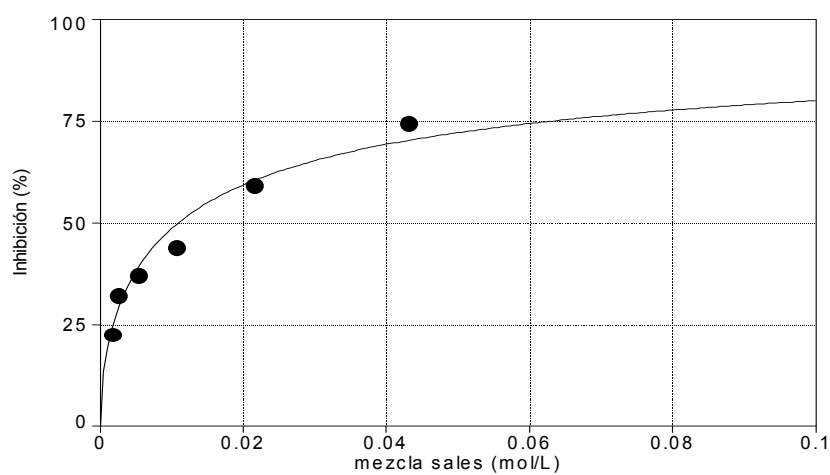
Figura 3.12: Determinación del IC_{50} sobre la biomasa (a) amonio oxidante y (b) nitrito oxidante empleando sales de cromo

Se obtuvieron valores de IC_{50} para la biomasa nitrificante y de " IC_{45} " para las bacterias heterótrofas más elevados que las concentraciones de cromo total presente en las aguas residuales de la corriente de curtidos y recurtidos, ya que estas corrientes presentan concentraciones en torno a 0,015-4,9 g cromo total/L (Rivela *et al.* 2003). Orhon *et al.* (2000) encontraron valores de 136 mg cromo total/L en el agua residual de un estanque de homogenización previa a ser sometida a un pretratamiento físico-químico que tiene por objeto la precipitación del cromo. Hay que tener en cuenta que la corriente de curtido suele mezclarse con las otras corrientes que se generan en el proceso, lo que hace disminuir la concentración de estos compuestos, y por tanto disminuye cualquier posible efecto sobre el lodo.

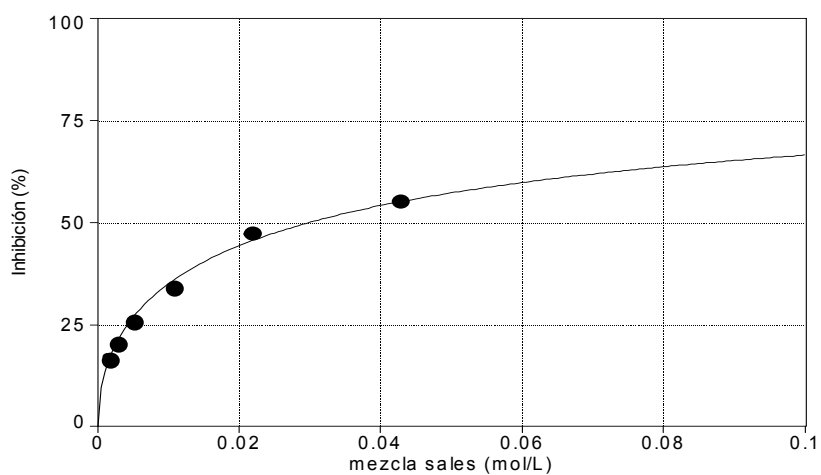
Mezcla de sales de cloruro de sodio y sulfato de sodio

Al igual que para las sales de cromo, se determinó el IC_{50} para las bacterias nitrito y amonio oxidante, mediante el ajuste del porcentaje de inhibición y la concentración de la mezcla de sales empleando la función sigmoideal. En la Figura 3.13, se observan los porcentajes de inhibición para diferentes concentraciones de sales. Se obtuvo un IC_{50} para las bacterias amonio oxidante y nitrito oxidante de $0,011 \pm 0,004$ mol/L y $0,029 \pm 0,007$ mol/L, respectivamente.

Una concentración de 0,04 mol/L causó una reducción del 35% de la actividad heterótrofa, por tanto, no se observó un efecto significativo de la mezcla de sales sobre la biomasa heterótrofa.



(a)



(b)

Figura 3.13: Estimación IC_{50} empleando cloruro de sodio y sulfato de sodio en una relación Cl^-/SO_4^{2-} de 1,67 sobre (a) biomasa amonio oxidante y (b) nitrito oxidante.

Diferentes autores han obtenido reducciones entre un 20-50% de la eficacia de oxidación de amonio a concentraciones de NaCl similares al agua de mar. Hunik *et al.* (1992) realizaron ensayos de inhibición empleando sales como NaCl y KCl, observándose para cada sal utilizada el mismo efecto de inhibitorio sobre la biomasa. La similitud de los resultados puede deberse al efecto de la presión osmótica a altas concentraciones de sales y no a la composición de la sal.

Al analizar los coeficientes de variación para cada concentración de la mezcla de sales se observa una aceptable repetibilidad (Tabla 3.6). En efecto, al analizar el CV del IC_{50} para la serie de 5 muestras se observa que los coeficientes de variación obtenidos en estos ensayos fueron similares a los obtenidos por Ficara y Rozzi (2001) en ensayos de inhibición empleando un sistema de titulación.

Tabla 3.6: Resumen del porcentaje de inhibición sobre bacterias amonio y nitrito oxidantes de una serie de 5 ensayos.

Concentración mezcla de sales (x 10^{-3} mol/L)	Amonio oxidante			Nitrito oxidante		
	Promedio	Desv. Stand	CV (%)	Promedio	Desv. Stand	CV (%)
1,3	22	8,9	39,6	16,6	8,8	52,8
2,67	33	10,6	32,4	20,4	5,8	28,3
5,33	37	11,2	30,2	25,4	6,7	26,3
10,7	44	10,5	23,8	34,2	8,3	24,3
21,3	59	4,4	7,4	47,3	5,4	11,5
42,7	75	6,0	8,0	55,4	3,5	6,3
IC_{50} (mol/L)	0,011	0,004	35,4	0.029	0,007	24,8

3.4.- CONCLUSIONES

Al comparar la operación de los sistemas MARTINA y ANITA, la diferencia fundamental es que en el primer sistema es posible caracterizar reacciones en las cuales existe variación de pH o de la concentración de oxígeno disuelto, obteniendo mediciones en forma independiente.

El sistema MARTINA puede ser usado para determinar simultáneamente los parámetros cinéticos de las dos etapas de la nitrificación, usando para ello los datos sobre el gasto de la disolución de peróxido de hidrógeno, consumido por ambas reacciones, y el gasto de NaOH, consumido por la etapa amonio oxidante. Al comparar los resultados de las actividades amonio oxidante obtenidos de los datos usando las dos unidades de titulación, éstos muestran una muy buena reproducibilidad.

El sistema de titulación ha sido satisfactoriamente usado para determinar parámetros cinéticos como $V_{\max}$ y K_s para cada etapa de la nitrificación, proporcionando una mayor información acerca de las características de la biomasa. Para el lodo industrial $V_{\max}$ de 2,4-2,5 mg N-NH₄⁺/(g SST·h) en la etapa amonio oxidante y 2,8 mg N-NO₂⁻/(g SST·h) nitrito oxidante, respectivamente. Para el lodo municipal $V_{\max}$ de 1,5-1,7 mg N-NH₄⁺/(g SST·h) en la etapa amonio oxidante y 1 mg N-NO₂⁻/(g SST·h) nitrito oxidante respectivamente. Valores de K_s para la etapa amonio oxidante 0,34-0,36 mg N-NH₄⁺/L y nitrito oxidante 0,4 mg N-NO₂⁻/L del lodo industrial y para el lodo municipal para la etapa amonio oxidante 0,48-0,68 mg N-NH₄⁺/L y nitrito oxidante 0,23 mg N-NO₂⁻/L, indicando los valores de K_s una buena afinidad por el sustrato.

Con pequeñas modificaciones a MARTINA es posible caracterizar la biomasa de algunas reacciones de desnitrificación. El sistema se destaca por ser un método de alta posibilidad de adaptación para ajustar las condiciones de los ensayos, ya que es posible detectar pequeños cambios de pH. En la desnitrificación autótrofa, 0,069 moles de H⁺ son producidos por mol de N-NO₃⁻.

Los resultados experimentales confirman la aplicabilidad de este sistema de titulación para realizar ensayos de inhibición, especialmente determinar el efecto inhibitorio sobre los dos grupos de bacterias nitrificantes y sobre biomasa heterótrofa. Los valores de IC₅₀ obtenidos para las sales de cromo 4,46 g/L para las bacterias amonio oxidante y 7,45 g/L para las bacterias nitrito oxidante y para la mezcla de sales 0,011 mol/L para las bacterias amonio oxidante y 0,029 mol/L para las bacterias nitrito oxidante, estos valores se encuentran dentro del intervalo de las concentraciones habituales de estos compuestos presentes en las aguas residuales de curtiembres.

Comparando la metodología empleada en estos ensayos con otros métodos convencionales, esta técnica es rápida, requiere una carga analítica mínima, los ensayos tanto de determinación de parámetros cinéticos como de inhibición son realizados en un período no superior a 2-3 horas y sus resultados son confiables. Además, dependiendo de las características de la reacción a seguir o de las propiedades de los compuestos inhibitorios es posible emplear de manera complementaria o independiente la sonda de pH o de oxígeno.

3.5.- REFERENCIAS

Alleman J.E. (1985) Elevated nitrite occurrence in biological wastewater treatment systems. *Water Science Technology*, **17**(2-3), 409-419.

Andreottola G., Canziani R. and Cossu R. (1990) Rimozione Biologica dei Nutrienti dalle acque di scarico. Published by Istituto per l'Ambiente, Milano, pp. 59.

Belser L.W. and Mays E.L. (1980) Specific inhibition of nitrite oxidation by chlorate and its use in assessing nitrification in soils and sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **39**, 505-510.

Blum D.J.W. and Speece R.E. (1991) A database of chemical toxicity to environmental bacteria and its use in interspecies comparisons and correlations. *Res. J. Water Pollut. Control Fed.*, **63**, 198-207.

Čech J.S., Chudoba J. and Grau P. (1984) Determination of kinetic constants of activated sludge microorganisms. *Water Science Technology*, **17**, 259-272.

Claus G. and Kutzner H. J. (1985). Physiology and kinetics of autotrophic denitrification by *Thiobacillus denitrificans*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 283-288.

Corman A. and Pave A. (1983) On parameter estimation of Monod's bacterial growth model from batch culture data. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, **29**, 901-101.

Chudoba J., Čech J. and Chudoba P. (1985) The effect of aeration tank configuration on nitrification kinetics. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **57**, 1078-1083.

Drtil M., Németh P. and Bodik I. (1993) Kinetic constant of nitrification. *Water Research*, **27**, 35-39.

Ficara E. Musumeci A. and Rozzi A. (2000) Comparison and combination of titrimetric and respirometric techniques to estimate nitrification kinetics parameters. *Water S.A.* **26**(2), 217-224.

Ficara E. and Rozzi A. (2001) A standardized pH-stat titration procedure to assess nitrification inhibition. *J. Env. Eng.* **127**(8), 698-704.

Ficara E., Rocco A. and Rozzi A. (2000b) Determination of nitrification kinetics by the ANITA-DOstat biosensor. *Water Science Technology*, **41**(12), 121-128.

Grady C.P.L., Daigger G. T. and Lim H.C. (1999) Biological wastewater treatment. Second Edition, Marcel Decker, Inc., New York.

Hanaki K., Chalermraj W. and Orgaki S. (1990) Effects of activity of heterotrophs on nitrification in a suspended growth reactor. *Water Research*, **24**(3), 289-296.

Henze M., Harremoës P., la Cour Jansen J. and Aruin E. (1996) Wastewater Treatment Biological and Chemical Process Springer-Verlag Berlin, 2nd edition.

Hunik J.H., Tramper J. and Meijer H.G. (1992) Kinetics of *Nitrosomonas europaea* at extreme substrate, product, salt concentration. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **37**, 802-807.

Hynes R.K. and Knowles R. (1983) Inhibition of chemo autotrophic nitrification by sodium chlorate and sodium chlorite: a reexamination. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**, 1178-1182.

Kim I. S. and Son J. H. (2000) Impact of COD/N/S ratio on denitrification by the mixed cultures of sulfate reducing bacteria and sulphur denitrifying bacteria. *Water Science Technology*, **42**(3-4), 69-76.

Kleerebezem R. and Méndez R. (2002) Autotrophic denitrification for combined hydrogen sulfide removal from biogas and post-denitrification. *Water Science Technology*, **45**(10), 349-356.

Kong Z., Vanrolleghem P.A., Willems P. and Verstraete W. (1996) Simultaneous determination of inhibition kinetics of carbon and nitrification with a respirometer. *Water Research*, **30**, 825-836.

Mosquera-Corral A., González F., Campos J.L. and Méndez R. (2005) Partial nitrification in a SHARON reactor in presence of salts and carbon compounds. *Process Biochemistry* (in press).

Nowak O, Svardal K. and Schweighofer P. (1995) The dynamic behaviour of nitrifying activated sludge systems influenced by inhibiting wastewater compound. *Water Science Technology*, **31**(2), 115-124.

Oh S.E., Kim K.S., Choi H.C. Cho J. and Kim I.S. (2000) Kinetics and physiological characteristics of autotrophic denitrification by denitrifying sulfur bacteria. *Water Science Technology*, **42**(3-4), 59-68.

Orhon D., Ates E. and Sözen S. (2000) Experimental evaluation of the kinetics for tannery wastewaters. *Water S.A.* **26**(1), 43-50.

Rivela B., Bornhardt C., Vidal G. and Méndez R. (2003) Towards a cleaner production in a Chilean tannery. *Waste Management & Research* (in press).

Rozzi A., Rocco A. and Ficara E. (2000) Determination of nitrification kinetics by the A.NIT.A-DOstat biosensor. *Water Science Technology*, **41**(12), 121-128.

Schellhorn H.E. (1994) Regulation of hydroperoxidase (catalase) expression in *Escherichia Coli*. FEMS. *Microbial Letter*. **131**, 113-119.

Surmacz-Gorska J., Garnaey K., Demuynck C., Vanrolleghem P. and Verstraete W. (1996) Nitrification monitoring in activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) measurements. *Water Research*, **30**, 1228-1236.

Tendaj M., Reinius L.G. and Hultgren J. (1992) Some observations on nitrification and denitrification following full-scale trials at Henriksdal and Bromma sewage treatment plants in Stockholm. *Water Science Technology*, **25**(4-5), 195-202.

Van Dongen L.G.J.M., Jetten M.S.M. and Van Loosdrecht (2000) M. STOWA report 2000-25.

Völsch A., Nader W.F., Geiss G.K., Sonntag H.G. and Birr C. (1990) Test zur bestimmung der aktivität von nitrifizierenden bakterien in belebtschlamm. *GWF Wasser-Abwasser*, **131**, 301-306.

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

Young Z. and Bogaert H. (2001) A titrimetric respirometer measuring the nitrifiable nitrogen in wastewater using in-sensor experiment. *Water Research*, **35**(1), 180-188.

EVALUACIÓN DE ALTERNATIVAS PARA LA ELIMINACIÓN BIOLÓGICA DE MATERIA ORGÁNICA Y NITRÓGENO EN AGUAS RESIDUALES DE CURTIEMBRES

Resumen. Con objeto de mejorar la calidad del efluente de una planta industrial de tratamiento biológico de aguas residuales de curtidos se estudiaron diversas alternativas utilizando reactores de lodos activos de laboratorio.

En una primera etapa se analizó la oxidación de la materia orgánica y amonio, mediante una unidad de lodos activos de 2 L. En una segunda etapa, a la unidad utilizada anteriormente se le acopló una unidad anóxica de 1 L, evaluándose la eliminación conjunta de materia orgánica y nitrógeno. Finalmente, en una tercera etapa, se evaluó una estrategia de operación alternando ciclos aerobios y anóxicos, se utilizaron dos unidades de lodos activos semicontinuos similares a los de la primera etapa.

Los resultados de la primera etapa indican que la eficacia de la nitrificación aumenta al adicionar entre 0,7 y 1 g HCO_3^-/L , obteniéndose hasta un 95% de oxidación de amonio. Se alcanzó un 83% de eliminación de materia orgánica y el lodo presentó buena sedimentabilidad.

En la segunda etapa, inicialmente se obtuvo un 15% de desnitrificación, debido a la baja relación DQO/N que presentan estas aguas residuales industriales. Para incrementar el porcentaje de desnitrificación se adicionó metanol como fuente de carbono. Se evaluaron relaciones de adición de materia orgánica respecto al nitrógeno total presente en la alimentación ($\text{DQO}_\text{A}/\text{N}_\text{t}$) de 1 y 3 g/g, alcanzándose porcentajes de desnitrificación del 30 y 50%, respectivamente, obteniéndose una eliminación de materia orgánica del 85%.

En la tercera etapa, se evaluó el efecto de la adición de diferentes fuentes de carbono suplementarias adicionadas durante el ciclo anóxico. Se emplearon como fuente de carbono metanol y agua residual de la corriente de ribera con o sin sulfuros a relaciones $\text{DQO}_\text{A}/\text{N}_\text{t}$ entre 1 y 7 g/g. Los mejores resultados se obtuvieron tanto con metanol como con agua residual de la corriente de ribera desprovista de sulfuros a relaciones $\text{DQO}_\text{A}/\text{N}_\text{t}$ de 5 g/g, alcanzándose una eliminación de nitrógeno del 75% y concentraciones en el efluente de 5-20 mg $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$ y 10 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$.

4.1.- INTRODUCCIÓN

El proceso de curtición se realiza mediante una serie de procesos discontinuos que se aplican secuencialmente para convertir la piel en cuero. Dichos procesos se pueden dividir en 4 etapas principales: ribera, curtición, recurtición y acabado, efectuándose las tres primeras etapas en medios acuosos por lo que se generan una gran cantidad de efluentes líquidos, así como desechos sólidos y gases contaminantes. Los residuos líquidos son los de mayor significación y el grado de contaminación de los distintos efluentes generados dependen de la materia prima, el proceso utilizado y el producto final (Adzet, 2000).

A partir del balance de materia realizado por Konrad *et al.* (2002) al proceso de transformación de la piel en cuero, se ha determinado que para tratar una tonelada de piel salada y húmeda, se utilizan alrededor de 442 kg de compuestos químicos y unos 63 m³ de agua, obteniéndose alrededor de 500 kg de producto y generándose alrededor de 696 kg de residuos sólidos y 58 m³ de agua residual. La diferencia entre la cantidad de agua a la entrada y a la salida se debe a la evaporación durante las etapas de secado. Debido a ello, se genera un agua residual compleja con un alto contenido de materia orgánica (5000 mg DQO/L), nitrógeno (350 mg NTK/L) y altas concentraciones de sales inorgánicas como cloruros sulfuros y sales de cromo (Ates *et al.* 1997; Jochimsen *et al.* 1997; Song *et al.* 2000; Orhon *et al.* 1998). Para el tratamiento de estas aguas es práctica habitual la utilización de sistemas de tratamiento físico-químico, biológicos o una combinación de los mismos (Menéndez y Díaz, 1998).

Las aguas residuales de curtidurías presentan niveles relativamente elevados de sustancias inhibitorias y/o recalcitrantes, como Cr⁺³ y S²⁻, que pueden afectar al proceso biológico (Carucci *et al.* 1999), por lo que suelen recibir un tratamiento físico-químico previo al biológico, con el fin de precipitar el cromo y oxidar el sulfuro a sulfato y evitar así la inhibición del sistema biológico (Orhon *et al.* 1999). Durante el tratamiento físico-químico, junto con la eliminación de algunas sustancias inhibitorias, se produce también la eliminación de parte de la materia orgánica presente (Szpyrkowicz *et al.* 1991). El proceso de lodos activos es el tratamiento biológico más utilizado para este tipo de aguas (Yamamoto y Win 1991; Orhon *et al.* 2000).

En la Figura 4.1, se muestra el diagrama de flujo de la planta depuradora de aguas residuales de una curtiduría localizada en Padrón (A Coruña) en el que se observa la entrada a la misma de dos corrientes diferenciadas, una primera procedente de la etapa de ribera que después de recibir un tratamiento de desbaste se introduce en una cámara de oxidación de sulfuros y una segunda, formada por las aguas residuales generadas en las etapas de curtición y recurtición, que se somete en una primera etapa a un tamizado con objeto de

eliminar los sólidos gruesos. Ambas corrientes se mezclan en un homogeneizador aireado, bombeándose la corriente resultante hacia una unidad de tratamiento físico-químico, en la que se utiliza sosa y un polielectrolito aniónico para precipitar el Cr^{3+} y separar la materia coloidal del agua residual, pasando a continuación esta agua residual, que contiene todavía concentraciones significativas de DQO y amonio, hacia una unidad de lodos activos dotada de una sola cámara de aireación y un decantador secundario, desde donde se vierte el efluente tratado al cauce receptor. Este esquema de tratamiento es el más frecuentemente utilizado para el tratamiento de las aguas residuales de curtidurías.

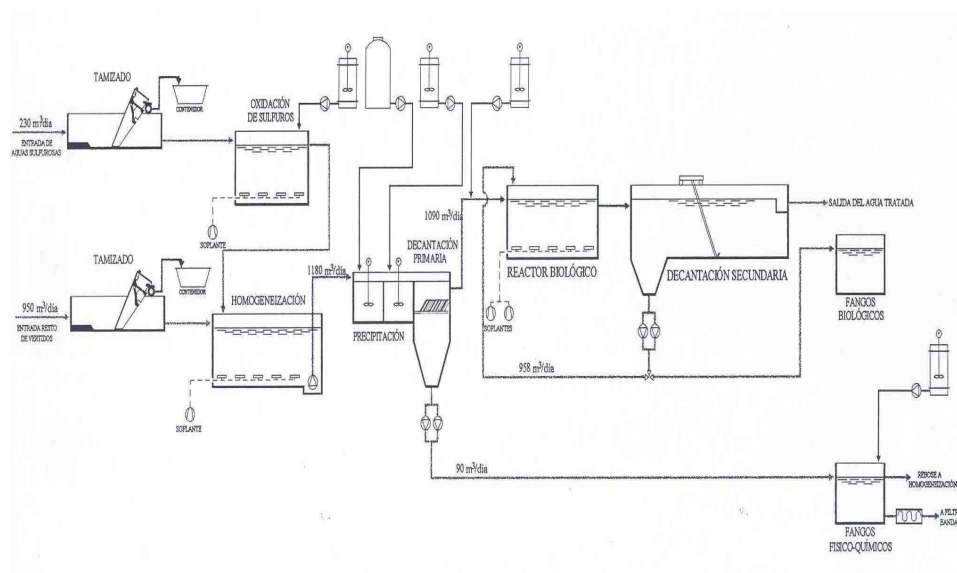


Figura 4.1: Diagrama de flujo de la planta de tratamiento de las aguas residuales de PICUSA (Galicia-España).

Las aguas residuales vertidas por la planta que se ha descrito previamente, presentan niveles relativamente bajos de materia orgánica (DQO soluble menor a 150 mg DQO/L), no detectándose sales de cromo ni sulfuros, pero ocasionalmente presentan niveles elevados de nitratos, sólidos en suspensión y amonio. Otra de las características a destacar es la baja relación DQO/N que presentan esta agua cuando llegan al reactor biológico (2,4-4,2), insuficiente para llevar a cabo el proceso de desnitrificación biológica en determinados periodos.

Los objetivos de este trabajo se centran en el estudio y mejora de la eficacia del sistema de tratamiento biológico, mediante distintas alternativas o estrategias de tratamiento biológico desarrolladas en tres etapas diferentes:

1. Evaluar la eficiencia de un sistema continuo de lodos activos de mezcla completa en la depuración de aguas residuales de la curtiduría, análogo al utilizado en la empresa.
2. Determinar la eficiencia de un sistema de lodos activos predesnitrificante para la eliminación de materia orgánica y compuestos de nitrógeno.
3. Estudiar la fiabilidad de sistemas de lodos activos de mezcla completa operados en semicontinuo en los que se alternan a lo largo del tiempo ciclos aerobios y ciclos anóxicos. Se evaluaron en cada etapa la influencia de diversas condiciones de operación, carga, relación DQO_A/N_t para diferentes fuentes de carbono externa y Tiempos de Retención de Sólidos (TRS) sobre la eliminación de nitrógeno.

4.2.- MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1.- Métodos analíticos

□ Fase líquida

Determinación de la Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La DQO es una medida que indica el nivel de contaminación que presenta el agua residual debido a la materia orgánica y compuestos oxidables. Se define como la cantidad de oxígeno ($\text{mg O}_2/\text{L}$) necesaria para la oxidación de toda la materia orgánica y compuestos oxidables contenidos en un volumen de muestra. La medición de este parámetro se ha llevado a cabo utilizando una modificación del método semi-micro 5220-D descrito en el Standard Methods (Soto *et al.* 1987, 1989).

La muestra se centrifuga a 10.000 r.p.m. durante 10 min. y posteriormente es filtrada a través de un filtro Gelman de $0,45 \mu\text{m}$ de tamaño de poro para determinar la DQO soluble. La DQO total se determina sobre la muestra bruta. En ambos casos se hace la digestión de la muestra con una mezcla de dicromato de potásico y ácido sulfúrico durante dos horas a 150°C , utilizando sulfato de plata como catalizador y sulfato de mercurio para eliminar posibles interferencias del ión cloruro, oxidándose la mayor parte de la materia orgánica contenida en la muestra. Tras esta fase de digestión, el dicromato en exceso se valora con sulfato amónico ferroso (FAS) utilizando como indicador ferroína. La DQO se calcula teniendo en cuenta un blanco o referencia, realizado con el mismo procedimiento sobre la muestra con agua destilada. El FAS se valora cada vez

que se realiza un grupo de determinaciones, puesto que su concentración sufre variaciones con el tiempo.

Determinación de carbono total, inorgánico, y orgánico total

La concentración de Carbono Total (CT), Carbono Inorgánico (CI) y Carbono Orgánico Total (COT) de muestras de agua filtrada se cuantificaron mediante un analizador de carbono Shimadzu modelo TOC-5000. Para la determinación del CT la muestra se inyecta en el equipo donde se calienta a 680 °C y el CO₂ producido se transporta mediante un gas portador (150 mL/min. de aire de alta pureza). El gas pasa a través de un deshumidificador donde se enfría y se elimina la humedad, posteriormente pasa a través de una columna en la que eventualmente se eliminan los compuestos halogenados para evitar daños en la celda de detección. El gas se introduce en un detector de infrarrojos no dispersivo (NDIR) donde se cuantifica el dióxido de carbono. El CT esta compuesto por COT y CI.

Para determinar el CI, la muestra se acidifica con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico para desprender todo el CI en forma de dióxido de carbono que es arrastrado por el gas hacia el detector NDIR. La concentración de CI de la muestra se determina de forma similar a la de CT. El CI proviene principalmente de los carbonatos y bicarbonatos presentes.

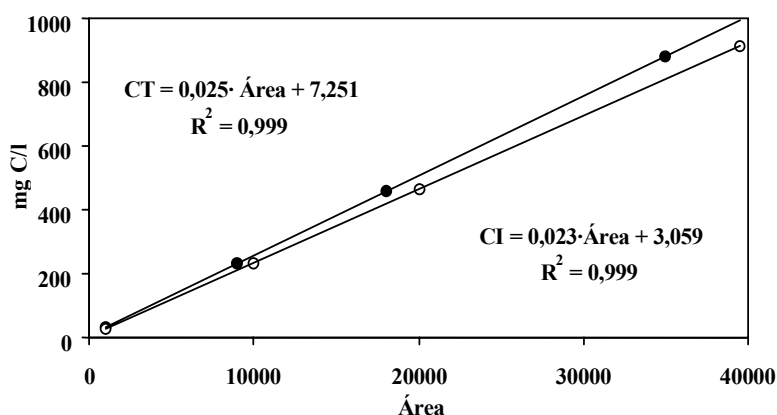


Figura 4.2: Calibrado de CT (●) y CI (○). Volumen de inyección = 25 µL. Las líneas corresponden a los ajustes lineales de cada calibrado.

La cantidad de carbono total orgánico (COT) viene dada por la diferencia entre la determinación del carbono total (CT) y del CI. Las curvas de calibrado correspondientes al CT y al CI se presentan en Figura 4.2.

Determinación de nitrito y nitrato por Electroforesis capilar

Las concentraciones de nitrito y nitrato se determinan individualmente mediante electroforesis capilar (Waters Capillary Ion Analyzer). Para la realización de los análisis las muestras se filtran previamente a través de filtros de membrana Gelman Suport 0,45µm. Se utilizó el método propuesto por Vilas-Cruz *et al.* (1994) en el que se emplea como electrolito sulfato de sodio (0,01 mol/L) añadiendo asimismo 50 mL/L de modificador electro-osmótico CIA-PakTM OFM Anión BT (Waters). La muestra se hace migrar por medio de la aplicación de una corriente eléctrica a través de un capilar a 25 °C. Dependiendo de la carga y del tipo de ión, el tiempo de migración es diferente.

El capilar empleado es de sílice fundida con una cubierta de poliimida, con una longitud de 60 cm y un diámetro interno de 75 µm. La detección de los iones se realiza mediante la lectura de la absorbancia en la región UV/Vis, en este caso a una longitud de onda de 214 nm empleando una lámpara de UV y aplicando un voltaje de 20 kV. La medida se realiza contrastando el área del pico de la muestra con el área de un patrón intercalado entre las muestras a analizar que contiene 100 mg/L de nitrito y nitrato (Figura 4.3).

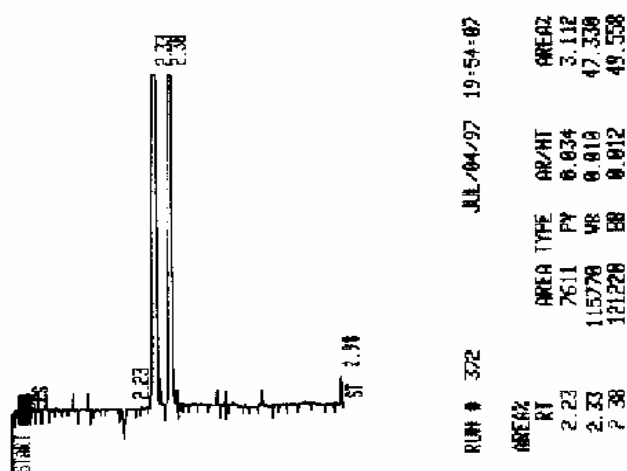


Figura 4.3: Electroforegrama obtenido por el método del Sulfato.

Nitrato por espectrofotometría

Esta medida se realiza siguiendo el método 4500-NO₃⁻-B propuesto en Standard Methods (APHA, 1998) midiendo la absorbancia de la muestra a 220 y 275 nm

en un espectrofotómetro Shimadzu UV-120. La medida se realiza frente a un patrón en el intervalo de concentración entre 0 y 17 mg NO_3^-/L (Figura 4.4)

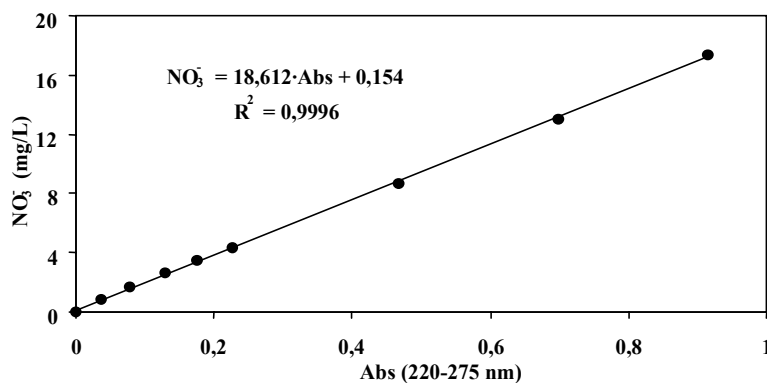


Figura 4.4: Calibrado del nitrato (método espectrofotométrico).

Nitrito por espectrofotometría

Se determina utilizando el método basado en la reacción de este ión con ácido sulfanílico y N-(1 naftil)-etilendiamina dihidrocloruro, tal y como se propone en la norma 4500- NO_2^- -B del Standard Methods (APHA, 1998). La medida de absorbancia se realiza a 543 nm en un espectrofotómetro Shimadzu UV-120. El calibrado se prepara con concentraciones entre 0 y 0,24 mg $\text{N-NO}_2^-/\text{L}$ (Figura 4.5).

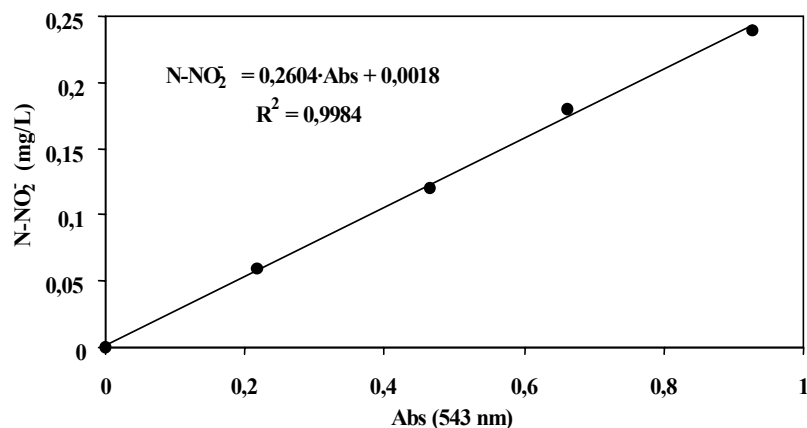


Figura 4.5: Calibrado del nitrito (Método espectrofotométrico).

Determinación de amonio

El método utilizado para la determinación de la concentración de amonio, es el del fenol-hipoclorito que se determina por espectrofotometría a 635 nm. Este método fue descrito por Weatherburn (1967) y se basa en la reacción del NH_3 en un medio alcalino con fenol para producir una coloración azul (azul indofenol) en presencia de un agente fuertemente oxidante como puede ser el hipoclorito. La reacción puede realizarse a temperatura ambiente o puede ser acelerada calentándola a 35°C o agregando como catalizador nitroprusiato de sodio.

La presencia de iones calcio y magnesio puede causar problemas de precipitación durante el análisis, por lo que para prevenir esto se agrega una disolución de AEDTA al 5%. Muestras que presenten turbidez o color pueden llevar a resultados erróneos. Para eliminar la turbidez la muestra debe ser filtrada previamente a la realización del análisis, mientras que el color puede interferir siempre que sea absorbido en el mismo rango fotométrico.

Previo a la medición de las muestras se realiza un calibrado con una solución patrón conocida en el intervalo entre 0-1 mg N-NH_4^+ /L (Figura 4.6). El calibrado debe ser realizado cada vez que se reemplace un reactivo.

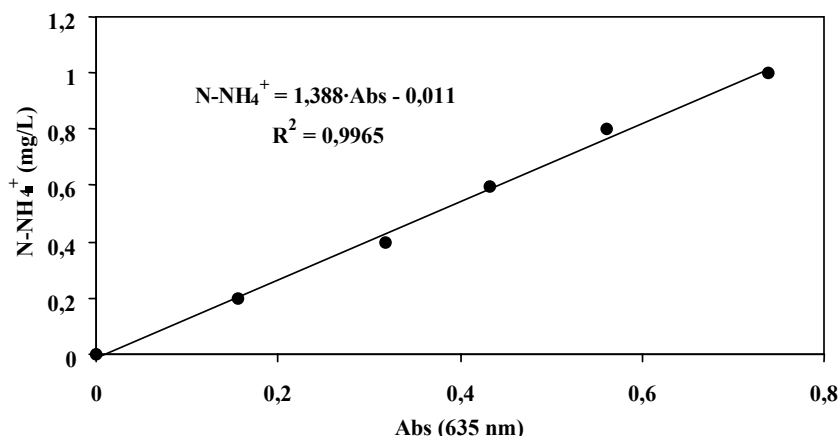


Figura 4.6: Calibrado de amonio (método colorimétrico del fenol-hipoclorito).

Determinación de pH

Se realiza mediante un electrodo WTW Sentix 41-3 conectado a un medidor WTW pH/mV Multiline P4. Previamente a las medidas se realiza un calibrado usando disoluciones tampón WTW de pH 4 y 7 a 20 °C. La sensibilidad del medidor es ± 1 mV de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

Oxígeno Disuelto

Se determina mediante un electrodo selectivo de oxígeno del tipo polarográfico WTW Cell Ox 325 conectado a un medidor de oxígeno WTW Multiline P4. Previa a su utilización el electrodo se calibra en la celda Oxi Cal-SL, de acuerdo a las especificaciones del fabricante.

□ Composición y actividad de la biomasa

Sólidos en suspensión volátiles.

Los sólidos totales incluyen los sólidos en suspensión y en disolución. Para su determinación se utilizan los métodos 2540-D y 2540-E, descritos en el Standard Methods (APHA, 1998).

Los sólidos suspendidos totales (SST) se determinan por filtración de un volumen de muestra conocida sobre filtros de fibra de vidrio WHATMAN, de 4,7 cm GF/C (diámetro de poro de 1,2 μm) y posterior secado a 103-105°C. La diferencia de pesos de los filtros antes y después de la filtración permite calcular el contenido de SST. Los sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determinan a partir de la pérdida de peso tras la calcinación de la muestra a 550°C durante 15 minutos.

Determinación de la actividad de la microbiana

La velocidad de consumo de oxígeno de la biomasa en presencia de diferentes sustratos: amonio, nitrito o fuentes de carbono orgánico se determinó utilizando un respirómetro (Modelo YSI 5300). En la Figura 4.7 se muestra un esquema del equipo experimental empleado. Este sistema está dotado de dos electrodos de oxígeno (sensores polarográficos de oxígeno, modelo Yellow Spring Instrument, YSI 5331, EEUU) que se encajan herméticamente en una celda dotada de un agitador magnético que contiene la muestra y esta termostatizada por medio de un baño termorregulado (25 °C para este experimento). Las lecturas de los electrodos se envían a un amplificador, por medio de una tarjeta de adquisición (PCL-818L, PC-Lab Card). Los datos del porcentaje de saturación de oxígeno disuelto de la celda se envían al ordenador, siendo las medidas tratadas por un programa de adquisición de datos (LabTech Notebook & Control versión 10.12)

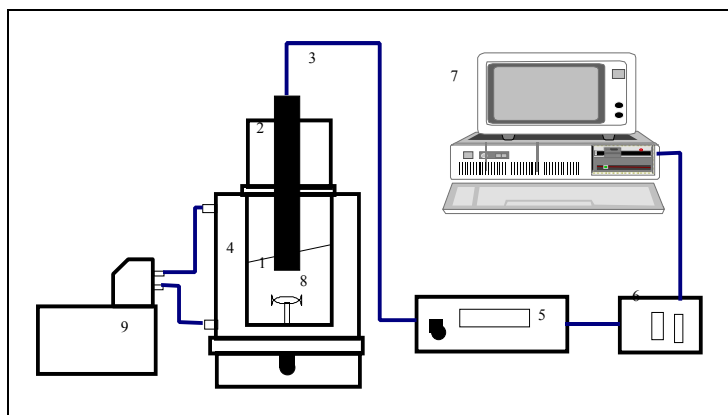


Figura 4.7: Esquema del equipo empleado en la medición del consumo de oxígeno. 1 Celda de medición; 2 Soporte del electrodo; 3 Electrodo de oxígeno; 4 Camisa; 5 Amplificador; 6 Tarjeta de adquisición de datos PCL-818L; 7 Ordenador; 8 Agitador magnético; 9 Termostato.

El método de determinación consta de los siguientes pasos:

- a) Se toma la muestra del reactor (aproximadamente un volumen que permita tener una concentración de biomasa en el vial de 1 g SSV/L) se resuspende la biomasa con una disolución tampón fosfato (Tabla 4.1) a pH 7,0 hasta alcanzar un volumen de 10 mL y se airea durante media hora. A continuación se introduce el electrodo de oxígeno en la celda, intentando evitar la formación de burbujas de aire en el interior de la celda.
- b) Se inyectan 0,5 mL de bicarbonato de sodio 50 mM a través de una pequeña ranura en el soporte del electrodo, se espera hasta que se estabilice la temperatura. Se inyecta un volumen exacto de sustrato inferior a 0,1 mL, siendo los sustrato generalmente adicionados sulfato de amonio o ácido acético para la determinación de la actividad amonio oxidante o heterótrofa, respectivamente.
- c) La concentración microbiana se expresa en términos de g SSV/L, que se determina mediante el protocolo descrito en el punto anterior. La actividad específica se obtiene relacionando la velocidad de consumo de oxígeno y la concentración de biomasa. El valor de las actividades específicas puede ser expresado en función del oxígeno consumido y también como miligramos de nitrógeno oxidado por unidad de tiempo y de biomasa, mediante los correspondientes coeficientes estequiométricos ($4,57 \text{ g O}_2/\text{g N-NH}_4^+$).

Tabla 4.1. Composición del tampón fosfato

Componente	Concentración (g/L)
K_2HPO_4	3,97
KH_2PO_4	3,309
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1,84
$MgCl_2 \cdot 10H_2O$	1,52
NaCl	0,8
Solución Trazas*	5 mL/L

* según Vishniac y Santer (1957)

En la Figura 4.8 se presenta un respirograma típico obtenido para estos ensayos.

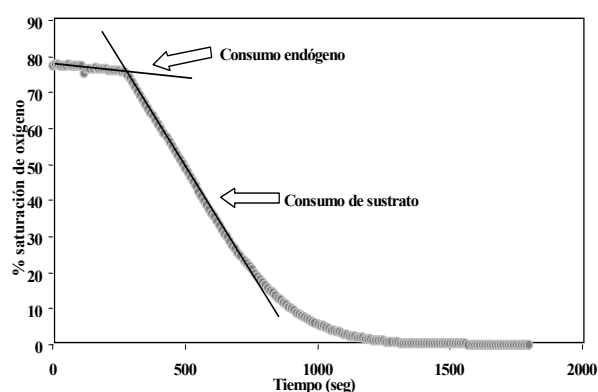


Figura 4.8: Respirograma típico obtenido por el respirómetro.

Determinación de la actividad desnitrificante

Para medir la actividad desnitrificante de la biomasa, se ha empleado una metodología basada en el seguimiento de la desaparición de $N-NO_3^-$ en el tiempo, como resultado de la reducción de $N-NO_3^-$ a N_2 por los microorganismos desnitrificantes.

Los ensayos se realizan en viales de 60 mL con un volumen ocupado por el líquido de 50 mL. El procedimiento incluye los siguientes pasos:

- Se introduce una cantidad de agua de dilución previamente calculada con una disolución tampón de fosfato 0,025 M fijando el pH en $7,5 \pm 0,2$.
- Se adiciona un volumen de lodos desnitrificantes tal que la concentración final de SSV en el vial este en el rango deseado (1,5 – 3,0 g SSV/L).
- Se borbotea N_2 durante 10 minutos hasta obtener condiciones anóxicas.

- d) Se introduce el vial en un sistema termostatzado hasta alcanzar el equilibrio térmico a 37 °C, manteniendo los viales agitados.
- e) Se adiciona las cantidades adecuadas de disoluciones concentradas de NaNO_3 y NaOOCCH_3 para alcanzar la concentración deseada de N-NO_3^- y $\text{C-CH}_3\text{COO}^-$ y la correspondiente relación C/N.
- f) Se sella el vial, se sigue la desaparición de nitrato con el tiempo.

El valor de la actividad desnitrificante se calcula representando la concentración de nitrato presente en el vial frente al tiempo. De este gráfico se determina la pendiente máxima de desaparición de nitrato y este valor se divide por la concentración total de biomasa presente en el vial.

4.2.2.- Sistemas experimentales

El plan de trabajo de este capítulo se desarrolló en tres etapas diferentes en los que se utilizan una unidad de lodos activos nitrificante, una unidad de predesnitrificación y unidades de lodos activos semicontinuos. A continuación se describen los equipos utilizados en cada una de las tres etapas:

Etapla nitrificante

Durante esta etapa se estudia la eficacia de la nitrificación y de la eliminación de materia orgánica en una unidad de lodos activos de laboratorio analoga a la utilizada en la planta de tratamientos de aguas residuales industriales.

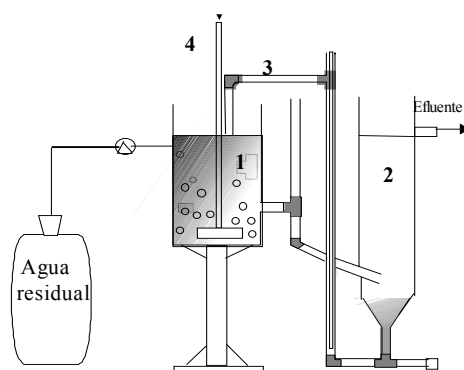


Figura 4.9: Esquema experimental de la unidad nitrificante de lodos activos: 1.- tanque de aireación, 2.- decantador, 3.- bomba mamut, 4.- agitador.

En la Figura 4.9 se muestra el esquema de lodos activos utilizado durante la primera etapa experimental que comprende los primeros 90 días de operación. El sistema de lodos activos consta de un tanque de aireación de 2 L y un sedimentador externo que retiene la biomasa que se recircula al reactor mediante una bomba mamut. El sistema es alimentado por medio de una bomba peristáltica y el efluente se obtiene desde el sedimentador por rebose. El reactor es aireado por medio de una bomba de pecera, lográndose una mezcla adecuada mediante un agitador de paleta.

Etapas desnitrificante

Con objeto de evaluar la desnitrificación de las aguas industriales, se utilizó un sistema predesnitrificante en la segunda etapa experimental que comprende los días 90-230 de operación.

El equipo utilizado consta de la unidad de lodos activos aerobio empleada durante la etapa anterior, y una cámara anóxica de 1 L que se acopló a la primera (Figura 4.10). La alimentación se almacena en un depósito de donde se suministra mediante una bomba peristáltica a la cámara anóxica, poniéndose en contacto con el lodo recirculado del sedimentador secundario. El licor de mezcla de esta cámara fluye hacia la cámara aerobia y de ahí al sedimentador, siendo por tanto un sistema clásico de predesnitrificación de lodos activos.

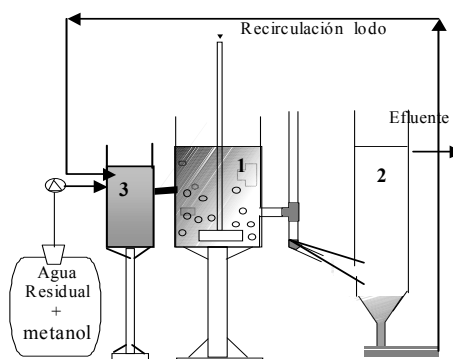


Figura 4.10: Esquema experimental de la unidad de predesnitrificación:
1.- tanque de aireación, 2.- decantador, 3.- cámara anóxica.

Etapas de operación en semicontinuo

Existiendo la posibilidad de operar en la planta industrial en condiciones semicontinuas, se evaluó en esta etapa experimental la eficacia de nitrificación y desnitrificación en un sistema de lodos activos con una cámara operando en semicontinuo. Se estudió la posible mejora de la desnitrificación usando diversas fuentes de carbono externas que se añaden durante los ciclos anóxicos. Para alcanzar los objetivos de esta tercera etapa experimental se trabajó en paralelo con dos reactores de lodos activos de laboratorio (R1 y R2), idénticos a los utilizados en la primera etapa (etapa de nitrificación) (Figura 4.11).

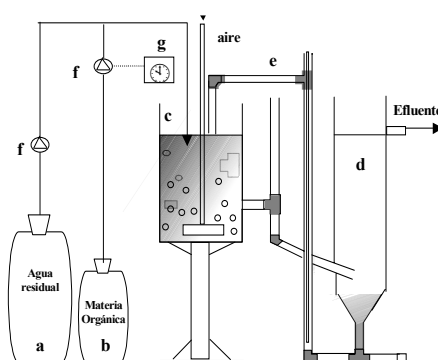


Figura 4.11: Esquema de los reactores de lodos activos (R1 y R2) utilizados: a.- Depósito de alimentación, b.- Depósito con la fuente de carbono externa, c.- Reactor biológico, d.-Sedimentador, e.- Bomba mamut de recirculación, f.- Bombas peristálticas de alimentación, g.-Temporizador utilizado para controlar la dosificación de fuente de carbono y la aireación.

En la Figura 4.12, se muestra un diagrama temporal de la operación semicontinua de ambos reactores (R1 y R2). La alimentación del agua residual se realiza de forma continua, en una única cámara de reacción se llevan a cabo los procesos de nitrificación y desnitrificación, alternando en dicha cámara las condiciones aerobias y anóxicas. Durante 1 h se lleva a cabo la desnitrificación manteniendo sistema con agitación mecánica y adicionando la fuente de carbono para favorecer la desnitrificación, para posteriormente interrumpir la agitación y mantener el sistema por un período de 3 h en aireación. La duración total de un ciclo de operación fue de 4 horas, realizándose 6 ciclos aerobios-anóxicos a lo largo del día.

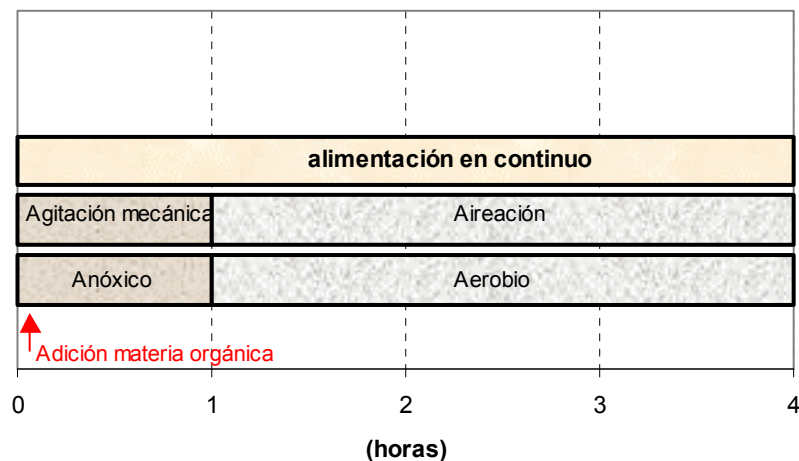


Figura 4.12: Diagrama temporal de un ciclo de operación del sistema semicontinuo.

Para alimentar el sistema se emplean dos bombas peristálticas, una bombea el agua residual de forma continua al reactor y la otra bomba peristáltica adiciona durante la fase anóxica el caudal requerido de la fuente de carbono utilizada.

4.2.3.- Características de las aguas residuales

En este apartado se muestran las principales características de las aguas utilizadas durante las 3 etapas experimentales. Estas aguas procedían de la entrada al reactor industrial de lodos activos (Figura 4.1).

Etapas nitrificante

Debido a la variabilidad de la composición de los efluentes generados en la industria de curtidos se procedió a tomar puntualmente 3 lotes de aguas residuales cuyas características se resumen en la Tabla 4.2. Dichos lotes se emplearon para alimentar el reactor durante diversos periodos durante los 90 días de operación.

Tabla 4.2. Principales características del agua residual utilizada en la unidad nitrificante a lo largo del tiempo y de los períodos en los que se utiliza el lote.

Parámetros (mg/L)	Período operación (d)		
	0-20	21-50	51-90
DQO _t	514	582	455
DQO _s	238	193	193
N-NH ₄ ⁺	120,3	150,3	100,4
N-NO ₃ ⁻	23,1	7,2	7,2
CT	50,8	39,9	39,9
CI	12,4	8,6	8,6
COT	38,4	31,3	31,3
DQO/NT	3,7	4,2	4,2

Etapas desnitrificante

Las principales características de los 3 lotes de aguas residuales empleadas en la unidad de predesnitrificación durante la segunda etapa experimental que comprende los días (91 y 230) se resumen en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Principales características del agua residual utilizada como alimentación a la unidad de predesnitrificación durante el período experimental de la segunda etapa.

Parámetros (mg/L)	Período operación (d)		
	91-135	136-170	171-230
DQO _t	350	358	325
DQO _s	186	157	157
N-NH ₄ ⁺	135,7	110,2	105,3
N-NO ₃ ⁻	7,7	3,3	5,6
CT	132,2	146,4	118,6
CI	95,4	110,7	54,2
COT	36,8	35,7	64,4
DQO/NT	2,4	3,2	2,9

Etapas de operación en semicontinuo

Durante la tercera etapa (etapa semicontinua), las aguas residuales empleadas se recogieron por lotes en el canal de entrada al sistema biológico. Tras la recepción del agua residual se analizaron algunos parámetros que permitieron caracterizar la alimentación al reactor empleado en el laboratorio (Tabla 4.4).

Tabla 4.4. Valores medios de los diferentes lotes de agua residual bruta utilizada en la etapa semicontinua.

Parámetros (mg/L)	Período operación (d)							
	0-15	16-48	49-84	85-128	129-162	163-215	216-272	273-320
DQO _t	150	314	389	239	183	555	527	450
N-NH ₄ ⁺	40,0	57,1	66,2	50,0	45,0	94,7	97,9	92,6
N-NO ₃ ⁻	10,0	4,9	5,3	10,3	10,1	15,4	18,6	10,1
DBO ₅ /DQO _t	n.d	n.d	0,28	0,46	0,27	0,45	0,44	0,49

n.d.: no disponible

4.2.4.- Estrategia de operación

Etapas nitrificante

La estrategia de operación para la primera etapa consistió en evaluar la oxidación de amonio y de materia orgánica en un sistema de lodos activos durante 90 días de operación. En el reactor de lodos activos a escala de laboratorio se aplicaron similares condiciones de operación a la planta a escala industrial. Durante prácticamente todo el período experimental se operó con un TRH de 1 d, excepto en el período comprendido entre los días 40 y 55 en el que el TRH se incrementó a 2d y entre los días 63 y 75 en los cuales el TRH se disminuyó hasta 0,5d.

Debido a la carencia de CI de las aguas residuales de la entrada del reactor biológico industrial (Tabla 4.2) se procedió a añadir a la alimentación desde el arranque del sistema hasta el día 40 de operación 0,7 g NaHCO₃/L, esta cantidad se incrementó a 1 g NaHCO₃/L a partir del día 41 de operación.

Etapas de desnitrificación

Durante esta segunda etapa, que comprende los días de operación 90 y 230, el sistema se operó a temperatura ambiente, con un caudal de alimentación de 1,96 L/d y una relación de recirculación de 2,6. Durante esta etapa de desnitrificación, se distinguen tres periodos de operación diferentes caracterizados por la utilización de distintas relaciones DQO_A/N_t de la fuente de carbono externa.

Durante los días 90 y 110, el sistema operó sin adición de fuente externa de carbono. A partir del día 111 de operación y hasta el final de la operación del reactor se empleó metanol como fuente de carbono externa que se adicionó directamente a la alimentación. Se utilizaron 2 relaciones de DQO-metanol/N-NH₄⁺ 1 y 3 g/g durante los días de operación 111-150 y 151-230, respectivamente.

Etapas de operación en semicontinuo

En la tercera etapa, con objeto de evaluar el efecto de la variación del TRS sobre la eficacia de eliminación conjunta de materia orgánica y nitrógeno se utilizaron dos reactores (R1 y R2) en semicontinuo.

Tabla 4.5. Principales condiciones de operación de los dos reactores secuenciales (R1 y R2) en el que se muestra la fuente de carbono externa que se utilizó y las relaciones DQO_A/N_t empleadas durante cada etapa.

Periodo	Operación (d)	TRS (d)		TRH (h)		VCN	VCO	DQO _A /N _t (g/g)	Fuente de C
		R1	R2	R1	R2				
1	0-28	30	*	24	↑	0,04	0,10	-	Ninguna
2	29-48					0,05	0,15	1	Metanol
3	49-112					0,05-0,06	0,10-0,25	5	
4	113-150					0,04-0,06	0,10	1	Ribera con S ²⁻
5	151-190					0,10	0,25	5	Metanol
6	191-250	10	20	12	↓	0,10	0,35	5	Ribera sin S ²⁻
7	251-270					0,10	0,35	7	
8	271-300					0,10	0,35	5	
	301-310					0,13	0,46	5	
	311-320			8		0,20	0,70	5	

VCN: (kg N-NH₄⁺/m³·d); VCO: (kg DQO/m³·d)

(*) no se realizó purga

La operación de los reactores R1 y R2 en semicontinuo se dividió en 8 periodos (Tabla 4.5). Ambos sistemas operaron bajo condiciones de operación análogas, a excepción del TRS que para el reactor 1 que se fijó en 30 d hasta el día de operación 270 y posteriormente se disminuyó a 10 días. Durante los 270 primeros días de operación no se purgó el reactor 2 y a partir del día 271 se operó con un TRS de 20 días.

Los dos reactores se alimentaron en continuo, a excepción de la adición de la fuente de carbono externa que tuvo lugar durante solo los periodos anóxicos. Se utilizaron como dadores de electrones metanol y agua residual proveniente de la

etapa de ribera tanto tomada a la entrada de la unidad de oxidación de sulfuros (aguas con sulfuro) como a la salida (agua de ribera sin sulfuro). El agua residual proveniente de la etapa de ribera se caracteriza por presentar una concentración de cloruro en torno a unos 500 mg/L y una alta concentración de materia orgánica 4,5 g DQO/L. Las aguas tomadas a la entrada de la unidad de oxidación de sulfuros presentan además una concentración de sulfuros de 140 mg/L, mientras que las aguas de ribera sometidas a un tratamiento de oxidación del sulfuro presentan concentraciones de sulfato entre 100-250 mg S-SO_4^{2-} /L.

Las relaciones DQO_A/N_t empleadas para el metanol fueron de 1 y 5 g/g, para el agua proveniente de la corriente de ribera con presencia de sulfuro se evaluó la relación DQO_A/N_t de 1 g/g y para las aguas provenientes de la corriente de ribera sin presencia de sulfuro se evaluaron las relaciones DQO_A/N_t de 5 y 7 g/g.

Durante los 7 primeros periodos experimentales de esta etapa se fijó un TRH de 24 h para los 2 reactores, igual al que se utiliza en la unidad industrial. En el periodo 8, se operó con TRH diferentes de 24, 12 h y 8 h.

4.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1.- Etapa nitrificante

En la Figura 4.13 se observa la concentración de los compuestos nitrogenados durante la etapa nitrificante. Las concentraciones de amonio en el influente variaron entre 100 y 200 mg N-NH_4^+ /L debido a la variabilidad de los lotes utilizados como alimentación

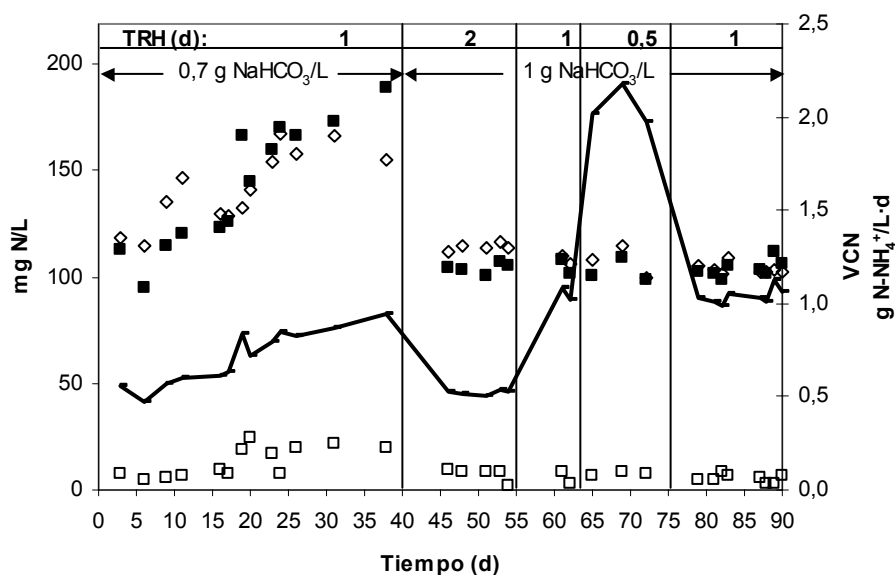
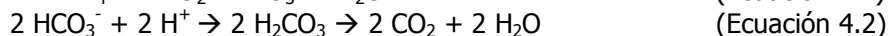
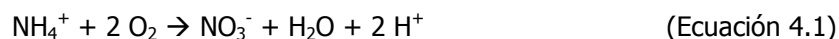


Figura 4.13: Evolución de los compuestos nitrogenados durante la etapa nitrificante para tres TRH diferentes (■) Influyente N-NH_4^+ , (□) Efluente N-NH_4^+ , (◇) Efluente N-NO_3^- y (-) VCN.

Durante los primeros 40 días la velocidad de carga nitrogenada aplicada al sistema osciló en torno a 0,5 y 1 g $\text{N-NH}_4^+/\text{L}\cdot\text{d}$, se obtuvo un porcentaje de nitrificación en torno al 90% y la concentración de amonio máxima en el efluente alcanzó valores de 25 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$. El porcentaje de oxidación de amonio como la concentración de éste en el efluente fueron sensiblemente inferiores a los observados en la unidad industrial (30 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$). El mayor porcentaje de nitrificación alcanzado en el reactor de laboratorio respecto del industrial, pudo deberse al incremento de la concentración del carbono inorgánico en las aguas que alimentaron el reactor a escala de laboratorio, ya que durante este período se adicionó en la alimentación una concentración de 0,7 g NaHCO_3/L , debido a que las aguas utilizadas a la entrada del reactor biológico del sistema industrial presentaban concentraciones de CI entre 5 y 15 mg/L, pudiendo esta deficiencia afectar a la obtención de una completa nitrificación (Ecuación 4.1 y 4.2)



A partir del día 41 de operación se adicionó una concentración de 1 g NaHCO_3 y se operó con tres TRH diferentes: 2, 1 y 0,5 días por lo que la VCN varió entre

0,5 y 2 g N-NH₄⁺/(L·d). Se obtuvo una eficacia de nitrificación de un 95% y se alcanzaron concentraciones de amonio en el efluente menores a 10 mg N-NH₄⁺/L. Se observó que la variación del TRH no afectó al porcentaje de nitrificación ya que la concentración de amonio en el efluente permaneció prácticamente constante.

En la figura 4.14 se observa la variación de la concentración de materia orgánica durante los 90 días de operación del reactor nitrificante. El contenido de materia orgánica total y soluble presente en las aguas residuales industriales utilizadas como alimentación presentaban valores en torno a 500±100 mg DQO_t/L y 300±100 mg DQO_s/L, respectivamente. Debido a los diferentes lotes utilizados como alimentación y los distintos TRH empleados, la velocidad de carga orgánica total y la soluble se mantuvieron entre 0,25 y 1 g COD_t/(L·d) y entre 0,2 y 0,4 g COD_s/(L·d), respectivamente.

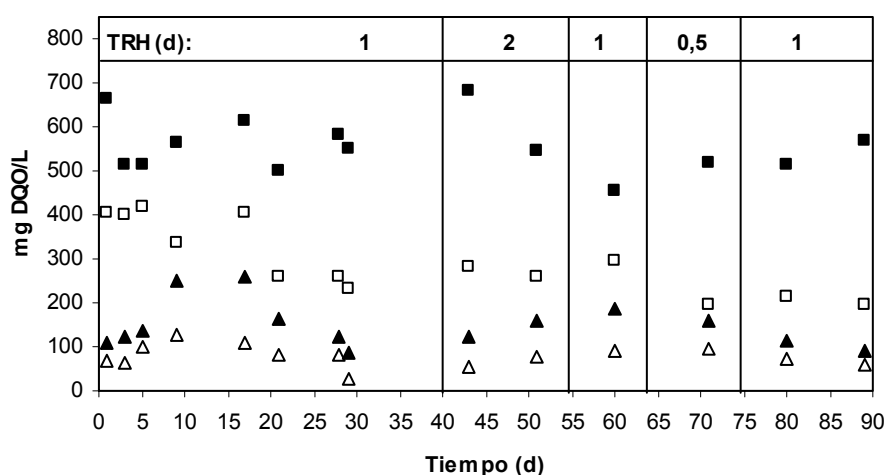


Figura 4.14: Concentración de la materia orgánica en la alimentación (■) DQO_{total}, (□) DQO_{soluble} y en el efluente (▲) DQO_{total}, (△) DQO_{soluble}.

Durante la puesta en marcha del reactor (20 primeros días), se obtuvo un 75% de eliminación de materia orgánica, que se incrementó en los días posteriores de operación hasta alcanzar un 83% de eliminación de DQO. La concentración de materia orgánica en el efluente alcanzó valores entre 50 y 100 mg DQO_s/L, siempre menores que los del efluente del sistema biológico industrial (150 mg DQO_s/L). La variación del TRH no afectó significativamente a la eliminación de materia orgánica soluble, ya que a TRH de 2, 1 y 0,5 d la concentración de

materia orgánica en el efluente alcanzó valores máximos de 80, 90 y 95 mg DQO₅/L, respectivamente.

En la Figura 4.15, se muestra la evolución de la concentración y de las propiedades de sedimentabilidad de la biomasa presente en el reactor. La puesta en marcha del reactor se realizó con una concentración de biomasa de aproximadamente 1 g SSV/L, que se incrementó hasta alcanzar una concentración de 5 g SSV/L. Para evaluar las características físicas del lodo se realizó un seguimiento del índice volumétrico de lodo (IVL), obteniéndose el IVL máximo el día 80 de operación en el que alcanzó un valor de 160 mL/g SSV, observándose posteriormente un descenso del IVL a 120 mL/g SSV, lo que indica que el lodo presentaba buenas propiedades de sedimentabilidad.

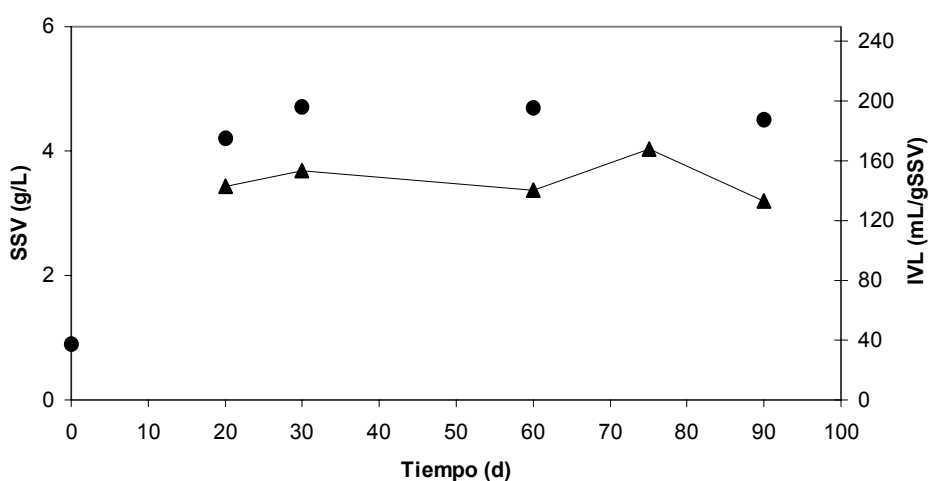


Figura 4.15: IVL (▲) y concentración de biomasa en el reactor (●).

Observaciones microscópicas de la biomasa indican que el aspecto del lodo durante esta etapa no presentó evoluciones significativas, constatándose la presencia de organismos superiores como protozoos y una tendencia general a la formación de flóculos de tamaño mediano, forma irregular y una estructura más o menos compacta en función del desarrollo de filamentos, manteniéndose una consistencia más o menos firme (Figura 4.16).

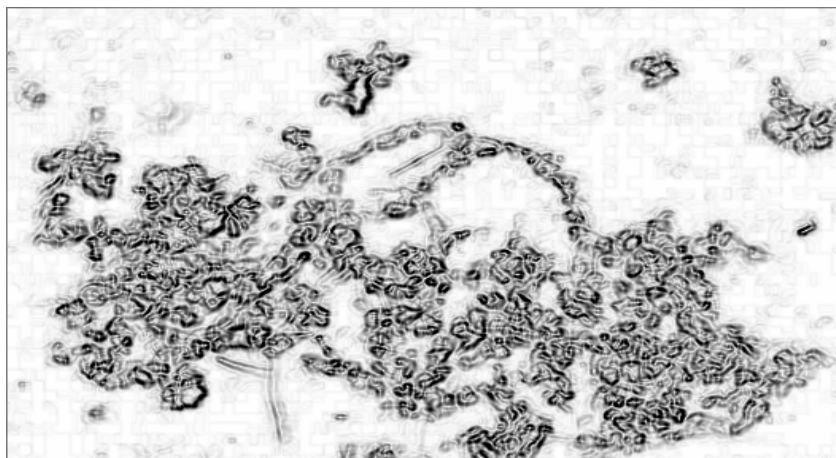


Figura 4.16: Aspecto del lodo durante la etapa nitrificante (X100).

El contenido de sólidos en el efluente durante prácticamente todo el período experimental fue inferior a 23 mg SSV/L, concentración mucho más baja que la obtenida en el efluente industrial (100 mg SSV/L). A excepción del período comprendido entre los días de operación 63 y 75, que coincide con el menor TRH aplicado, en el que la concentración de sólidos en el efluente alcanzó valores entre 80 y 220 mg SSV/L.

Durante esta etapa, de operación del reactor nitrificante, se realizaron ensayos de actividad nitrificante en discontinuo, obteniéndose una actividad específica para el periodo inicial de 0,23 mg N-NH₄⁺/(g SSV·h), que mejoró posteriormente a 1,28 mg N-NH₄⁺/(g SSV·h), alcanzándose valores de 1,64 mg N-NH₄⁺/(g SSV·h) a finales del período de operación. Los valores de actividad alcanzados se encuentran entre el rango característico para sistemas de lodos activos de 1,5 y 5 mg N-NH₄⁺/(g SSV·h) (Andreottola *et al.* 1990), aunque las actividades alcanzadas son bajas si se comparan con las obtenidas por Szpyrkowicz *et al.* (1991) de 4,4 mg N-NH₄⁺/(g SSV·h), al tratar aguas provenientes de la industria de curtidos en un sistema predesnitrificante.

4.3.2.- Etapa desnitrificante

Una vez probado que era posible alcanzar porcentajes de nitrificación elevados tratando esta agua, a partir del día 91 de operación se procedió a acoplar una unidad anóxica a la unidad nitrificante de la etapa anterior con objeto de lograr la eliminación conjunta de nitrógeno y materia orgánica.

En la Figura 4.17, se muestra la evolución de los compuestos nitrogenados durante la etapa experimental que comprende los días de operación 90 y 230. Se

obtuvo una completa oxidación de amonio a nitrato, al igual que a partir del día 40 en la primera etapa nitrificante, siendo la concentración de amonio en el efluente prácticamente siempre menor de 10 mg N-NH₄⁺/L, salvo algún día puntual como en el día 164 de operación en el que se alcanzó una concentración de amonio de 17 mg N-NH₄⁺/L.

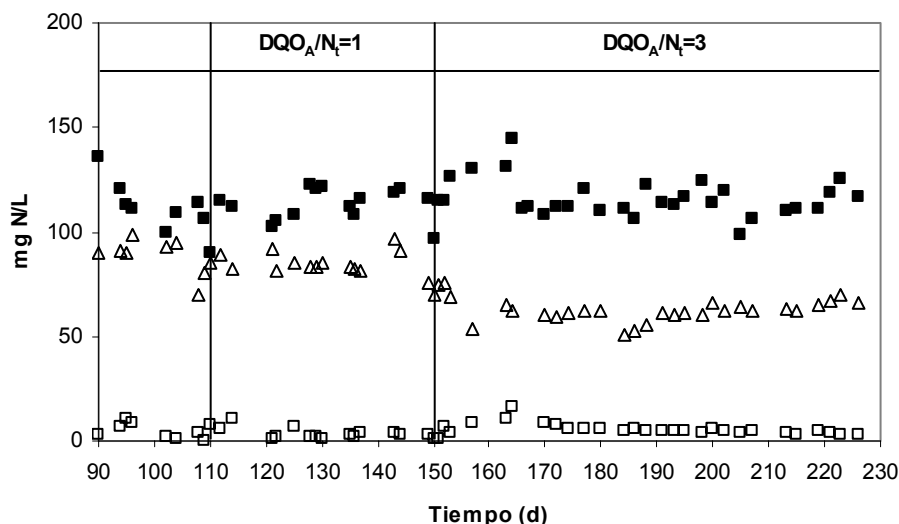


Figura 4.17: Evolución de los compuestos nitrogenados en las etapas de nitrificación y desnitrificación (■) Influyente NH₄⁺, (□) Efluente NH₄⁺, (△) Efluente NO₃⁻.

La concentración de nitrato reducido a N₂ dependió de la relación DQO_A/N_t aplicada. Durante los días de operación 90 a 110, no se realizó adición de una fuente externa de carbono, obteniéndose solo un 15% de eliminación de nitrógeno, debido a la baja relación DQO/N_t que presentan estas aguas residuales (2,9-4,2). Aunque la relación estequiométrica C/N es 1,28, en la práctica es necesaria una relación superior de 2,39 debido a la demanda adicional para la síntesis celular (Mosquera-Corral, 1998). Diversos autores han realizado estudios empleando fuentes de carbono como metanol, glucosa o acetato para determinar la relación de DQO/N que permita obtener una completa desnitrificación, obteniéndose un amplio rango entre 2 y 9 g/g (Mateju *et al.* 1992; Tam *et al.* 1992; Akunna *et al.* 1993). Carucci *et al.* (1999) obtuvieron porcentajes satisfactorios mezclando las aguas residuales de la industria de curtidos con aguas residuales municipales hasta alcanzar una relación DQO/NTK de 8 g/g.

Durante los períodos posteriores al día 110, se adicionó metanol como fuente externa de carbono, operando con relaciones de DQO_A/N_t de 1 para el período comprendido entre los días 111 y 150 y una relación DQO_A/N_t de 3 para el período comprendido entre los días 151 y 230, obteniéndose porcentajes de eliminación de nitrógeno de un 30% y 50%, respectivamente. La relación DQO/N -desnitrificado obtenida fue de 9,7 mg DQO/mg $N-NO_3^-$, que es comparable con la relación de 12,5 mg DQO/mg $N-NO_3^-$ encontrada por Szpyrkowicz *et al.* (1991) para aguas residuales de curtiembres tratadas a escala piloto en un sistema predesnitrificante análogo al usado en este capítulo.

Los porcentajes de desnitrificación alcanzados, inferiores a un 50%, indican claramente que los parámetros clave en la desnitrificación son la relación DQO/N (Brond y Sund, 1994) y la biodegradabilidad de las aguas residuales. Respecto a las aguas residuales provenientes de la industria de curtidos, Carucci *et al.* (1999) mencionan que solo un 12% de la materia orgánica presente en este tipo de aguas residuales es rápidamente biodegradable. Diversos trabajos relacionados con la eliminación de nitrógeno con sistemas de lodos activos observaron que al aumentar la cantidad de la fuente de electrones se logra aumentar el porcentaje de desnitrificación (Isaacs y Henze, 1995).

En la Figura 4.18 se indica la DQO en el influente global y en cada uno de los efluentes a la salida de la unidad desnitrificante y nitrificante respectivamente. Durante los tres períodos se trabajó con una velocidad de carga orgánica de 130 mg $DQO/(L \cdot d)$, 160 mg $DQO/(L \cdot d)$ y 300 mg $DQO/(L \cdot d)$, respectivamente, observándose que en esta unidad se elimina el mayor porcentaje materia orgánica, durante el primer período un 70%, en el segundo un 62% y en el tercer período alrededor de un 82%, siendo las concentraciones en el efluente siempre inferiores a 10 mg DQO/L .

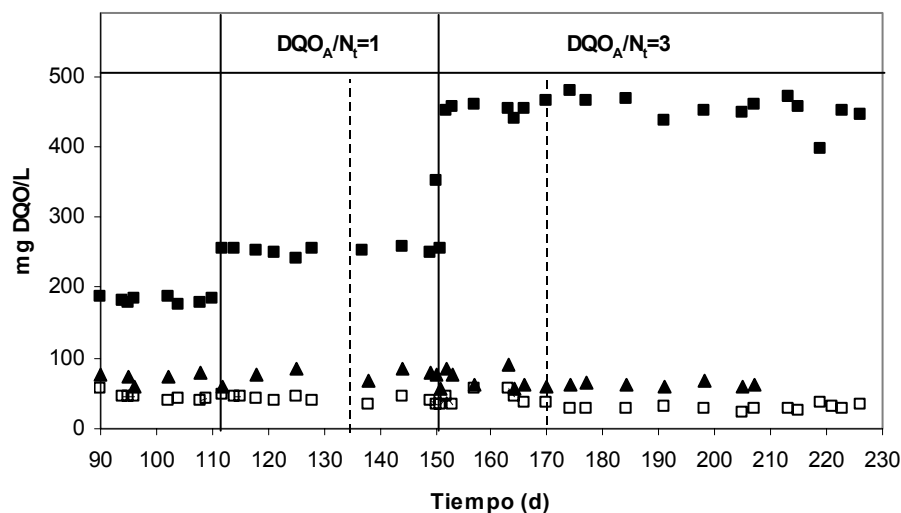


Figura 4.18: Evolución de la materia orgánica soluble durante la etapa de nitrificación-desnitrificación: (■) Influyente al sistema ($DQO_{INF}+DQO_A$), (▲) efluente de la unidad de desnitrificación y (□) Efluente de la unidad nitrificante.

La adición de una fuente externa de carbono y las relaciones empleadas no afectaron al porcentaje de eliminación de la materia orgánica, debido a la buena biodegradabilidad de la fuente de carbono. De las diferentes fuentes de carbono empleadas, metanol, etanol, acetato, etc..., algunos autores como Christensson *et al.* (1994) mencionan que es preferible emplear mejor etanol que metanol, por ser más rápidamente metabolizado. Hallin *et al.* (1996) mencionan que en algunos casos la adaptación de la biomasa al acetato como fuente de carbono es mayor que si se compara con metanol, aunque en muchos casos se emplea el metanol por razones económicas.

Inmediatamente antes del comienzo de esta segunda etapa, donde se anexó a la unidad nitrificante una unidad anóxica, se realizaron ensayos en discontinuo de la actividad desnitrificante con el objeto de evaluar el potencial de desnitrificación del lodo, utilizando dos sustratos (metanol y agua residual bruta). Los ensayos se realizaron con una relación DQO/N igual a 1, obteniéndose una velocidad desnitrificante de 8,77 mg N-NO₃⁻/(g SSV·h) utilizando metanol como sustrato y 5,15 mg N-NO₃⁻/(g SSV·h) empleando agua bruta. La mayor actividad se obtuvo al emplear metanol como fuente de carbono debido a que este sustrato es fácilmente biodegradado por la biomasa a diferencia del agua residual bruta que, a pesar de tener un alto contenido de materia orgánica,

presenta una fracción recalcitrante significativa. Szpyrkowicz *et al.* (1991) obtuvieron una actividad desnitrificante máxima de 7 mg N/(g SSV·h), al tratar aguas de la industria de curtidos con una relación DQO/N de 4,7 en un sistema predesnitrificante, lo que indica la gran importancia de la relación DQO/N-NO₃⁻ para alcanzar una completa desnitrificación. Algunos autores recomiendan valores para la relación DQO/N-NO₃⁻ entre 4 y 6 (Henze 1991, Isaacs *et al.* 1994), rango que en algunos casos varía dependiendo de la fuente de carbono empleada.

4.3.3.- Etapa de operación en semicontinuo

Finalmente en una tercera etapa, se instalaron dos reactores de lodos activos operados en semicontinuo (R1 y R2), llevándose a cabo en sus tanques de reacción los procesos de nitrificación y desnitrificación.

En la Figura 4.19 se observan los datos promediados del porcentaje de eliminación de amonio para cada una de las ocho etapas de operación de los dos reactores, así como las desviaciones estándar correspondientes para cada uno de los periodos de experimentación.

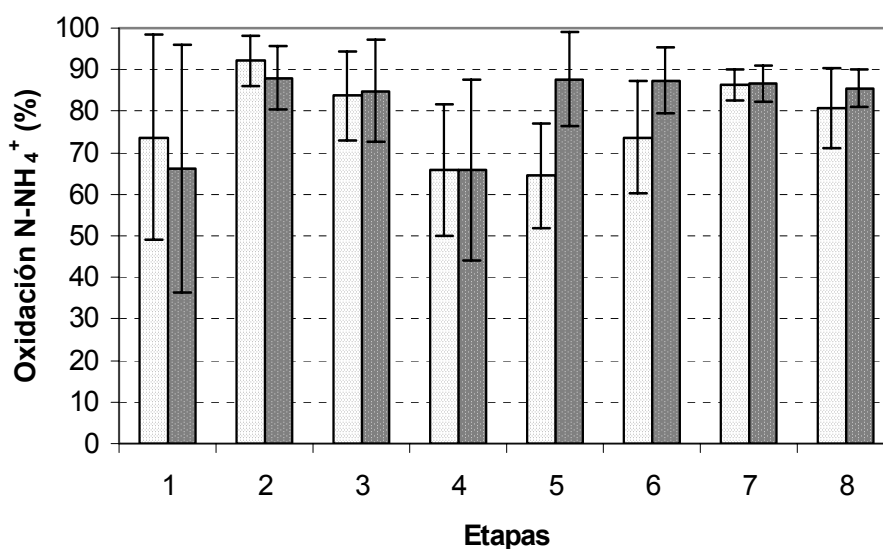


Figura 4.19: Porcentajes de oxidación de amonio a nitrato en los reactores R1 (□) y R2 (■) durante los diversos periodos experimentales y desviaciones estándar durante dichos periodos.

En la Figura 4.20 se señalan los porcentajes medios de eliminación de nitrógeno y las respectivas desviaciones estándar durante los 8 períodos de experimentación.

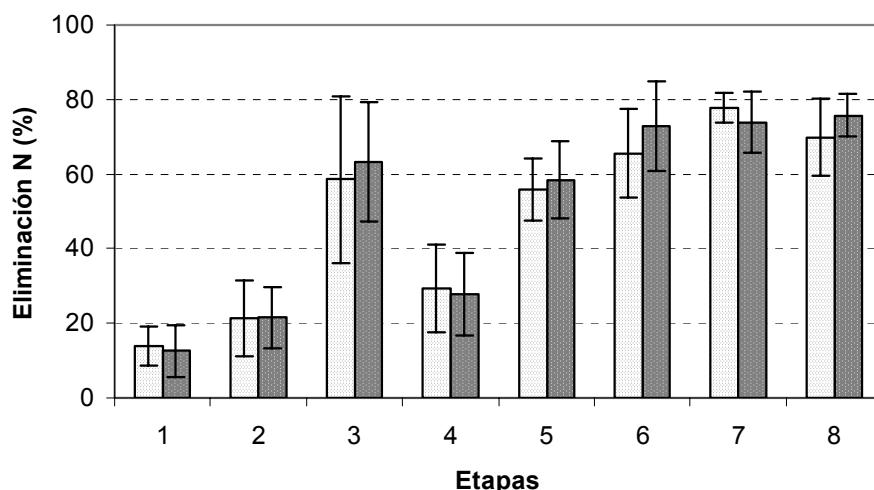


Figura 4.20: Porcentajes medios de eliminación de nitrógeno en los reactores R1 (□) y R2 (■) durante los diversos períodos experimentales; las líneas con cotas muestran las desviaciones estándar en dichos períodos.

Durante el período 1 se alimentaron los reactores con aguas residuales industriales en los que no se la añadía materia orgánica externa, los porcentajes de oxidación de amonio a nitrato alcanzaron valores superiores a un 60%, y fueron mejorando a lo largo del tiempo de operación, lo cual se refleja en la elevada desviación estándar del porcentaje de nitrificación que se obtuvo durante este período, y es normal en los períodos de puesta en marcha. Con respecto a la eliminación de nitrógeno, en la Figura 4.20 se puede apreciar que se alcanzó solo un 10% de desnitrificación, debido a la baja relación DQO/N del influente (3,0-5,0 g DQO/g N). Aunque teóricamente se necesitan tan solo 2,85 gramos de DQO por cada gramo de N-NO_3^- desnitrificado, dicha relación suele ser mayor en la práctica debido por una parte a que una fracción de la materia orgánica utilizada se emplea para el crecimiento celular de la biomasa desnitrificante, y por otra a que la materia orgánica disponible no sea fácilmente asimilable, así Tam *et al.* (1992) encontraron relaciones de 5,4 g DQO/g N-NO_3^- para desnitrificar, empleando aguas residuales industriales de diferentes orígenes que presentaban una fuente de carbono biodegradable, mientras que Carucci *et*

al. (1999) indicaron que se precisan relaciones de DQO/NTK superiores a 8 g/g para tratar aguas de curtiembres en un reactor secuencial alimentado por lotes. Un factor que ha incidido negativamente en la eficacia de la desnitrificación es la propia naturaleza del sistema empleado (reactores de lodos activos con una sola cámara) alimentado en continuo alternando secuencialmente periodos aerobios de 3 h y anóxicos de 1 h, lo que implicó que solo el 25% de la materia orgánica alimentada estuviese biodisponible para la desnitrificación y que la relación efectiva DQO/N fuese de tan solo 0,75-1,25 g/g.

A partir del período 2 y con objeto de incentivar la desnitrificación se procedió a añadir una fuente de carbono adicional durante la fase anóxica. Para ello durante los periodos 2 al 8 se procedió a estudiar la eliminación de nitrógeno usando como fuentes de carbono metanol y aguas residuales de la corriente de ribera con y sin sulfuros.

Períodos 2 y 3.- Durante estos periodos se adicionó metanol como fuente externa de carbono con una relación DQO añadida como metanol y concentración de nitrógeno en la alimentación (DQO_A/N_t) de 1 g/g durante el periodo 2 y de 5 g/g para el período 3. Durante los periodos 2 y 3, los porcentajes de nitrificación se estabilizaron en un 80-90% en ambos reactores, mostrando que la nitrificación no se veía afectada por la adición de esta materia orgánica suplementaria. Gracias a la adición de metanol se logró aumentar los porcentajes de eliminación de nitrógeno hasta un 20% y 60% para las etapas 2 y 3, respectivamente. Durante el período 2 los efluentes de ambos reactores presentaron concentraciones de 40 mg $N-NO_3^-/L$ y 5-10 mg $N-NH_4^+/L$, mejorándose la calidad del efluente en el período 3 en la que se lograron concentraciones de 5 mg $N-NO_3^-/L$ y 10 mg $N-NH_4^+/L$, valores menores que los valores límites de la Tabla 3 del Real Decreto 849/1986 (10 mg $N-NO_3^-/L$ y 15 mg $N-NH_4^+/L$).

Uno de los principales problemas inherentes al uso de metanol como fuente de carbono, es el aumento de los costes de operación del sistema de depuración, por lo que se evaluó el uso de otras fuentes de electrones alternativas para desnitrificar (Skrinde y Bhagat, 1982). Se encontró que gran parte de la materia orgánica que aportaba la corriente de ribera se oxidaba en la balsa de homogeneización de la planta, tal como indicara Szpyrkowicz *et al.* (1991) para otras depuradoras de aguas residuales de tenerías, lo que impedía que llegase una mayor carga al sistema biológico. Con objeto de aprovechar dicha corriente, que tiene una concentración y carga de materia orgánica más que suficientes, se procedió a realizar ensayos en los que esta agua se empleó como fuente de carbono para la desnitrificación en el sistema biológico (periodos 4, 6, 7 y 8).

Período 4.- En esta etapa se procedió a alimentar durante la fase anóxica, influente de la etapa de ribera sin desulfurar fijando la relación DQO_A/N_t en 1 g/g, observándose un brusco descenso de la eficiencia de la nitrificación que bajó hasta el 65% y acumulación de nitrito en el efluente final, alcanzándose hasta 20 mg $N-NO_2^-$ /L, lo que indicaba que se producía una inhibición parcial de las etapas de amonio y nitrito oxidación. Se alcanzó un porcentaje de eliminación de nitrógeno del 30% a causa de la baja relación DQO_A/N_t empleada (Figura 4.20), siendo aún así, más elevado que el obtenido durante la etapa 2, en la que se dosificó metanol a la misma relación DQO_A/N_t de 1 g/g, lo que indica que la desnitrificación no se veía especialmente afectada por la presencia de sulfuro en la corriente de agua residual añadida.

Período 5.- Con objeto de recuperar la nitrificación en las dos unidades, se procedió a añadir nuevamente metanol fijando una relación DQO_A/N_t de 5 g/g, observándose una lenta recuperación de la actividad nitrificante en el reactor 1, mientras que en el reactor 2 se logró rápidamente un 90% de nitrificación, porcentaje similar al alcanzado en el periodo 3. Las concentraciones de nitrito en los dos efluentes disminuyeron hasta alcanzar una concentración de 1 mg $N-NO_2^-$ /L a finales de esta etapa. Los porcentajes de eliminación de nitrógeno fueron análogos a los alcanzados en el periodo 3 en los que se había empleado la misma relación DQO_A/N_t y fuente de carbono.

Período 6.- A partir del día 191, se comenzó a utilizar como fuente de carbono alternativa, aguas residuales de la corriente de ribera que habían sido sometidas a un tratamiento de desulfuración catalítica con aire en una balsa de oxidación de sulfuros (Figura 4.1). Este tratamiento físico-químico se caracteriza por que en el mismo se logra la oxidación del sulfuro a sulfato sin que se elimine prácticamente la materia orgánica presente en la misma (Ylla y May, 2000). Se empleó una relación DQO_A/N_t influente de 5 g/g, manteniéndose el porcentaje de oxidación de amonio en un 90% en el reactor 2 y aumentando hasta un 75% en el reactor 1, mientras que la eliminación de nitrógeno alcanzó el 65 y el 75% en R1 y R2, respectivamente. Este hecho pone de manifiesto la relación existente entre la inhibición de la nitrificación y de la desnitrificación la presencia de sulfuro en el influente, tal como mencionan Henze *et al.* (1995).

Período 7.- En esta fase se incrementó la relación DQO_A/N_t a 7 con el objeto de mejorar la desnitrificación. Ambos sistemas presentaron porcentajes de eliminación de amonio de un 90% y la eliminación de nitrógeno no se vio favorecida con el aumento de la relación DQO_A/N_t , ya que en el reactor 1 sólo aumentó del 65% a un 75% y en el reactor 2 no sufrió variación manteniendo el mismo porcentaje de eliminación de la etapa anterior (75%). Durante este periodo se presentaron problemas de sedimentabilidad del lodo en ambos

sistemas, que no afectaron a la eliminación de nitrógeno o amonio a diferencia de lo ocurrido con la eliminación de materia orgánica

Período 8.- Durante los días 271-320, se operó de nuevo con una relación DQO_A/N_t de 5 g/g y se investigó el efecto del TRS y TRH en la eficacia del sistema. En un primer subperíodo (días 271-300) se evaluó el comportamiento de los reactores al modificar el TRS, observándose que para el reactor 1 la disminución del TRS de 30 días a 10 días causaba un aumento de la concentración de amonio en el efluente, alcanzándose valores de 20 mg $N-NH_4^+/L$, mientras que la eficacia del reactor 2 con un TRS de 20 días era similar a la que se obtenía cuando se operaba el mismo sistema a TRS infinito o a la obtenida en el reactor 1 a TRS de 30 d, siendo el valor de la concentración de amonio en el efluente inferior a 10 mg $N-NH_4^+/L$. Se observó que la eliminación de amonio se mantenía constante cuando el TRS se encontraba por encima de un valor de TRS crítico, aspecto que había sido observado anteriormente por Kos (1998).

En el segundo subperíodo (días 301-310) se varió el TRH de 24 a 12 horas, observándose una leve disminución de la nitrificación debido al incremento de la VCN de 0,10 a 0,13 kg $N-NH_4^+/(m^3 \cdot d)$ y de la VCO de 0,35 a 0,46 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$, aunque la calidad de los efluentes no superó los límites establecidos en la norma. Durante el tercer subperíodo (311-320 días) se fijó el TRH en 8 h y se trabajó con una VCN de 0,2 kg $N-NH_4^+/(m^3 \cdot d)$ y una VCO de 0,70 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$, alcanzándose concentraciones de amonio en el efluente del reactor 1 de unos 40 mg $N-NH_4^+/L$ y menores de 20 mg $N-NH_4^+/L$ en el reactor 2, lo que indica que los sistemas se hallaban ligeramente sobrecargados, especialmente en la unidad 1 que opera con un menor TRS. Sin embargo, se obtuvo una eliminación de nitrógeno similar a la obtenida en la subetapa anterior, ya que la concentración de nitrato en los efluentes de los dos reactores fue de unos 5 mg $N-NO_3^-/L$.

La comparación de los porcentajes de eliminación de nitrógeno durante las etapas experimentales en las que se operó con las mismas relaciones DQO_A/N_t pero usando fuentes de carbono diferentes, pone de manifiesto que se alcanzaron eficacias más elevadas cuando se emplea agua residual de ribera que cuando se emplea metanol, lo que indica que el uso del agua de ribera desulfurada no solo resulta adecuado por el ahorro de reactivos que implica, si no también por su mayor potencialidad para desnitrificar (compárense en la Figura 4.20 las eficacias obtenidas durante los periodos 3 y 5 con las obtenidas durante los periodos 6 y 8).

En la Figura 4.21 se observa la evolución de la eliminación de materia orgánica, en términos de DQO, para cada uno de los dos sistemas utilizados. Se observó

una respuesta similar a la eliminación de materia orgánica en los dos reactores, observándose que parámetros tales como el porcentaje de eliminación de materia orgánica o la concentración de DQO soluble en el efluente final, dependían más del lote particular de agua residual utilizada en cada momento, que de las condiciones particulares de operación de los reactores biológicos.

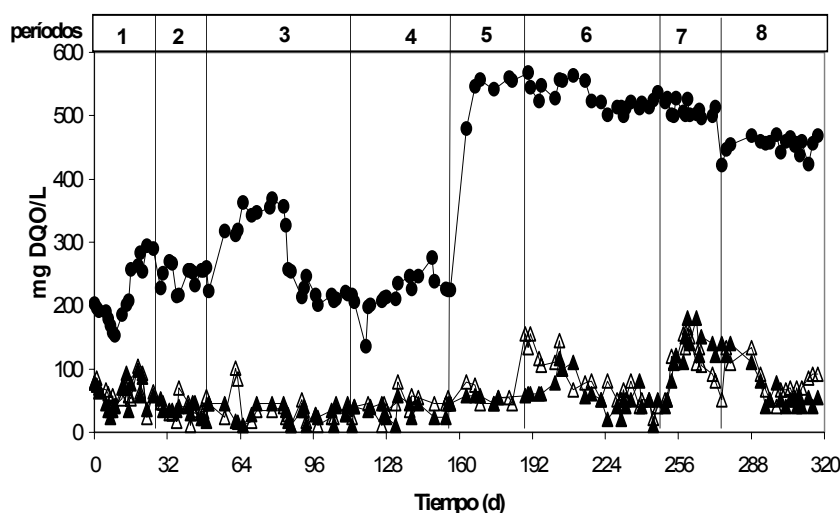


Figura 4.21. Evolución de la concentración de materia orgánica en términos de DQO total, en el influente de los dos reactores (●) y DQO soluble en el efluente de los reactores R1 (△) y R2 (▲), durante las diversas etapas de operación.

Durante prácticamente todo el período experimental se alcanzaron porcentajes de eliminación de DQO superiores a un 80%, siendo la concentración DQO soluble en el efluente inferior a 100 mg/L. Los únicos momentos en los que se superaron estos niveles fueron al final del período 5 en el que la DQO soluble alcanzó 155 mg/L en el R2 y durante el período 7 y primeros días de la período 8 donde la eficiencia de eliminación de materia orgánica bajó hasta el 50% en ambos reactores, alcanzándose concentraciones de DQO soluble de 180 mg/L en los efluentes de ambos sistemas. Las concentraciones de materia orgánica obtenidas fueron superiores a las indicadas en la tabla 3 de la legislación (R.D.849/1986), correspondientes a 160 mg/L.

El aumento de la DQO de salida en el reactor 2 durante el período 5 se debió al aumento de la concentración de materia orgánica en el influente, no afectando esto sin embargo al reactor 1, lo que puede indicar una mayor estabilidad y resistencia a las variaciones de carga de los sistemas que se purgan. El empeoramiento observado durante el periodo 7 y primeros días del periodo 8 se

debió a problemas de sedimentabilidad de la biomasa durante dicho período, obteniéndose valores del IVL superiores a 250 mL/g SSV (Figura 4.22), lo que causó la acumulación de biomasa en los sedimentadores, la hidrólisis parcial de ésta y el incremento tanto de la DQO como de la concentración de sólidos en el efluente, alcanzándose en el efluente de los sistemas concentraciones de sólidos de 100 mg SSV/L.

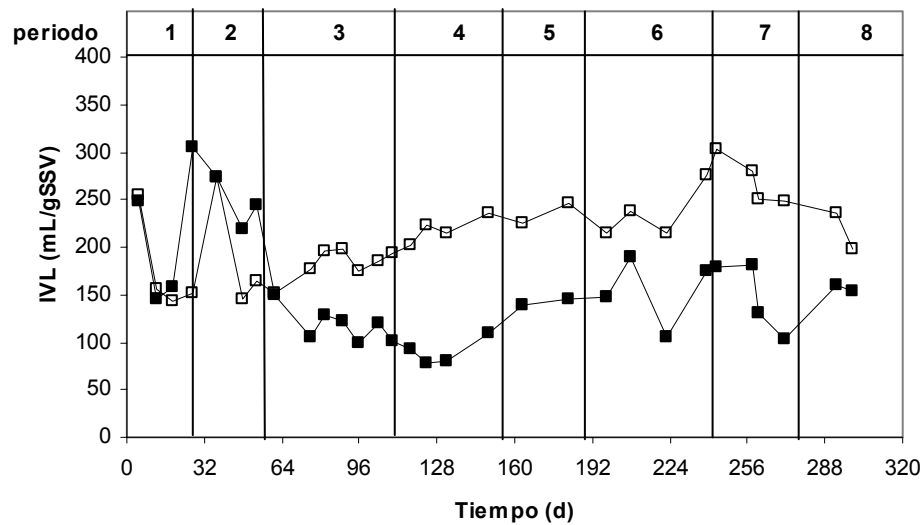


Figura 4.22: Evolución del IVL durante la operación de los reactores (■) R1 y (□) R2.

El análisis microscópico del lodo mostró la proliferación de bacterias filamentosas en la biomasa en el reactor 2 durante dicho período, lo que indicaba que los problemas de sedimentabilidad se debían a problemas de bulking o esponjamiento filamentoso del lodo que se había originado al alimentar los reactores con la relación DQO_A/N_t de 7 g/g durante el periodo 7 (Figura 4.23).

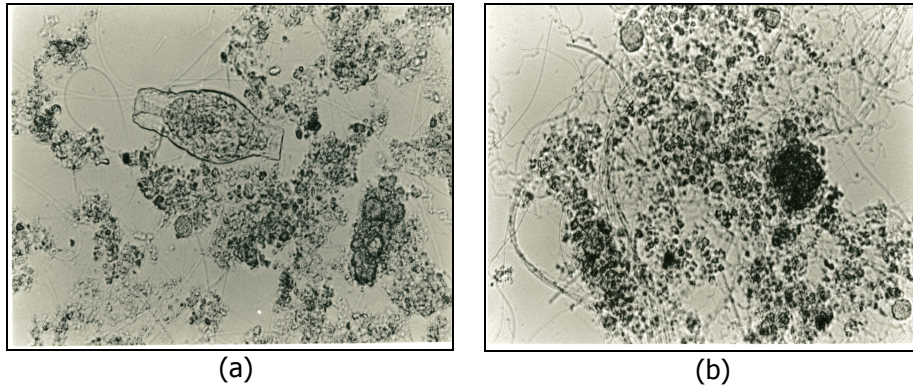


Figura 4.23: Fotografías de la biomasa presente en: (a) R1 y (b) R2.

Durante el período 8 (días 273–320), se operó a una relación DQO_A/N_t de 5 g/g, además se disminuyó el TRS de los reactores 1 y 2 a 10 y 20 d, respectivamente. Se observó una rápida mejora de las propiedades de sedimentabilidad del fango, que se tradujeron en la mejora gradual de la calidad del efluente durante este periodo experimental. Se realizaron, asimismo, experimentos que tuvieron como objeto el probar la fiabilidad de las dos unidades a VCO más elevadas que las utilizadas en el sistema industrial disminuyendo el TRH (Tabla 4.3). Durante prácticamente toda esta etapa se utilizó agua residual de un mismo lote (Tabla 4.2) siendo la DQO del efluente depurado mayor durante los primeros días cuando el sistema opera a 0,35 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$ (0,17 kg $DBO_5/(m^3 \cdot d)$), que durante los días posteriores en los que se trabajó con VCO de 0,46 ó 0,70 kg $DQO/(m^3 \cdot d)$ (0,23-0,34 kg $DBO_5/(m^3 \cdot d)$). Dichas cargas están dentro del rango recomendado por Metcalf y Eddy (1988) de VCO 0,08-0,32 kg $DBO_5/(m^3 \cdot d)$ para sistemas nitrificantes de una etapa.

En la Figura 4.22, se observa que durante todo el periodo experimental el IVL alcanzado en el R2 fue siempre superior al R1, de lo que cabe esperar que la velocidad de sedimentación disminuya cuando los sistemas se operan a altos TRS. Sin embargo, el rendimiento celular aparente obtenido en el R2 (0,08 g $SSV/g DQO_{eliminado}$) es menor que el alcanzado en el R1 (0,15 g $SSV/g DQO_{eliminado}$) que operó con TRS de 30 y 10 días.

4.4.- CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en las tres etapas con los tres sistemas experimentales han demostrado que se puede mejorar la eficacia del sistema biológico industrial, mediante algunas modificaciones en la estrategia de operación o en la configuración de los reactores.

En la primera etapa en estudio (etapa nitrificante) se demostró que es posible incrementar el porcentaje de nitrificación mediante la adición de una fuente de carbono inorgánico, mejorando la calidad del efluente en términos de eliminación de amonio. La variación del TRH no afectó a la nitrificación, lo que indica que es posible operar a diferentes velocidades de carga nitrogenada. Las buenas propiedades de sedimentabilidad del lodo obtenidas permitieron obtener un efluente con una concentración de biomasa inferior 23 mg SSV/L, claramente menores a las habitualmente obtenidas en la unidad industrial.

En la segunda etapa (etapa desnitrificante) se estudió el efecto de la adición de una fuente externa de carbono para incrementar la baja relación DQO/N que presentan las aguas residuales utilizadas como influente al reactor biológico. Durante los primeros 20 días de operación de estas unidades no se obtuvo porcentajes significativos de eliminación de nitrógeno en el reactor anóxico, debido a la baja razón DQO/N que presentan este tipo de aguas. Después de adicionar una fuente de carbono externo (metanol), la eficacia del sistema aumentó a un 35% cuando se operaba con una relación $DQO_A/N_t=1$ y se alcanzó un 50% de eliminación de nitrógeno cuando se aplicaba una relación $DQO_A/N_t=3$, lo que indica que las cantidades de carbono adicionado no fueron suficientes para lograr una completa desnitrificación. La unidad aerobia alcanzó durante prácticamente todo el período un 88% de nitrificación.

En la tercera etapa, la estrategia de operación de alternar los ciclos aerobios con los ciclos anóxicos en una misma unidad de lodos activos a escala de laboratorio, demostró que es posible mejorar la eficacia de un sistema obteniéndose un agua residual depurada que cumple los criterios de la Tabla 3 del R. D. 849/1986. Esta alternativa de operación podría ser aplicada para la mejora de la eficacia de eliminación de nitrógeno de una unidad de lodos activos a escala industrial que depura las aguas residuales de una curtiduría, sin que ello suponga realizar modificaciones en la obra civil de la depuradora.

De los resultados obtenidos se señala que es posible mejorar la eficacia de eliminación de amonio del sistema mediante la adición de HCO_3^- , pero ello supone incrementar el nivel de $N-NO_3^-$ en el agua residual que se tiene que eliminar mediante un sistema biológico.

La mejora de los rendimientos de eliminación de nitrógeno en el reactor biológico industrial se alcanzaría mediante el empleo de alguno de los dos procesos alternativos estudiados, como sería el uso de un reactor de lodos activos con una unidad de predesnitrificación acoplada o la operación del reactor con una estrategia de operación semicontinua. El problema de la primera opción radica en que implicaría una reforma profunda de la obra civil existente en la depuradora industrial, lo cual sería caro (construcción de una nueva cámara, limitaciones de espacio para nuevos equipos, etc.) e implicaría además, el vertido de agua residual parcialmente depurada durante un período temporal prolongado. La segunda opción, reactor semicontinuo, no solo es una buena alternativa para mejorar la eficacia de eliminación de nitrógeno en la depuradora analizada, si no que también podría ser implementado en otros sistemas biológicos similares que se diseñaron en principio para la eliminación de materia orgánica, siempre y cuando dicha instalación no esté operando sobrecargada. Una ventaja a destacar del sistema de lodos activos operado en semicontinuo que se propone es que puede ser implementado en la depuradora con pequeñas modificaciones en la misma, ya que solo exige la instalación de agitadores sumergidos y pequeños cambios en el sistema de control de la misma. Además, hay una disminución del coste debido a que en este sistema se evita la recirculación.

Una de las conclusiones más importantes de este trabajo ha sido demostrar que es posible prescindir de la costosa adición de una fuente de carbono externa, pudiéndose emplear en este caso aguas residuales provenientes de la etapa de ribera que se caracterizan por tener una elevada carga orgánica, incluso aunque presenten un cierto contenido de sulfuros.

La variación del TRS no afectó a los rendimientos de eliminación de nitrógeno y materia orgánica, pero si afectó a las propiedades de sedimentabilidad del fango, incrementándose los valores del IVL para TRS altos. Sin embargo, a elevados TRS se obtuvo un bajo rendimiento aparente de la biomasa, reduciéndose por tanto la producción de fango. Una alternativa a este sistema sería la aplicación de un sistema en el que se pudiese operar con altos TRS y que las propiedades de sedimentabilidad no influyan en la eficacia del sistema.

4.5.- REFERENCIAS

Adzet J.M^a (2000) El agua en la tenería. *Tecnología del agua*, **204**, 64-73.

Akunna J.C., Bizeau C., Molleta R. (1992) Denitrification in <nerobic digesters: possibilities and influence of wastewater COD/N-NO_x ratio. *Environmental Technology*, **13**, 825-836.

Andreottola G., Canziani R. and Cossu R. (1990) Rimozione Biologica del Nutrienti dalle acque di scarico. Published by Istituto per l'Ambiente, Milano, pp. 59.

APHA-AWWA-WPCF. (1998) Standard Methods for examination of water and wastewater. 20th Ed. Washington.

Ates E., Orhon D. and Tünay O. (1997) Characterization of tannery wastewaters for pretreatment-selected case studies. *Water Science Technology*, **36**(2-3), 217-223.

Brond S. and Sund C. (1994) Biological removal of nitrogen in toxic industrial effluents, high in ammonia. *Water Science Technology*, **29**, 231-240.

Carucci, A., Chiavola, A., Majone, M. and Rolle, E. (1999) Treatment of tannery wastewater in a sequencing batch reactor. *Water Science Technology*, **40**(1), 253-259.

Christensson M., Lie E. and Welander T. (1994) A comparison between ethanol and methanol as carbon source for denitrification. *Water Science Technology*, **30** (6), 83-90.

Hallin S., Rothman M. and Pell M. (1996) Adaptation of denitrifying bacteria to acetate and methanol in activated sludge. *Water Research*, **30**(6), 1445-1450.

Henze M. (1991) Xapabilities of biological nitrogen removal processes from wastewater. *Water Science Technology*, **23**, 669.

Henze M., Harremoës P., la Cour Jansen J. and Arvim E. (1995) Wastewater treatment. Biological and Chemical Processes. Springer Verlag, Berlin.

Isaacs S.H., Henze M., Søbereg H. and Kümmel M. (1994) external carbon source addition as a means to control an activated sludge nutrient removal process. *Water Research*, **28**, 511. .

Isaacs S.H. and Henze M. (1995) Controlled carbon source addition to an alternating nitrification-denitrification wastewater treatment process including biological P removal. *Water Research*, **29**, 77-89.

Jochimsen J.C., Schenk H., Jeckel M.R. and Hemann W. (1997) Combined oxidative and biological treatment for separated streams of tannery wastewater. *Water Science Technology*, **36**(2-3), 209-216.

Konrad C., Lorber K.E., Méndez R., López J., Muñoz M., Hidalgo D., Bornhardt C., Torres M. and Rivela B. (2002) System analysis of material fluxes at tanneries - an international comparison. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, **86**, 18-25.

Kos Peter (1998) Short SRT (Solids Retention Time) nitrification process/flows sheet. *Water Science Technology*, **38** (1), 23-29.

Mateju V., Cizinska S., Krejci J. and Janoch T. (1992) Biological water denitrification- A review. *Enzyme Microbiol. Technol.*, **14**, 170-183.

Menéndez C. and Díaz M. (1998) Depuración de aguas residuales de tenerías de pieles. *Tecnología del agua*, **183**, 27-32.

Metcalf and Eddy Inc. (1988) Wastewater Engineering Treatment, Disposal. Reuse, McGraw-Hill, New York.

Mosquera-Corral A. (1998) Eliminación biológica de carbono y nitrógeno de efluentes de la industria conservera de productos marinos. Tesis Doctoral. Departamento Ingeniería Química. Universidad de Santiago de Compostela.

Orhon D., Sözen S. Ubay Çokgör E. and Ates Genceli E. (1998) The effect of chemical settling on the kinetics and design of activated sludge for tannery wastewaters. *Water Science Technology*, **38** (4-5), 355-362.

Orhon D., Ates G.E., and Ubay Çokgör E. (1999) Characterization and modelling of activated sludge for tannery wastewater. *Water Environmental Research*, **71**(1), 50-63.

Orhon D., Genceli E.A. and Sözen S. (2000) Experimental evaluation of the nitrification kinetics for tannery wastewaters. *Water S.A.* **26** (1), 43-50.

Skrinde J.R. and Bhagat S.K. (1982) Industrial wastes as carbon sources in biological denitrification. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, **54**, 370-377.

Song Z., Williams C.J. and Edyvean R.G.J. (2000) Sedimentation of tannery wastewater. *Water Research*, **34**, 2171-2176.

Soto M., Méndez R. Y Núñez M.J. (1987) Determinación de la demanda química de oxígeno mediante un método semimicro: aplicación para aguas de elevada salinidad. *Tecnología del agua*, **39**, 111-118.

Soto M., Veiga M.C., Méndez R. y Lema J.M. (1989) Semimicro COD determination meted for high-salinity wastewater. *Environmental Technology Letter*, **10**, 541-548.

Szpyrkowicz L., Rigoni-Stern S. and Zilio-Grandi F. (1991) Nitrification and denitrification of tannery wastewaters. *Water Research*, **11**(25), 1351-1356.

Tam N., Wong Y. and Leung G. (1992) Effect of exogenous carbon sources on removal of inorganic nutrient by the nitrification-denitrification process. *Water Research*, **9**(26), 1229-1236.

Vilas-Cruz M., Gómez J., Méndez R., Lema J.M. (1994) Determinación simultanea de NO₂ y NO₃ en aguas residuales por electroforesis

capilar. Proc. of III International Symposium of Analytical Methodology for the Environment Vol. II Ref. P1-50. Barcelona 23-24 Marzo

Wheatherburn M.W. (1967) Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia. *Anal. Chem.*, 28, 971-974

Yamamoto K. and Win M.K. (1991) Tannery wastewater treatment using a sequencing batch membrane reactor. *Water Science Technology*, **23**, 1639-1648.

Ylla A. and May J.M. (2000) Eliminación de sulfuros en las aguas residuales de la industria de curtidos. *Tecnología del agua*. (204), 74-82.

5

TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES DE LA CORRIENTE DE RIBERA EN UN REACTOR HÍBRIDO DE MEMBRANA

Resumen. En este capítulo se presenta el tratamiento de las aguas residuales de la corriente de ribera de una curtiduría mediante un sistema híbrido acoplado a una membrana de ultrafiltración que se utiliza como sistema de separación sólido-líquido. El sistema experimental consta de un reactor híbrido de lecho circulante acoplado a un módulo externo en el que se sumerge una membrana de ultrafiltración de fibra hueca que se operó durante 230 días. Los objetivos de este estudio fueron evaluar la eficacia de oxidación de materia orgánica y amonio e investigar el efecto del tiempo de retención de sólidos (TRS) de la biomasa en suspensión sobre la eficacia del sistema. La estrategia de operación del reactor se dividió en dos etapas, que se diferencian por el TRS de la biomasa en suspensión.

En la primera etapa, el sistema no se purgó para favorecer el crecimiento e incrementar la concentración de biomasa. En esta etapa la VCN y la VCO aplicadas se incrementaron paulatinamente, hasta alcanzar valores de 1,2 kg N-NH₄⁺/(m³·d) y 4,5 kg DQO/(m³·d), respectivamente. Al final de esta etapa, se obtuvo un 95% de eliminación de materia orgánica y un 80% de nitrificación. En una segunda etapa se manipuló el TRS de la biomasa en suspensión entre 10 y 1 d, observándose que para TRS menores a 5 d el porcentaje de nitrificación disminuía, incrementándose la concentración de amonio en el efluente de 5 mg N-NH₄⁺/L a 10 mg N-NH₄⁺/L. La variación del TRS y el incremento de la VCO en el sistema no afectó a la concentración de DQO en el efluente, obteniéndose una eficacia de eliminación de materia orgánica en torno al 95%, con una concentración de DQO en el efluente de 50 mg DQO/L.

El objetivo de mantener una alta capacidad nitrificante en presencia de materia orgánica, se alcanzó incluso a TRS bajos en este sistema híbrido, debido a la gran capacidad nitrificante de la biomasa de biopelículas, residiendo la mayor parte de la capacidad de oxidación de la materia orgánica en la biomasa en suspensión. Los ensayos de distribución de masas moleculares, mostraron que un 36% del COT presente en la alimentación quedaría retenido en el módulo de membrana empleado de acuerdo al tamaño de poro (0,045 µm).

5.1.- INTRODUCCIÓN

Los reactores de lodos activos, con sus múltiples configuraciones, son los sistemas que se han utilizado comúnmente para el tratamiento de las aguas residuales de curtidurías (Yamamoto y Win 1991, Orhon *et al.* 2000). Las principales ventajas de estos equipos son la robustez, el alto grado de conocimiento y eficacia, aunque solo operan eficazmente a bajas VCO, lo que implica habitualmente la necesidad de contar con grandes superficies de implantación para la construcción de las unidades. Un inconveniente adicional lo constituye el hecho de que en el tratamiento de efluentes industriales es frecuente la aparición de problemas de sedimentabilidad de la biomasa, lo que se traduce en efectos negativos como bulking, sólidos en el efluente, etc.

En el capítulo anterior se presentaron los resultados obtenidos para la eliminación de materia orgánica y nitrógeno, utilizando tres configuraciones de sistemas de lodos activos (nitrificante, predesnitrificante y semicontinuo). Aunque los resultados obtenidos permiten alcanzar los parámetros de vertidos correspondientes a la Tabla III de la normativa regulada por el Real Decreto 849/1986, las VCN y VCO alcanzadas fueron solo de 0,2 Kg N-NH₄⁺/(m³·d) y 0,7 Kg DQO/(m³·d), respectivamente, que son valores razonables para los sistemas de lodos activos.

La tecnología de los biorreactores de membrana (BRM) ha sido utilizada como una modificación de los tratamientos convencionales de lodos activos, donde el sedimentador se reemplaza por una unidad de filtración y a través de esta se separa el efluente como permeado. Las principales ventajas de la tecnología de membranas son el buen control del tiempo de retención de sólidos (TRS) y la posibilidad de operar a altas concentraciones de biomasa (Diestre y Fuentes, 1998). Dependiendo del tamaño de poro de la unidad de filtración es posible retener un mayor porcentaje de componentes (microorganismos, proteínas, minerales etc.) mejorando así considerablemente la calidad del efluente. La producción de lodos, en los biorreactores de membrana es mucho menor que en un tratamiento convencional debido a la baja relación alimento/microorganismos (A/M) (Van Dijk y Roncken, 1997).

Existen diversos estudios de aplicación de BRM a escala de laboratorio, piloto e industrial para el tratamiento de aguas residuales municipales e industriales. Gander *et al.* (2000) determinaron a escala piloto las máximas eficacias alcanzadas usando tres membranas, polipropileno hidrofílico, polipropileno hidrofóbico y polisulfona, para el tratamiento de aguas residuales municipales, obteniendo efluentes de excelente calidad en términos de materia orgánica con la membrana de polipropileno hidrofílico, aunque el porcentaje de eliminación de coliformes totales alcanzado en la membrana de polipropileno hidrofílico no

permitió obtener un agua residual apta para ser reutilizada. Diferentes autores han descrito aplicaciones a escala industrial para el tratamiento de aguas industriales: Zaloum *et al.* (1994) emplearon un BRM de 2 m³ para tratar aguas residuales aceitosas a VCO de 0,7 kg DQO/(m³·d); Yamamoto y Win (1991) emplearon un nuevo sistema SBMR (Sequencing Batch Membrane Reactor) para el tratamiento de aguas residuales de una industria de curtidos, conteniendo 3 g DQO/L y 25 mg/L de cromo, alcanzando eficacias de eliminación de DQO y cromo total de 96,6% y 97,7%, respectivamente; Van Dijk y Roncken, (1997) trataron agua residual de la industria del cuero en un BRM de 700 m³ con un flujo de 700 m³/d. El agua residual empleada presentaba una concentración de 4,2 g DQO/L y 700 mg N-NH₄⁺/L y se obtuvo un efluente con una concentración de materia orgánica menor de 400 mg DQO/L y una concentración de nitrógeno menor de 50 mg N/L.

Otra aplicación de las tecnología de membranas en la industria de curtidos es la utilización de las membranas para la recuperación de compuestos químicos principalmente baños de cromo, permitiendo así recuperar y reciclar algunos líquidos, reduciendo tanto los costes y el impacto ambiental de los vertidos (Scholz y Lucas, 2003).

Una de las principales limitaciones de los BRM son el ensuciamiento de las membranas y la alta energía de consumo (Cicek *et al.* 2001). El consumo energético aproximado de un BRM está entre 3-4 kWh/m³ frente a los 0,2-0,3 kWh/m³ correspondientes a un sistema convencional (Aya, 1994). Van der Roast *et al.* (2002) desarrollaron un programa en el que compararon cuatro diferentes sistemas de membranas para el tratamiento de aguas residuales municipales, se obtuvieron requerimientos energéticos superiores a 1 kWh/m³ en los sistemas a escala piloto.

Uno de los parámetros operacionales más críticos es el ensuciamiento de la membrana, habiéndose propuesto diferentes métodos para determinar la velocidad de ensuciamiento y la frecuencia de limpieza, además de ensayar diferentes disoluciones de limpieza (Gwon *et al.* 2003; Basu y Huck, 2004). La permeabilidad de la unidad de filtración se ve reducida debido al ensuciamiento causado por el material retenido en la unidad pudiéndose recuperar por medio de limpieza mecánica y/o química (Gander *et al.* 2000).

La frecuencia e intensidad de la limpieza de la membrana depende de la velocidad de carga orgánica, del rendimiento bacteriano, de la producción de polímeros extracelulares y de la retención de sólidos no biológicos en la matriz de la membrana. Dependiendo del tipo de aguas residuales tratadas la frecuencia de la limpieza varía notablemente. Así, Brindle *et al.* (1998) reportaron amplios periodos de tiempo sin necesidad de realizar limpieza en el

tratamiento de aguas residuales sintéticas ricas en amonio y libre de sólidos, mientras que en una planta piloto que trata un efluente de cervecera altamente cargado y con alta concentración de sólidos suspendidos, es necesario realizar una limpieza diaria de la unidad de membrana para mantener la permeabilidad de ésta (Brindle *et al.* 1999).

El tiempo de retención de sólidos afecta el ensuciamiento de la membrana. El incremento del TRS y de la concentración de biomasa traen como consecuencia un mayor ensuciamiento de la membrana y la disminución del coeficiente de transferencia de oxígeno, lo que supone un aumento de los costes energéticos de aireación con respecto a los sistemas convencionales (Lubbeck *et al.* 1995; Nagaoka *et al.* 2000). La acumulación de sólidos en suspensión inertes en estos sistemas hace inviable el operar a TRS infinito debiendo realizar purgar periódicas (Müller *et al.* 1995).

Una opción para alcanzar velocidades de carga más elevadas es la utilización de los nuevos reactores híbridos de membranas desarrollados por Garrido *et al.* (2004) (patente española Nº 2.190.895) que pueden operar a altas cargas con altas velocidades de conversión. Oyanedel *et al.* (2003) emplearon este nuevo sistema, para el tratamiento de efluentes de la industria conservera alcanzando velocidades de conversión de hasta un 99% para velocidades de carga de 1,8 Kg N-NH₄⁺/(m³·d) y 6,6 Kg DQO/(m³·d).

En este capítulo se estudia la aplicación de este nuevo reactor híbrido de membrana, para el tratamiento de aguas de ribera de una curtiduría, siendo los objetivos particulares de este estudio:

1. Seguimiento de la evolución de la actividad y composición de la biomasa en suspensión y adherida al soporte durante el periodo de operación
2. Evaluar el efecto del TRS sobre las eficacias de eliminación de materia orgánica y amonio y las cargas contaminantes totales.
3. Caracterizar y evaluar la operación del módulo de membrana.

5.2.- MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1.- Composición de la fase líquida

La determinación de las concentraciones de amonio, nitrito, nitrato, DQO, oxígeno disuelto, pH y el contenido de sólidos en la fase líquida se realizó de acuerdo a la metodología descrita previamente en el capítulo 4 en la sección 4.2.1.

5.2.1.1.- Distribución de masas moleculares

Con objeto de estudiar la evolución de compuestos solubles en función de su masa molecular se realizaron determinaciones de diferentes muestras líquidas usando un sistema de ultrafiltración en cascada con agitación (AMICON 8010) en cascada (Figura 5.1) (Logan y Jiang, 1990; Pelekani, 1999). Las muestras se filtraron a través de siete membranas de polietileno sulfona (Amicon), cuyos tamaños de corte fueron de 1000, 500, 300, 100, 30, 10 y 1 kDa, respectivamente. En las fracciones recolectadas se determinó el carbono orgánico total mediante el analizador de carbono Shimadzu y proteína mediante el método de Lowry.

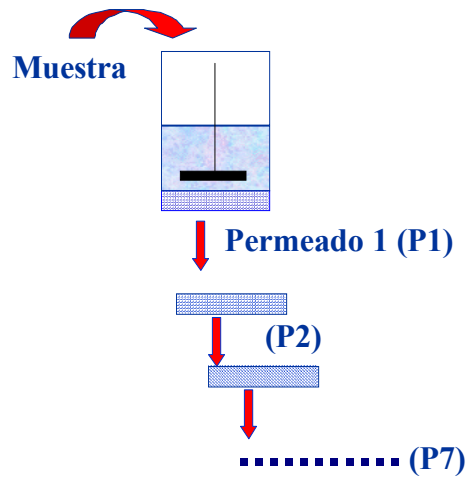


Figura 5.1: Esquema de la filtración en cascada, empleando diferente tamaño de membranas.

5.2.2.- Composición y actividad de la biomasa en suspensión

Se utilizan igualmente los procedimientos ya descritos en la sección 4.2.1 de la presente memoria.

5.2.3.- Composición y actividad de las biopelículas

Para determinar las características de las biopelículas se estableció un procedimiento previo de separación de los soportes, para luego proceder a las correspondientes determinaciones.

5.2.3.1.- Separación y acondicionamiento de las muestras de biopelículas

Para la determinación de los componentes de la biopelícula, se separa previamente la biomasa inmovilizada del soporte, usando un equipo de sonicación con ultrasonidos. Para dicha separación se toma una muestra de soporte, con un volumen comprendido entre 1 y 1,5 mL que se introduce en un tubo de plástico que contiene 7 mL de agua destilada, a continuación se introduce dicho tubo en un baño de hielo, para evitar el calentamiento de la muestra durante el proceso. La sonicación se realiza mediante un sonicador (UP200s, Dr. Hielscher GmbH) durante 3 minutos. Los parámetros a los que se ajusta el equipo se presentan en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1: Parámetros de la onda sónica

Parámetro	Concentración (g/L)
Frecuencia	24 kHz
Amplitud	208 μ m
Ciclo de operación	0,9 s/s

Después de efectuada una primera sonicación se separa el líquido del soporte, se introduce todo el soporte en un segundo tubo que contiene 7 mL de agua destilada, repitiendo la operación de sonicación. Al final de este proceso se separa el soporte del líquido. Como resultado de esta operación se obtienen dos tubos (S1 y S2) cada uno de ellos con 7 mL de solución que contienen la biomasa desprendida desde el soporte y un tercer tubo con el soporte (S3).

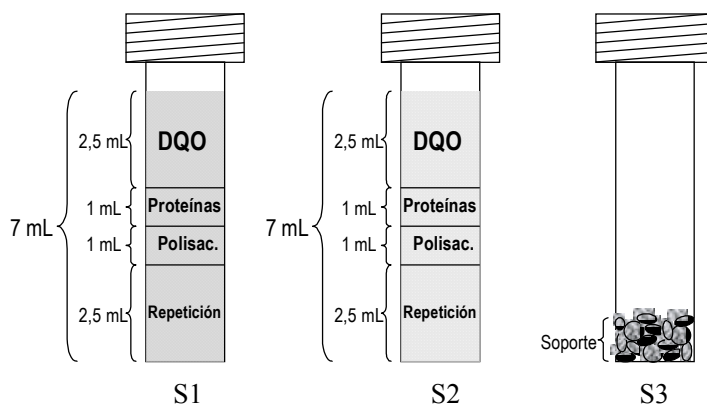


Figura 5.2: Fraccionamiento de las muestras por sonicación. S1 muestra de disolución con biomasa de la primera sonicación, S2 muestra de biomasa desprendida en la segunda sonicación y S3 soporte sonificado dos veces.

Una vez desprendida la biomasa, se procede a realizar la determinación de los distintos componentes de la biopelícula (proteínas, polisacáridos y DQO) tomando de cada tubo diferentes alícuotas de muestra para cada uno de los análisis (Figura 5.2).

5.2.3.2.- Concentración de proteínas.

La cuantificación de la concentración de proteínas en las muestras de biopelículas se realiza utilizando el método colorimétrico de Lowry (Lowry *et al.* 1951) modificado por Peterson (1977) y utilizando reactivos de la casa Sigma (Procedimiento P-5656). El principio del método se basa en que ciertos aminoácidos como tirosina, triptófano, y cisteína reaccionan en un medio alcalino con ácido fosfotungsténico y ácido molibdíco del reactivo de Folin, para dar un complejo incoloro que se puede reducir mediante una reacción lenta con fenol en un complejo de coloración azul detectable por espectrofotometría entre 600 y 900 nm (con una absorbancia máxima a 740 nm). Esta coloración se refuerza por la complejación de sulfato de cobre con los enlaces peptídicos de las proteínas. La intensidad de la coloración obtenida depende del número y del tipo de proteína presente en la muestra a analizar ya que dos proteínas diferentes a iguales concentraciones no desarrollan la misma intensidad de color.

Mc Kinley y Vestal (1985) encontraron que el método de Lowry es el método más sensible y reproducible para la determinación de la proteína total en muestras de lodos de aguas residuales habiéndose utilizado con buenos resultados por otros investigadores para la determinación de biomasa en suspensión o adherida en sistemas de tratamiento de agua (Lazarova y Manem, 1995; Raunkjaer *et al.* 1994).

La determinación de proteínas se realiza de la siguiente forma: una vez separada la biomasa del soporte, se toma 1 mL de muestra obtenida en la primera sonicación (tubo S1) y 1 mL de la muestra de la segunda sonicación (tubo S2) (Figura 5.2) y se introducen cada una en un tubo de ensayo. Asimismo se introduce el soporte sonicado (tubo S3) en un tubo limpio. A cada uno de los 3 tubos se le agrega 1mL del reactivo de Lowry modificado (Sigma ref C-1013) y se homogeneizan durante 30 segundos en el agitador; 20 minutos después se agregan 0,5 mL del reactivo de Folin y Ciocateu de fenol (Sigma ref F-9252), mientras se agita. Una vez adicionado el reactivo se protegen las muestras de la luz durante 30 minutos, tras lo cual se determina la absorbancia a una longitud de onda de 740 nm. Se utiliza como blanco una muestra con agua destilada a la que se le añaden los reactivos, conforme con el protocolo descrito previamente.

La recta de calibrado se realiza utilizando un patrón de albúmina bovina (Sigma, ref P-7656) que posee una concentración de 400 mg/L proteína, realizando

diluciones de este patrón para obtener concentraciones en el rango de 50 a 400 mg/L y aplicando el método de determinación descrito arriba. El calibrado se efectúa cada vez que se reemplaza uno de los reactivos. Para la obtención de la recta de calibrado se realiza una regresión lineal donde se representa el logaritmo de la absorbancia frente a la concentración de proteínas (Figura 5.3).

El cálculo de la concentración de proteína se realiza sumando la cantidad de proteína que se encuentra en solución en los tubos S1 y S2 y la que se encuentra aun ligada al soporte (tubo S3) obteniéndose la cantidad total de proteína en la muestra de soporte. Una vez determinada la concentración de proteína por gramo de soporte, se multiplica este valor por la concentración de soporte que se encuentra en el reactor con lo cual se obtiene la concentración de proteína en el sistema.

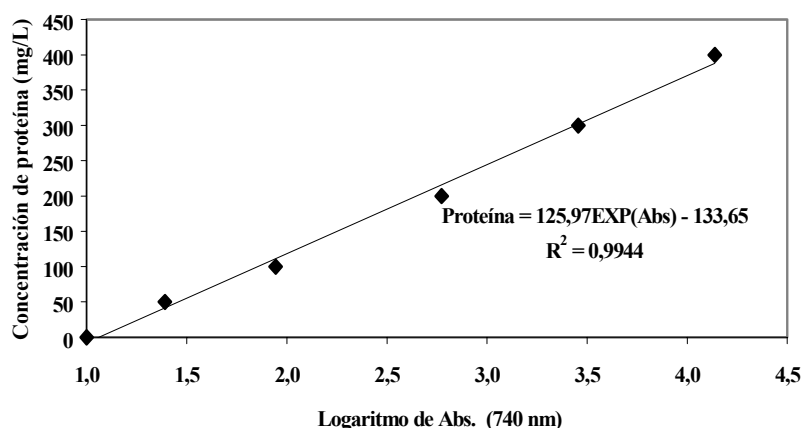


Figura 5.3: Calibrado para la determinación de proteínas.

5.2.3.3.- Concentración de polisacáridos.

El método utilizado para la determinación polisacáridos de la biopelícula es el método colorimétrico de Dubois *et al.* (1951). El principio de este método se basa en la formación de derivados fulfuralquílicos por calentamiento en un medio de ácido sulfúrico concentrado (95-97%), ya que estos derivados reaccionan con el fenol para dar compuestos coloreados detectables a 490 nm por espectrofotometría. Las interferencias de este método son esencialmente los ácidos urónicos aunque algunos soportes de origen orgánico pueden presentar algún grado de reacción con el fenol por lo que no se recomienda la aplicación de este método directamente sobre la biopelícula adherida al soporte. En la

actualidad este método es la única herramienta simple y rápida para la estimación cuantitativa de las matrices exopoliméricas. El hecho de que la glucosa sea el principal componente de ésta justifica su aplicación como patrón en el análisis de la biopelícula (Horan y Eccles, 1986).

La determinación de la concentración de polisacáridos se realiza de la siguiente forma: se toma 1 mL de cada uno de los tubos S1 y S2 (Figura 5.2) y se introducen en un tubo diferente. Se agrega a cada tubo 1 mL de una disolución de fenol de 50 g/L y se homogeniza durante 15 segundos en un agitador, agregando después lentamente 5 mL de ácido sulfúrico concentrado (95 - 97%) por las paredes del tubo de forma que permita la aparición de dos fases. A continuación se homogenizan y se introducen en un baño termostatzado a 100°C durante 5 minutos. Una vez enfriado se mide la absorbancia de la muestra a una longitud de onda de 490 nm, utilizando como blanco una muestra de agua destilada a la que se añaden los reactivos en la cantidad y orden indicados.

La curva de calibrado se realiza utilizando una disolución patrón de glucosa de 100 mg/L que se diluye a concentraciones comprendidas en el rango de 0 - 100 mg/L aplicando el método de determinación descrito previamente. El calibrado debe realizarse nuevamente cada vez que se reemplaza un reactivo. En la Figura 5.4 se presenta una recta de calibrado típica.

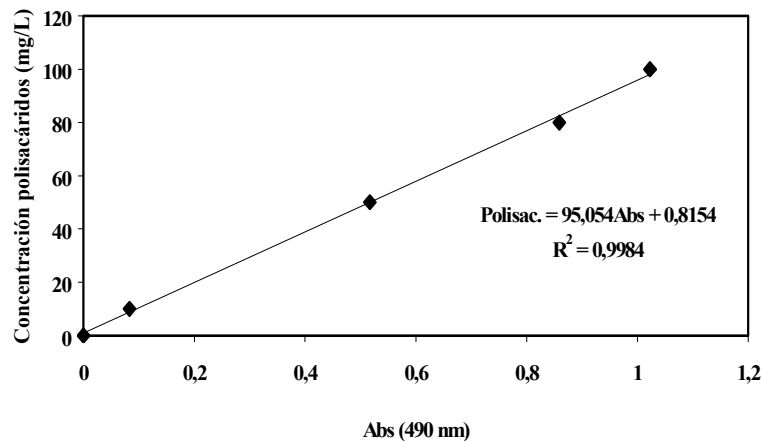


Figura 5.4: Curva de calibrado para polisacáridos

El cálculo de la concentración de polisacáridos se realiza de forma análoga a la determinación de la concentración de proteínas, con la única diferencia en que

en este caso no se mide la cantidad de polisacáridos que permanecen adheridos al soporte después de la sonicación, por lo que en el cálculo el tubo S3 no se considera ya que ensayos previos mostraron que la concentración de polisacáridos en el soporte sonificado es despreciable.

5.2.3.4.- Determinación de DQO de la biopelícula

El método se basa en la medida de la materia oxidable de la biopelícula, expresada como Demanda Química de Oxígeno (DQO). Este método posee las ventajas de una alta precisión ($\pm 0,1 \mu\text{g O}_2/\text{cm}^2$) y un bajo límite de detección ($6 \mu\text{g O}_2/\text{cm}^2$), aunque la principal desventaja es que resulta imposible diferenciar el aporte celular de los exopolímeros.

El método utilizado para determinar la demanda química de oxígeno en la biopelícula es una variante del método microcolorimétrico 5220 - D (APHA, 1998) con ebullición por reflujo total, siendo el rango de medición de DQO desde 20 a 900 mg O₂/L.

La muestra se oxida con dicromato de potasio en un medio ácido (ácido sulfúrico concentrado) en presencia de un catalizador (sulfato de plata) y se lleva a ebullición por reflujo total durante 2 horas. Después de la digestión, el dicromato de potasio consumido se mide usando un espectrofotómetro (HITACHI U-2000), expresando el contenido de materia orgánica en términos de equivalente de oxígeno.

El método utilizado para la determinación de la DQO en estas experiencias consiste en tomar 2,5 mL de muestra desde S1 y S2 (Figura 5.2) que se introduce en dos tubos, se agregan 1,5 mL de solución digestora y posteriormente 3,5 mL de solución catalítica de forma lenta para obtener dos fases, a continuación se cierran los tubos y se agitan para homogeneizar las fases, introduciéndolos inmediatamente en un bloque calefactor a 150°C en donde se dejan durante 2 horas. Una vez transcurrido este tiempo se enfrían en una cámara oscura y se determina la absorbancia de las muestras a 600 nm usando como blanco agua destilada más reactivos.

El calibrado se realiza en un rango de concentraciones de 20 a 900 mg O₂/L a partir de una solución patrón de ftalato de potasio de 1000 mg O₂/L y siguiendo el mismo protocolo descrito previamente, cada vez que se reemplace un reactivo se realiza una nueva calibración del método. En la Figura 5.5 se presenta un calibrado típico.

El cálculo de la concentración de DQO se realiza de forma análoga a la determinación de la concentración de proteínas, con la única diferencia en que

en este caso no se determina la cantidad de polisacáridos que permanecen adheridos al soporte después de la sonicación, por lo que en el cálculo el tubo S3 no se considera. Al igual que en la determinación de proteína y polisacáridos, la concentración de materia orgánica presente en el soporte es despreciable al compararla con las concentraciones obtenida en los tubos S1 y S2.

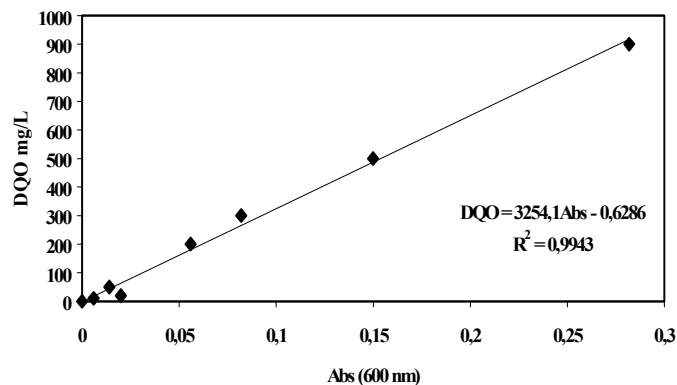


Figura 5.5: Calibrado para la medida de DQO en biopelícula.

5.2.3.5.- Determinación de la actividad de la microbiana de la biomasa adherida

Se utilizó un respirómetro (Yellow Spring Instrument YSI 5300, Figura 4.7) para determinar la velocidad de consumo de oxígeno de la biomasa en presencia de amonio, nitrito o fuentes de carbono orgánico siguiendo la metodología de Tijhuis *et al.* (1995) adaptada para la utilización de biomasa adherida a soporte. La metodología empleada es similar a la descrita en el capítulo 4, con la variación del volumen de muestra, utilizando entre 1 y 2 mL de soporte colonizado y adicionando 10 mL de solución tampón fosfato (Tabla 4.1), continuando ya con la metodología descrita.

5.2.4.- Evaluación del coeficiente global de transferencia de oxígeno (KLa)

Existen diversas técnicas para determinar el valor del coeficiente de transferencia de oxígeno. Uno de estos métodos es el método dinámico, que se aplica interrumpiendo momentáneamente la aireación del sistema y aplicando el siguiente protocolo:

Se fija un caudal de aireación a aplicar al reactor, y con ello la velocidad superficial del gas en el reactor. Una vez fijado este parámetro se airea el reactor hasta que la concentración de oxígeno alcance un valor estacionario. Posteriormente se corta la aireación e inmediatamente se procede a burbujear con nitrógeno, determinando la variación de la concentración de oxígeno con el tiempo. Una vez que la concentración de oxígeno disuelto disminuye a valores límites para la biomasa aerobia 2 mg O₂/L se airea nuevamente el reactor.

El balance de oxígeno aplicado al BRM se puede expresar según la ecuación 5.1.

$$\frac{dO_2}{dt} = K_L a (C_{O_2}^* - C_{O_2}) - R_{O_2} \quad (\text{Ecuación 5.1})$$

Donde:

CO₂* : concentración de saturación de oxígeno en el agua residual
 CO₂ : concentración de oxígeno real en cada instante
 dO₂/dt : variación de la concentración de oxígeno con el tiempo
 RO₂ : velocidad de utilización de oxígeno por unidad de tiempo

Reordenando la ecuación 6.1 se obtiene la siguiente:

$$\frac{dO_2}{dt} = (K_L a \cdot C_{O_2}^* - R_{O_2}) - K_L a \cdot C_{O_2} \quad (\text{Ecuación 5.2})$$

A la vista de esta ecuación está claro que al representar la dO₂/dt en función de la concentración de oxígeno, se obtiene una recta, cuya pendiente es KLa y RO₂ se puede determinar a partir de la ordenada en el origen.

5.2.5.- Sistema experimental

En la Figura 5.6 se presenta un esquema del equipo usado.

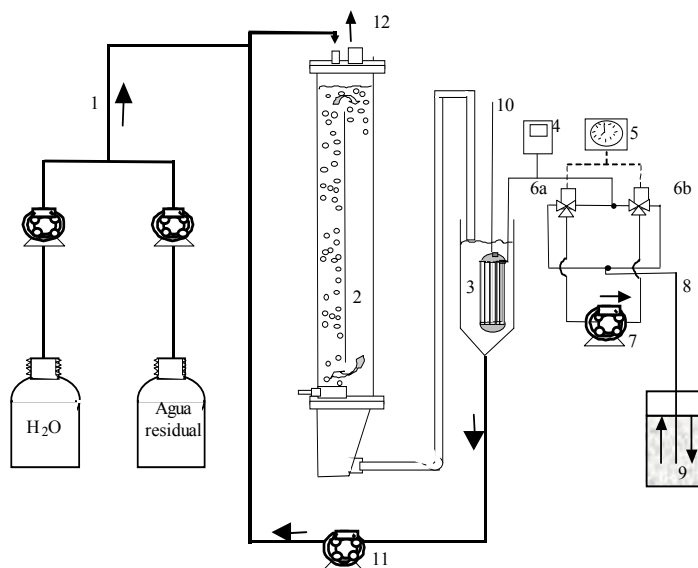


Figura 5.6: Esquema del sistema híbrido de membranas. (1) alimentación, (2) reactor híbrido, (3) cámara de filtración con módulo de membrana, (4) vacuómetro, (5) temporizador, (6a-b) electroválvulas de tres pasos, (7) bomba peristáltica succión-contralavado, (8) efluente permeado, (9) tanque de almacenamiento del permeado, (10) entrada aire limpieza de membrana, (11) bomba de recirculación de lodos, (12) toma de muestra.

El sistema híbrido de membrana consta de un reactor de lecho circulante de un volumen de 5,5 L, en el cual se mantiene biomasa en suspensión y adherida a un soporte granular plástico de densidad $0,89 \text{ g/cm}^3$ al que se le acopló en serie una cámara de filtración externa de 1,2 L en la que se sumerge un módulo de ultrafiltración para la separación sólido-líquido del efluente. El permeado se extrae desde la membrana con ayuda de una bomba peristáltica, mientras que la fracción de lodo retenido se recircula desde la cámara de filtración al reactor. Las principales dimensiones geométricas de los equipos utilizados se han descrito con detalle previamente por Oyanedel (2002).



Figura 5.7: Módulo de microfiltración de fibra hueca

Se utilizó un módulo de ultrafiltración de la compañía Zenon modelo ZW-1 (Figura 5.7). Las principales características del módulo son un tamaño de poro medio de $0,045 \mu\text{m}$ y un área superficial nominal de $0,093 \text{ m}^2$. La presión de operación del módulo de membrana recomendada por el fabricante se encuentra en el rango de 10-50 kPa, realizándose la filtración desde el exterior al interior de las fibras. Para alcanzar una mejor operación del módulo de filtración se utiliza un difusor de aire que permite la eliminación de sólidos depositados sobre la membrana, para lo cual se incorporó un difusor de aire adicional en la parte inferior.

Se aplicaron diferentes protocolos de limpieza del módulo de membrana con objeto de reducir el ensuciamiento de la membrana y así aumentar el tiempo de operación del módulo:

Contralavados con permeado: Periódicamente, se realizaron contralavados con el permeado obtenido que se encontraba en su respectivo tanque de almacenamiento (Figura 5.6). La operación consiste en el cierre y apertura de las electroválvulas 6a y 6b en 90 grados con el objeto de dar paso un determinado caudal de permeado desde el recipiente de almacenamiento de permeado a la cámara de filtración donde se encuentra el módulo de membrana. Esta operación se realiza durante 45 segundos cada 15 minutos durante todo el periodo experimental.

Contralavados químicos: Se realizaron cuando se observaba un incremento de la PTM a valores en torno o superiores a 30 kPa. La operación es similar a la descrita anteriormente, con la diferencia que al permeado se le adiciona una disolución de NaClO hasta alcanzar una concentración de 200 mg/L en el tanque de almacenamiento de permeado. Esta operación se realiza durante 15 minutos.

Lavado químico externo: Cuando la disminución de la presión transmembrana alcanzada tras los últimos contralavados químicos es muy pequeña, se procede a reemplazar el módulo de filtración por otro limpio, sometiéndose el módulo retirado a un lavado químico externo. Este lavado se realiza sumergiendo durante 8 horas el módulo de membrana en una disolución de 250 mg NaClO/L.

5.2.6.- Características del agua residual utilizada

Se recolectaron lotes de agua residual de la corriente de ribera que se utilizó como alimentación al sistema. Las principales características de las aguas utilizadas se presentan en la Tabla 5.2.

Tabla 5.2: Principales características del agua residual empleada como alimentación al reactor híbrido de membrana

Parámetros	Concentración (g/L)
DQO _{soluble}	1,2-2,3
DQO _{total}	2,5-3,5
NTK	0,28-0,48
N-NH ₄ ⁺	0,25-0,45
Cl ⁻	3,2-3,5
SSV	0,6-1,0

5.2.7.- Estrategia de operación

El biorreactor de membranas se operó durante 230 días, incrementándose la velocidad de carga orgánica y de carga nitrogenada paulatinamente hasta alcanzar valores de 4,5 kg DQO/(m³·d) y 1,2 kg N-NH₄⁺/(m³·d), respectivamente. Durante la puesta en marcha del sistema se operó a TRH promedio de 15 h, posteriormente el TRH disminuyó hasta alcanzar valores de 3,1 h. Durante el periodo experimental se distinguen 2 periodos, dependiendo del TRS aplicado al sistema. En un primer periodo, que comprende los 140 primeros días de operación, el sistema no se purgó. Posteriormente en un segundo periodo, que comprende los días de operación 141 al 230 d, se modificó el TRS disminuyéndolo sucesivamente de 10 a 5, 2,5 y 1 d (Tabla 5.3).

Tabla 5.3: Resumen de las condiciones de operación durante el periodo experimental

Período	Operación (d)	VCN Kg N-NH ₄ ⁺ /(m ³ ·d)	VCO kg DQO/(m ³ ·d)	TRH (h)	TRS (d)
1	0-40	0,2	1	≈15	
	41-90	0,2-0,8	1,0-2,5	5-12	
	91-110	1,0	3,0	3,1	
	111-140	1,2	4,5	3,1	
2	141-158	1,2	4,5	3,1	10
	159-180	0,9	4,5	3,1	10
	181-205	0,9	4,5	3,1	5
	206-220	0,9	4,5	3,1	2,5
	221-230	0,9	4,5	3,1	1

5.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los siguientes apartados se muestran los resultados obtenidos durante todo el periodo experimental en el reactor híbrido de membrana.

5.3.1.- Eliminación de materia orgánica

En la Figura 5.8 se observa la evolución del contenido de materia orgánica en el sistema durante todo el período experimental. La concentración de DQO_{total} en la alimentación se mantuvo en torno a 800 mg DQO/L, correspondiendo aproximadamente un 70% de ésta a la materia orgánica soluble.

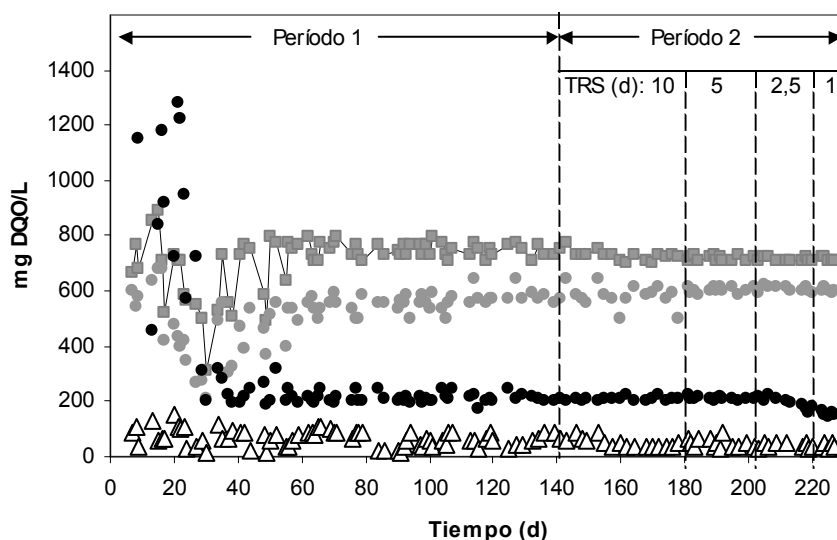


Figura 5.8: Concentración de materia orgánica: en el influente (■) DQO_{total} , (●) $DQO_{soluble}$; en el reactor (●) $DQO_{soluble}$ y en el efluente (△) $DQO_{soluble}$.

Durante los primeros días de experimentación se observó acumulación de materia orgánica soluble en el reactor, alcanzándose concentraciones de 1300 mg DQO/L (día de operación 21) que son claramente superiores a las que se encontraban en el influente. Esta acumulación puede ser justificada debido al uso del módulo de membrana que retiene una importante fracción de materia orgánica. Posteriormente, la concentración de materia orgánica soluble en el reactor disminuyó de forma gradual hasta alcanzar valores estables situados entre 200 y 250 mg DQO/L. A partir del día de operación 41 se puede considerar

que se alcanzó un estado estacionario con relación a la eliminación de materia orgánica en el reactor. La DQO_{soluble} del reactor fue superior a la DQO_{soluble} del permeado, debido a que el tamaño de poro del módulo de ultrafiltración ($0,04 \mu\text{m}$) era menor que el tamaño de poro del filtro de la membrana Gelman Suport ($0,45 \mu\text{m}$) utilizado para determinar DQO_{soluble} . Esto indica que parte de la DQO que se consideraba soluble estaba en realidad constituida por material coloidal que se retenía en el sistema gracias a la acción filtrante de la membrana de ultrafiltración utilizada.

En el segundo período, hasta el día 206 de operación, la concentración de materia orgánica soluble en el reactor permaneció constante en niveles similares a los de la etapa previa. A partir del día 207 se observó una disminución de la DQO_{soluble} en el reactor. La disminución de la DQO_{soluble} en el reactor en un 30% durante el último período experimental puede ser atribuida a que parte de este material coloidal se arrastraba con la purga, apreciando este efecto a TRS menores o iguales de 2,5 d.

En términos de materia orgánica se obtuvo un efluente de excelente calidad, ya que durante el primer período de operación el permeado presentó concentraciones de DQO menores de 100 mg DQO/L y en el segundo período el permeado alcanzó concentraciones inferiores a 50 mg DQO/L. Durante la operación de los sistemas de lodos activos tratando agua residual de curtiembre, presentados en el capítulo 4, se habían alcanzado en el efluente niveles de materia orgánica inferiores a 100 mg DQO/L, pero superiores a 50 mg DQO/L. Los resultados obtenidos ahora se deben probablemente a que el módulo de ultrafiltración retiene una fracción de material coloidal presente en las aguas residuales impidiendo la salida ocasional de sólidos en suspensión del sistema. En un trabajo previo, Oyanedel (2002) trabajando en paralelo con el mismo reactor híbrido con el módulo de ultrafiltración y un reactor híbrido similar pero dotado de un sedimentador secundario, alcanzó una mayor eliminación de DQO en el sistema de membrana. Sang-Min *et al.* (2001) lograron aumentar el porcentaje de eliminación de DQO desde un 57% a un 87% al acoplar un módulo de membrana en un sistema anaerobio.

En la Figura 5.9 se representan las VCO aplicadas al reactor híbrido de membrana y las eficacias alcanzadas. Durante el primer período la VCO de entrada al sistema se incrementó hasta alcanzar un valor de $4,5 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ que se mantuvo en el segundo período. Se obtuvo durante casi todo el período experimental un porcentaje promedio de eliminación de materia orgánica en torno a un 95%. El incremento de la VCO y la variación del TRS no afectaron a la eficacia del sistema, lo que se atribuye a la acción filtrante del módulo de membrana, ya que retiene la fracción del material particulado que presenta un tamaño mayor al del poro de la membrana.

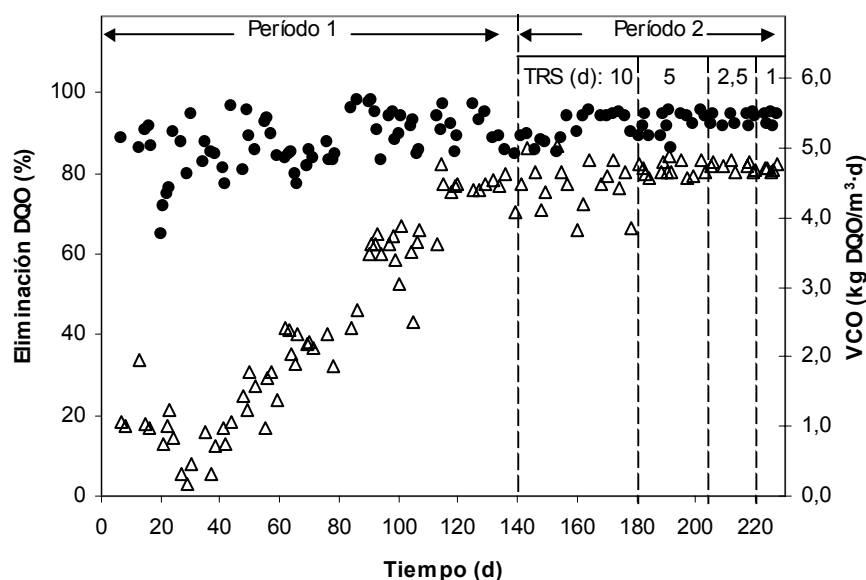


Figura 5.9: Evolución de la materia orgánica en el reactor híbrido de membrana: (●) Porcentaje de eliminación de materia orgánica y (△) VCO aplicada.

La presencia de un módulo de membrana en los sistemas biológicos favorece la obtención de un efluente de buena calidad, principalmente en términos de materia orgánica y sólidos en suspensión. Otros investigadores, Rozzi y Malpei (2003) encontraron igualmente que la eficacia de eliminación de DQO no se ve afectada por la variación de la VCO durante la operación de un BRM, obteniendo porcentajes de eliminación de DQO entre un 89 y 97%, que fueron independientes de la concentración de materia orgánica en la alimentación que varió entre 2 y 10 g DQO/L.

5.3.2.- Oxidación de amonio en el reactor híbrido de membrana

En la Figura 5.10 se presentan las concentraciones de los compuestos nitrogenados obtenidos durante el período experimental, observándose que la concentración de amonio se mantuvo entre 100 y 160 mg $\text{N-NH}_4^+/\text{L}$, siendo la máxima VCN aplicada de 1,2 kg $\text{N-NH}_4^+/(m^3 \cdot d)$.

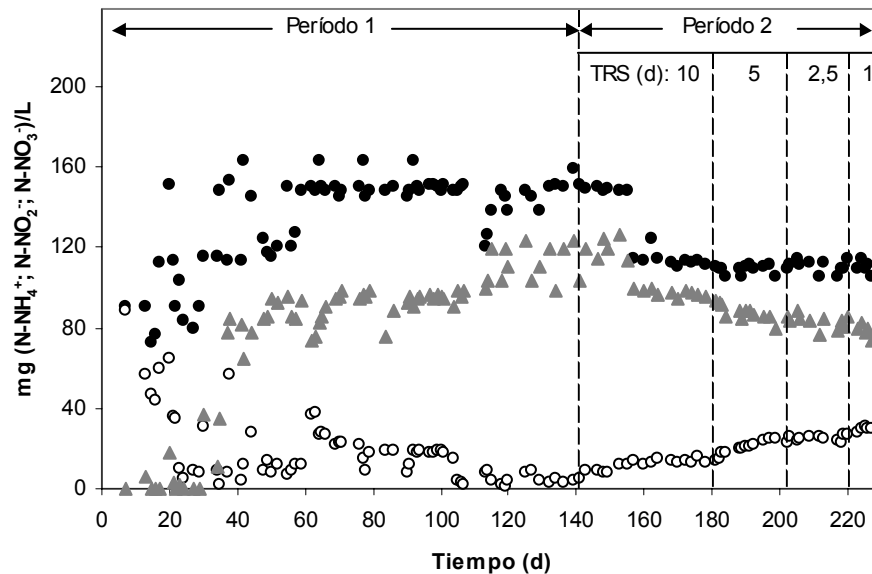


Figura 5.10: Evolución de compuestos nitrogenados durante la operación del reactor: (●) N-NH_4^+ influente; (○) N-NH_4^+ en el efluente; (▲) N-NO_3^- en el efluente.

En una etapa inicial del primer período, primeros 60 días de operación, la VCN se mantuvo en $0,2 \text{ kg N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$, observándose una disminución de la concentración de amonio en el efluente hasta alcanzar concentraciones inferiores a $10 \text{ mg N-NH}_4^+ / \text{L}$. A partir del día 61, la VCN se incrementó paulatinamente de $0,2 \text{ kg N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ a $1,2 \text{ kg N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$, lo que causó que hasta el día de operación 110 la concentración de amonio en el efluente se mantuviese por encima de $20 \text{ mg N-NH}_4^+ / \text{L}$, disminuyendo progresivamente hasta alcanzar valores inferiores a $10 \text{ mg N-NH}_4^+ / \text{L}$ al final del período 1. Al final de este período se alcanzó un 97% de oxidación de amonio, similar a la eficiencia obtenida por Oyanedel *et al.* (2005) con un reactor híbrido similar aplicando cargas análogas.

El segundo periodo se inicia en el día de operación 140 operando con una VCN de $1,2 \text{ kg N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ hasta el día 158 y a partir de este día la VCN se disminuyó a $0,9 \text{ kg N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ que se mantuvo constante hasta el final de la operación (Figura 5.10). Durante el segundo período, se modificó el TRS de la biomasa en suspensión desde 10 d a 1 d. Al disminuir el TRS se observó un aumento de la concentración de amonio en el efluente. Entre los días 140 y 180 de operación, se operó con un TRS 10 d, observándose un incremento de la

concentración de amonio en el efluente desde 5 mg N-NH₄⁺/L hasta 15 mg N-NH₄⁺/L. A partir del día 180, el TRS disminuyó a 5 d, obteniéndose una concentración de amonio en el efluente de 25 mg N-NH₄⁺/L, similar a la alcanzada para un TRS de 2,5 d. Para TRS de 1 d (período que comprende los días 220 y 230 de operación), el efluente alcanzó concentraciones de 30 mg N-NH₄⁺/L.

En el segundo período al manipular los TRS la eficacia de oxidación de amonio disminuyó desde 97% a 76% (Figura 5.11). Esto coincide con lo observado por Cicek *et al.* (2001) en un BRM con membrana tubular externa a escala piloto para tratar aguas residuales municipales, con una carga orgánica entre 0,12 y 1,05 kg DQO/(kg SSV·d) y una carga nitrogenada comprendida entre 0,02 y 0,13 kg NTK/(kg SSV·d), en la que la nitrificación no se ve notablemente afectada por la edad del lodo, aunque disminuye gradualmente a TRS de 2 d, debido a la pérdida parcial de microorganismos nitrificantes. Nah *et al.* (2000) obtuvieron una completa nitrificación en un BRM para largos TRS y una suficiente aireación al tratar aguas residuales domésticas, cuyas principales características son una concentración de materia orgánica entre 64 y 691 mg DQO/L y de amonio entre 7 y 42 mg N-NH₄⁺/L. Sin embargo, Yamamoto y Win (1991) al tratar aguas residuales de una curtiembre con una concentración de materia orgánica entre 1500 y 2200 mg DQO/L y de nitrógeno total entre 132-188 mg/L en un reactor secuencial discontinuo provisto de una membrana de fibra hueca externa, obtuvieron efectos adversos sobre las bacterias nitrificantes para TRS de 10 d, debido a su baja velocidad de crecimiento, obteniendo excelentes resultados para TRS de 20 d.

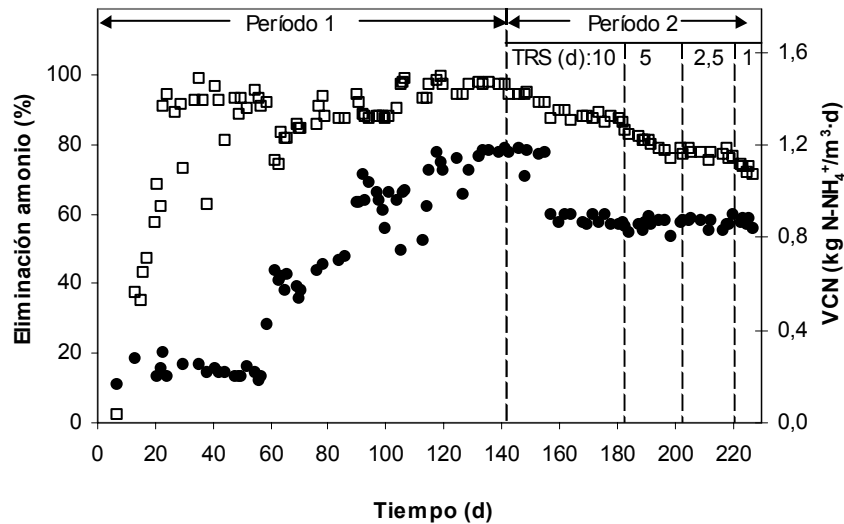


Figura 5.11: Evolución de las VCN aplicadas (●) y los porcentajes de eliminación de amonio (□) durante la operación del reactor.

5.3.3.- Evolución de la concentración de la biomasa en suspensión y de la biopelícula

En la Figura 5.12, se observa la evolución de la concentración de la biomasa en suspensión en el reactor y el rendimiento celular aparente. Durante el primer período (140 primeros días de operación) el reactor no se purgó, observándose un incremento de concentración de la biomasa de 1 g SSV/L a 4 g SSV/L. Durante el segundo período en el que se manipuló el TRS disminuyó la concentración de biomasa en el reactor hasta 1 g SSV/L.

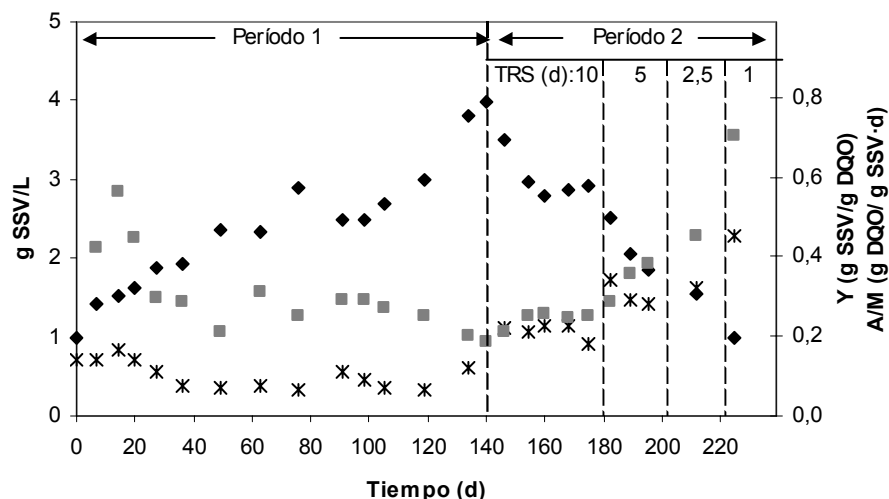


Figura 5.12: (✱) Rendimiento celular aparente, (◆) Concentración de la biomasa en suspensión durante el período experimental y (■) Relación alimento microorganismo (A/M).

El rendimiento celular aparente se estimó en $0,1 \text{ g SSV/g DQO}_{\text{eliminado}}$ durante el primer período. En el segundo período la disminución del TRS del lodo produce un aumento del rendimiento a $0,2 \text{ g SSV/g DQO}_{\text{eliminado}}$ para TRS de 20 d y a valores de $0,45 \text{ g SSV/g DQO}_{\text{eliminado}}$ para TRS de 1 d. Oyanedel (2002) observó rendimientos celulares comparables al operar con el reactor híbrido de membrana a una VCO entre 2 y $3,5 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, obteniendo valores de 0,2 y $0,25 \text{ g SSV/g DQO}_{\text{eliminado}}$, respectivamente para TRS entre 36 y 27 d. Cicek *et al.* (2001) obtuvieron rendimientos celulares muy similares a los obtenidos en nuestro caso durante la operación de un BRM con una membrana tubular externa, para TRS de 10, 5 y 2 d alcanzando valores de 0,324; 0,369 y $0,457 \text{ g SSV/g DQO}_{\text{eliminado}}$, respectivamente. Cote *et al.* (1997) obtuvieron una productividad de $0,25 \text{ g SSV/g DQO}_{\text{eliminado}}$ al tratar agua residual municipal en una planta piloto de membrana sumergida para un TRS de 50 días. Günder y Krauth (1999) obtuvieron una producción específica entre 0,35 y $0,53 \text{ g SSV/g DQO}_{\text{eliminado}}$ para VCO entre 0,03 y $0,1 \text{ g DQO}/(\text{g SSV} \cdot \text{d})$. Iaconi *et al.* (2002) obtuvieron valores de producción de lodo muy bajos alrededor de $0,03 \text{ g SST/g DQO}_{\text{eliminado}}$, empleando agua residual de la industria de curtidos, siendo estos valores significativamente más bajos que los obtenidos en un sistema biológico convencional ($0,3$ y $0,5 \text{ g SST/g DQO}_{\text{eliminado}}$).

Los resultados obtenidos muestran que los valores de producción de lodos en sistemas con membranas son menores si se comparan con los que se obtienen en un sistema convencional de lodos activos. Este hecho ha sido ampliamente constatado para este tipo de sistemas (Canales *et al.* 1994; Van Dijk y Roncken, 1997; Fan *et al.* 2000; Rosenberger *et al.* 2000; Wagner y Rosenwinkel 2000;), pero los mecanismos por los cuales esto ocurre aún se encuentran en debate. Algunos autores sugieren que trabajar con altas edades del fango llevaría a tener una alta actividad endógena y que gran parte de la materia orgánica se utilizaría para mantenimiento celular siendo oxidada sin producir nueva biomasa. Otros autores han observado que este fenómeno está influenciado por la relación A/M aplicada a este tipo de sistemas que se encuentra normalmente por debajo de 0,4 g DQO/g SSV·d lo que llevaría a una gran competición de la biomasa por el sustrato. Wagner y Rosenwinkel (2000) han observado que para relaciones de A/M entre 0,1-0,2 g DQO/(g SSV·d) el crecimiento aparente se realiza muy lentamente.

La biomasa en suspensión presentó malas propiedades de sedimentabilidad ya que se obtuvieron valores de IVL superiores a 300 mL/g SSV (Figura 5.13). Para sistemas con presencia de biomasa en suspensión se ha constatado que el empeoramiento de la sedimentabilidad del lodo se debe a que las elevadas relaciones A/M suelen generar lodos con malas propiedades de sedimentabilidad, hecho que ha sido constatado por algunos investigadores (Kappeter y Gujer, 1994; Takacs y Elielt, 1995 y Oyanedel, 2002) lo que también se ha observado en este sistema.

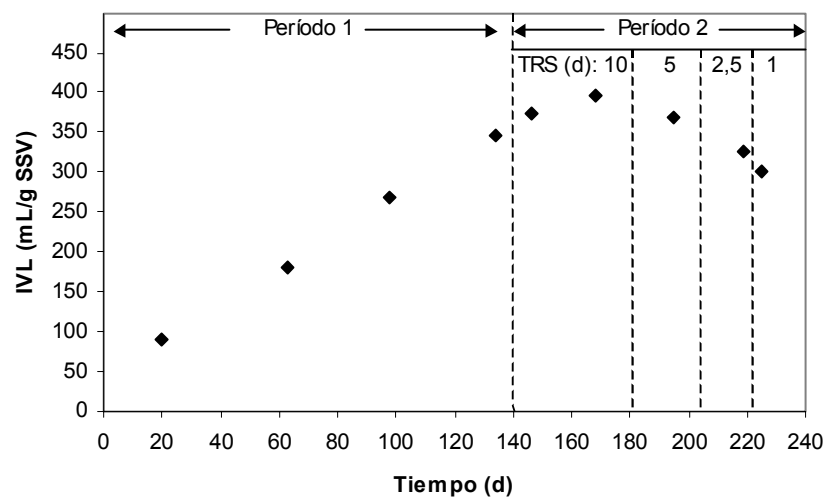


Figura 5.13: Evolución del índice volumétrico de lodo

En la Figura 5.14 se muestran fotografías de la biomasa en suspensión, en las que se aprecia la presencia de protozoos y rotíferos, lo que indica un buen equilibrio de las poblaciones.

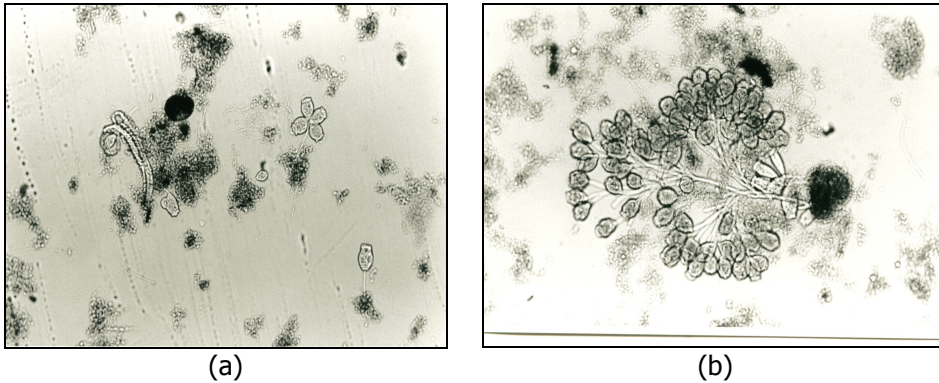


Figura 5.14: Aspecto de la biomasa en suspensión en el biorreactor híbrido de membrana: (a) 10X y (b)40X.

En la Figura 5.15 se muestra la evolución de la concentración microbiana en la biopelícula en términos de concentración de DQO, proteína y polisacáridos por litro de reactor. Inicialmente el soporte utilizado presentó una composición de 370 mg proteína/L, 124 mg polisacáridos/L y 800 mg DQO/L, debido a que se utilizara previamente en otras experiencias.

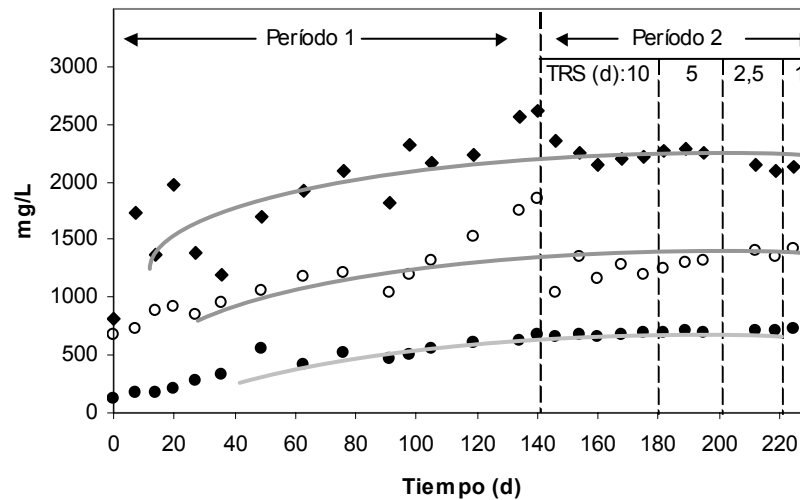


Figura 5.15: Composición de la biomasa adherida al soporte: (◆) DQO, (○) proteína y (●) polisacáridos.

Durante el primer período, se observó un incremento de la concentración de proteína principalmente a partir del día 90 de operación, lo que coincide con el incremento de la VCO a $4,0 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$, indicando crecimiento heterótrofo en la biopelícula. La concentración de la biopelícula se incrementó durante todo el primer período experimental, por lo que al final de este período se obtuvieron concentraciones de 2600, 1800 y 650 mg/L para DQO, proteínas y polisacáridos, respectivamente.

En el segundo período la concentración de polisacáridos se mantuvo prácticamente constante durante todo el período experimental. Sin embargo, se observó una disminución de la concentración de DQO y proteína al operar con un TRS de 10 d, las que posteriormente se incrementaron hasta alcanzar concentraciones de 2100 mg DQO/L y 1200 mg proteína/L y se mantuvieron constantes hasta el final de la operación (día 230). El leve descenso que experimenta la concentración de la biopelícula en DQO y proteína, no afectó a la capacidad nitrificante ni heterótrofa y puede ser atribuido a que se halla alcanzado el equilibrio en el sistema, de manera que los valores obtenidos correspondan a la máxima capacidad de adhesión de la biomasa sobre el soporte.

5.3.4.- Efecto de la concentración microbiana sobre la transferencia de oxígeno

En la Figura 5.16 se muestran los valores obtenidos del coeficiente global de transferencia de oxígeno (K_La) para un rango de velocidades de circulación del aire en el reactor de lecho circulante entre 0,6 y 1,3 cm/s a tres concentraciones diferentes de biomasa. Los ensayos se realizaron con 2,93 g SSV/L, 1,56 g SSV/L y 0,96 g SSV/L correspondientes a la concentración de biomasa de los días de operación 175, 212 y 225, respectivamente.

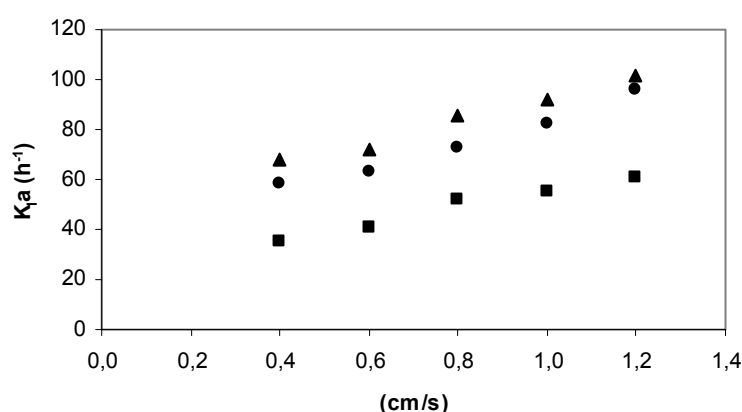


Figura 5.16: Valores de K_La para diferentes concentraciones de biomasa en suspensión. (■) 2,93 g SSV/L, (●) 1,56 g SSV/L, (▲) 0,96 g SSV/L

Se puede observar como el cambio de concentración de biomasa, en este rango afectó a la transferencia de oxígeno, disminuyendo el K_La en un 45%, lo que implica trabajar con un mayor caudal de aire para poder mantener en el reactor concentraciones de oxígeno disuelto superiores a 3 mg O_2 /L. La significativa disminución del K_La para una concentración de 3 g SSV/L respecto a 1 g SSV/L, podría deberse a las características del lodo, que presentaba una viscosidad aparente alta. Esto indica que la relación A/M alta puede generar lodos con viscosidad alta que dificultarían la transferencia de oxígeno.

5.3.5.- Actividad de la biomasa en suspensión y adherida.

En las Figuras 5.17 y 5.18 se presentan las capacidades de oxidación de amonio y materia orgánica en el reactor, respectivamente. Estos valores se calcularon a partir de las actividades específicas nitrificantes y heterótrofas y la concentración tanto de la biomasa en suspensión como de la biopelícula. En la Figura 5.17 se observa que la capacidad total máxima de nitrificación del sistema es de 1,6 kg

$\text{N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y que la biomasa en suspensión tiene una capacidad mayor que la biomasa adherida hasta el día 189. Posteriormente, ambas biomasas alcanzan capacidades similares, para finalmente a partir del día 212 alcanzar una capacidad nitrificante mayor en la biopelícula. Esto indica que la biopelícula contiene una alta fracción de nitrificantes que se incrementa al manipular el TRS a 2,5 d, por tanto, siendo en estas condiciones la capacidad nitrificante del sistema prácticamente debido a la biopelícula.

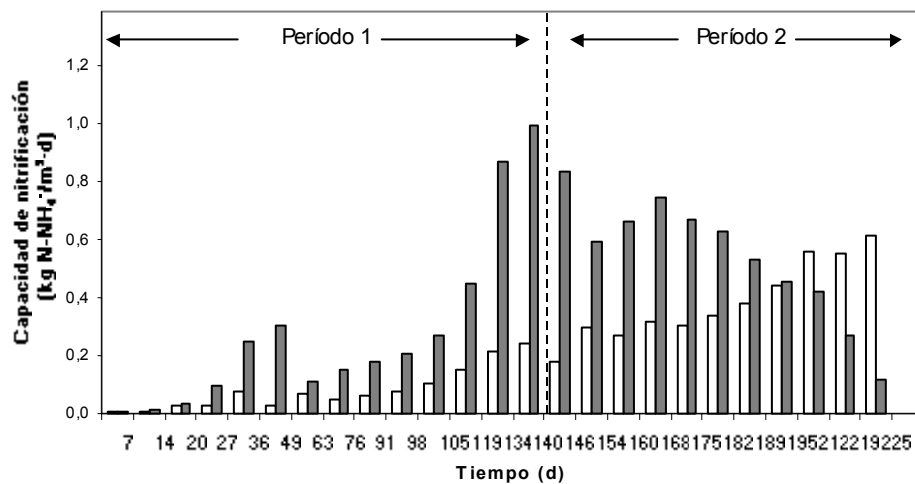


Figura 5.17: Capacidad nitrificante en la biopelícula (□) y en la biomasa en suspensión (■) del reactor híbrido de membrana.

En el reactor se alcanzó una capacidad máxima de oxidación heterotrófica de materia orgánica de $3,2 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ el día de operación 175, siendo la biomasa en suspensión la principal responsable de esta actividad, ya que en la biopelícula se alcanzaron capacidades de $0,2 \text{ kg DQO}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ (Figura 5.18). La manipulación del TRS incrementó la capacidad heterótrofa de la biomasa en suspensión, ya que la máxima actividad se obtuvo a un TRS de 10 d, obteniéndose para TRS menores una actividad mayor que la alcanzada durante el primer periodo de operación del reactor donde no se realizó purga del lodo en suspensión.

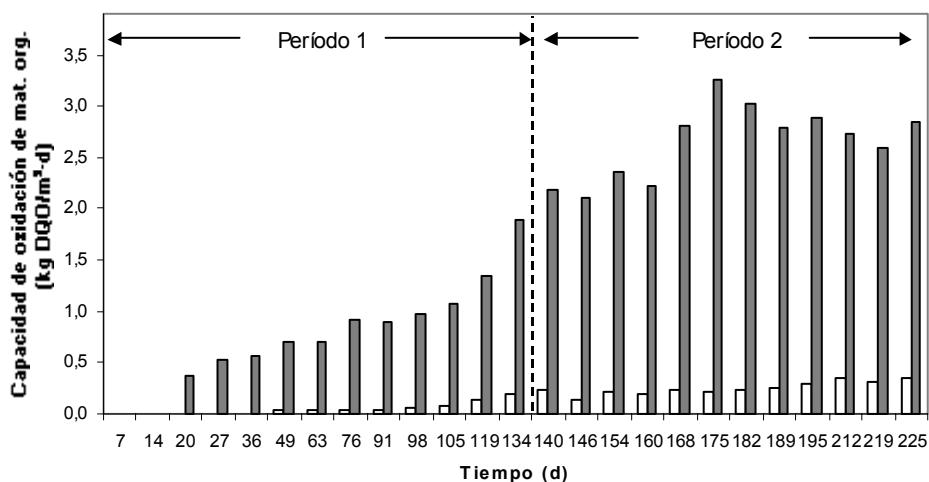
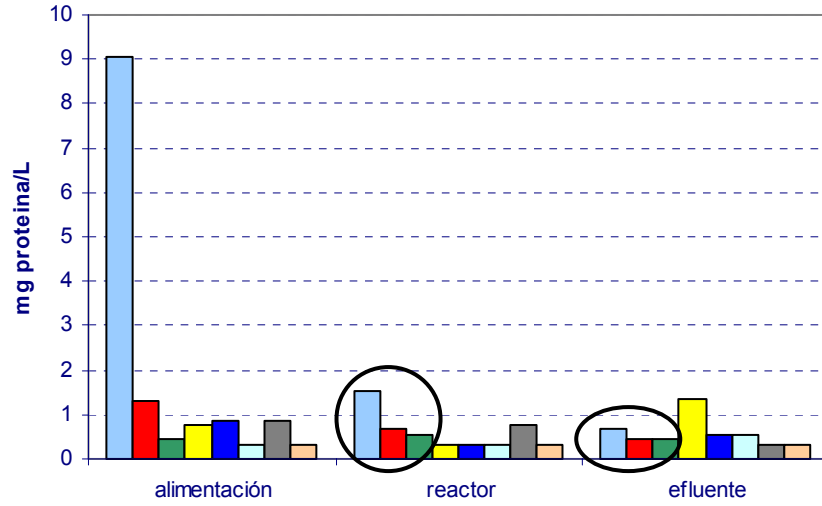


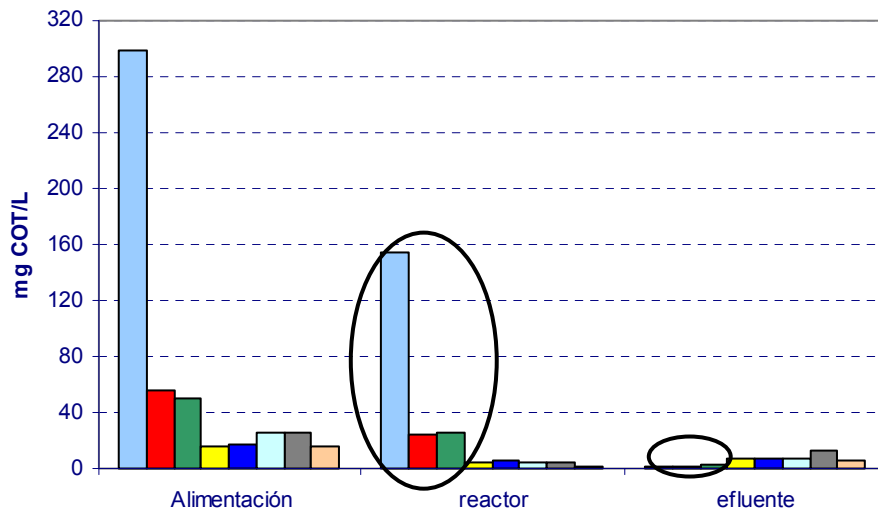
Figura 5.18: Capacidad de oxidación de la materia orgánica en el reactor híbrido de membrana: en la biopelícula (□) y en la biomasa en suspensión (■).

5.3.6.- Distribución de masas moleculares en influente, reactor y efluente

En la Figura 5.19 se muestra la distribución de pesos moleculares para las muestras de: influente, licor de mezcla en el reactor y efluente, tomadas el día 151 de operación en el que se operaba el reactor en condiciones estacionarias a un TRS de 10 d y a una VCN y VCO de $1,2 \text{ kg N-NH}_4^+ / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$ y $4,5 \text{ kg DQO} / (\text{m}^3 \cdot \text{d})$, respectivamente. En esta figura los círculos ponen de manifiesto la retención de la materia orgánica de alto peso molecular por la membrana.



(a)



(b)

Figura 5.19: Distribución de pesos moleculares en el influente, reactor y efluente (día 151). Muestras filtradas a través de una cascada de membranas. (■) 4500-1000; (■) 1000-500; (■) 500-300; (■) 300-100; (■) 100-30; (■) 30-10; (■) 10-1 y (■) 1 kDa.

En la Figura 5.19a se observa como varía la concentración de proteína en las diferentes muestras analizadas. La alimentación presenta una mayor concentración de proteína en el rango de mayor peso molecular, de acuerdo a las características del agua residual. Al analizar el permeado obtenido de la filtración de las muestras a través de diferentes tamaños de poro de las membranas empleadas (rango 4500-1kDa) se observa que las proteínas de mayor peso molecular son retenidas y degradadas por el reactor de membrana, con un módulo de membrana con tamaño de corte corresponde a 400 kDa.

El análisis de COT presentado en la Figura 5.19b, indica que un 36% de la materia orgánica presente en la alimentación queda retenida debido a la filtración a través de la membrana. La membrana retiene partículas en suspensión y solubles cuyo tamaño molecular es igual o superior al tamaño de poro de la membrana. Esto permite alcanzar bajas concentraciones de materia orgánica en el permeado durante todo el período experimental.

El fraccionamiento por ultrafiltración se ha empleado por algunos autores para caracterizar diferentes efluentes de aguas residuales complejas tratados biológicamente (Manka y Rebhum 1982; Leslie *et al.* 1984). El conocimiento de las distintas fracciones presentes en el agua residual, proporcionan información acerca del tamaño de las moléculas que puedan ser retenidas por un módulo de membrana, potenciando en algunos casos el ensuciamiento de los módulos al quedar las partículas retenidas en los poros de la membrana (Fan *et al.* 2001).

5.3.7.- Operación del módulo de membrana

Antes de la instalación de la membrana en el sistema híbrido, se realizó una primera caracterización del módulo determinando la permeabilidad intrínseca máxima de ésta en agua limpia.

En la Figura 5.20, se presentan los valores obtenidos para la caracterización de un módulo de membrana representativo. La pendiente de la línea corresponde al máximo valor de permeabilidad intrínseca que alcanza el módulo de ultrafiltración, en este caso 94 L/(h·m²·bar). Este parámetro disminuye al aumentar el ensuciamiento de la membrana con el incremento de la concentración de sólidos en suspensión, aunque ésta siempre fue inferior a 4 g SSV/L. Los valores de permeabilidad alcanzados son un parámetro importante a considerar para la decisión de un lavado químico de la unidad.

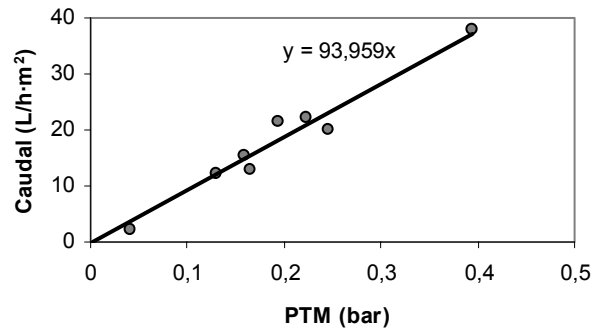


Figura 5.20: Determinación de la permeabilidad intrínseca de la membrana a partir del caudal de permeado y la presión transmembrana (PTM).

En la Figura 5.21, se observa como varía la permeabilidad en el módulo de membrana a medida que pasan los días de operación con una concentración de biomasa menor de 4 g SSV/L. El día 1 indica el primer día de operación de la membrana después de haber sido sometida a un lavado químico, tras el que presenta una permeabilidad inicial de 80 (L/h·m²·bar). A medida que transcurren los días de operación se observa al final de cada ciclo de permeado que la permeabilidad del módulo de ultrafiltración disminuye. En el tercer día de operación se obtiene una permeabilidad de 10 (L/h·m²·bar). Esta disminución de la permeabilidad indica una reducción de la eficacia inicial del módulo de membrana en un 87,5%, producto del ensuciamiento de las fibras. El ensuciamiento del módulo se atribuye a la adhesión de materia orgánica en suspensión sobre la superficie de las fibras y a la retención del material particulado en los poros de la membrana.

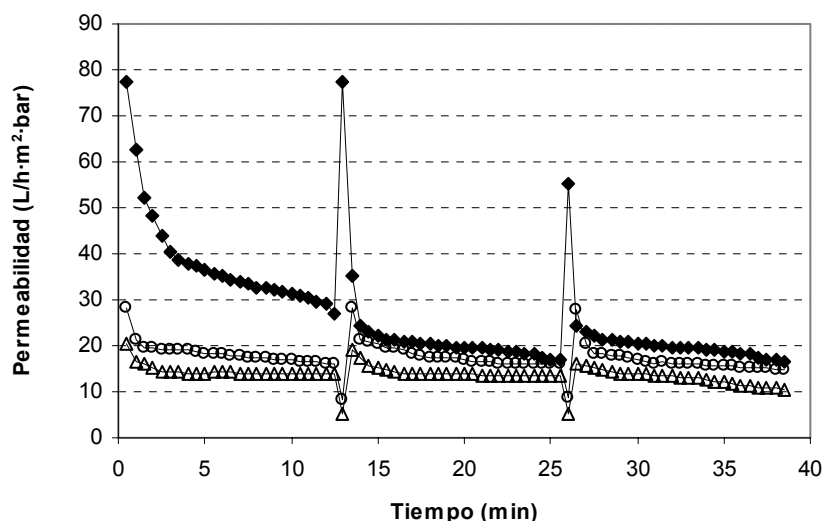


Figura 5.21: Perfil típico de la variación de la permeabilidad durante el período de operación del módulo de membrana para un caudal de permeado constante. Días de operación tras la instalación de una membrana limpia (◆) día 1; (○) día 2; (△) día 3.

Se han estudiado diferentes métodos para incrementar el periodo útil del módulo de membrana: aireación entre las fibras, cambio en los ciclos de permeado, adición de disoluciones diluidas de hipoclorito sódico, combinaciones de lavado con ácido y/o bases, etc. (Sanjeev *et al.* 1995; Bourgeois *et al.* 2001; Guardino 2001; Zoh y Stenstrom 2002).

Con objeto de recuperar parcialmente la permeabilidad del módulo de membrana en operación, se optó por realizar un contralavado químico. Se observa que al realizar el contralavado con la disolución de NaClO la PTM disminuye, por tanto, la permeabilidad del módulo aumenta, reduciéndose así la frecuencia de cambios de la membrana por un módulo limpio.

5.4.- CONCLUSIONES

La combinación de un sistema híbrido con una unidad de filtración, permitió obtener un sistema con alta eficacia de eliminación capaz de operar a altas cargas de materia orgánica 4,5 kg DQO/(m³·d) y de amonio 1,2 kg N-NH₄⁺/(m³·d), obteniéndose un efluente de excelente calidad libre de sólidos en suspensión. Se alcanzaron porcentajes de eliminación de materia orgánica de un 95% durante prácticamente todo el periodo de operación, no afectando a esta eficacia el incremento de la VCO ni la disminución del TRS de la biomasa en suspensión. El porcentaje de nitrificación disminuyó desde un 97% alcanzado en el primer periodo a un 76% obtenido al final del período experimental, debiéndose esta disminución principalmente a la reducción del TRS de la biomasa en suspensión.

El módulo de membrana permitió retener materia orgánica en suspensión y parte del material coloidal, obteniéndose así un efluente con unas concentraciones de materia orgánica en torno a 50 mg DQO/L, valores inferiores a los obtenidos en el tratamiento de aguas de curtiembre en los sistemas de lodos activos. El reactor híbrido de membrana es una excelente alternativa para el tratamiento de aguas residuales industriales complejas.

El sistema llegó a alcanzar una capacidad de nitrificación de 1,6 kg N-NH₄⁺/(m³·d), debido a la presencia de las biopelículas. Se obtuvo también una alta capacidad de oxidación de materia orgánica de 3,5 kg DQO/(m³·d) debido a la presencia la biomasa en suspensión, que se vio favorecida al disminuir el TRS.

El fraccionamiento de las muestras de influente, reactor y efluente permitió obtener información acerca de los distintos componentes presentes en el agua residual de acuerdo al tamaño de poro de la membrana y evaluar las fracciones que se eliminan del efluente pero quedan retenidas favoreciendo el ensuciamiento de la membrana. La membrana de ultrafiltración retiene la mayor parte de la materia orgánica con un peso molecular mayor de 400 kDa.

El aumento de la concentración de biomasa en suspensión afecta negativamente la permeabilidad de la membrana siendo necesario realizar lavados químicos con NaClO diluido. La optimización del modo de operación y de los procedimientos de lavado de la membrana, podría reducir significativamente los costes operacionales de la unidad de filtración.

5.5.- REFERENCIAS

Aya H. (1994) Modular membrane for self-contained reuse systems *WQI*, **104**, 21-22.

Basu O.D and Huck P.M. (2004) Integrated biofilter-inmersed membrane system for the treatment of humic waters. *Water Research*, **38**, 655-662.

Bourgeois K., Darby J. and Tchobanoglous G. (2001) Ultrafiltration of wastewater. Effects of particles, mode of operation, and backwash effectiveness. *Water Research*, **35**(1), 77-90.

Brindle K., Stephenson T. and Semmens M.J (1998) Nitrification and oxygen utilisation in a membrane aeration bioreactor. *Journal Membrane Science*, **144**, 197-209.

Brindle K., Stephenson T. and Semmens M.J (1999) Pilot plant treatment of a high strength brewery wastewater using a membrane aeration bioreactor. *Water Environmental Research*. **71**, 1197-1204.

Canales A., Pareilleux A., Rols J.L, Goma G., Huyard A. (1994) Decreased sludge production strategy for domestic wastewater treatment. *Water Science Technology*, **30** (8), 97-106.

Cicek N., Macomber J., Davel J., Suidan M.T., Audic J. and Genestet P. (2001) Effect of solids retention time on the performance and biological characteristics of membrane bioreactor. *Water Science Technology*, **43** (11), 43-50.

Cote P.,Buisson H., Pound C. and Arakaki G. (1997) Inmersed membrane activated sludge for the reuse of municipal wastewater. *Desalination* **113**, 189-196.

Diestre I. y de las Fuentes L. (1998) Desarrollo de nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas residuales: reactores biológicos de membrana. *Retema* 9-10.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Smith F. (1956) Colorimetric method for determination of sugar and related substances, *Anal. Chem.*, **28** (3), 350-355.

Fan X-J., Urbain V., Qian Y., Manem J., Ng W.J. and Ong S.L. (2000) Nitrification in a membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Water Science Technology*, **34**(1-2), 129-126.

Fan L., Harris J.L., Roddick F. and Booker N. (2001) Influence of the characteristics of natural organic matter on the fouling of microfiltration membranes. *Water Research*, **35**(18), 4455-4463.

Gander M.A., Jefferson B. and Judd S.J. (2000) Membrane bioreactors for use in small wastewater treatment plants: membrane materials and effluent quality. *Water Science Technology*, **41** (1), 205-211.

Guardino R., (2001) Bioreactores de membrana (MBR) para la depuración de aguas residuales. *Tecnología del agua*, 215, 46-51.

Günder B. and Krauth K. (1999) Replacement of secondary clarification by membrane separation results with tubular, plate and hollow fibre modules. *Water Science Technology*, **40**(4-5), 311-320.

Gwon E., Yu M., Oh H. and Ylee Y. (2003) Fouling characteristics of NF and OR operated for removal of dissolved matter from groundwater. *Water Research*, **37**, 2989-2997.

Horan N.J., and Eccles C.R. (1986) Purification and characterisation of extracellular polysaccharide from activated sludge, *Water Research*, **20**, 1427-1432.

Iaconi C., Lopez A., Ramadori R., Di Pinto A.C and Passino R. (2002) Combined chemical and biological degradation of tannery wastewater by a period submerged filter (ABBR). *Water Research*. **36**, 2205-2214.

Kappeter J. and Gujer W. (1994) influences of wastewater composition and operating conditions on activate sludge bulking and scum formation. *Water Science Technology*, **30**(11), 181-193.

Krauth Kh. and Staab K.F. (1993) Pressurized bioreactor with membrane filtration for wastewater treatment. *Water Research*, **27**(3), 405-411.

Lazarova V. y Manem J. (1995) Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment. *Water Research*, **29**(10), 2227-2245.

Leslie C.P., Kirsch E.J., Koczwara M.K., Trgovcich B. and Watt D. (1984) Molecular weight distribution in activated sludge effluents. *Water Research*, **18**(2), 239-246.

Logan B.E. y Jiang Q. (1990) Molecular size distributions of dissolved organic matter. *Journal Environmental Engineering*, **6**, 1046-1063.

Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) Protein measurements with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193** (1), 265-275.

Lübbecke S., Volgelpohl A. and Dewjanin W. (1995) wastewater treatment in a biological high-performance system with high biomass concentration. *Water Research*, **29**(3), 793-802.

Manka J. and Rebhun M. (1982) Organic group and molecular weight distribution in tertiary effluents and renovated wasters. *Water Research*, **16**,399-403.

Müller E.B., Stouthammer A.H., Versaveld H.W. and Eikelboom D.H. (1995) Aerobic domestic wastewater treatment in a pilot plant with complete retention by cross-flow filtration. *Water Research*, **29**, 1179-1189.

Nagaoka H., Komo S., Yamanishi S. and Miya A. (2000) Influence of organic loading rate on membrane fouling in membrane separation activated sludge process. *Water Science Technology*, **41**(10-11), 10-11.

Nah Y.M., Ahn K.H. and Yeom I.T. (2000) Nitrogen removal in household wastewater treatment using an intermittently aerated membrane bioreactor. *Environmental Technology*, **21**, 107-114.

Orhon D., Genceli E.A. and Sözen S. (2000). Experimental evaluation of the nitrification kinetics for tannery wastewaters. *Water S.A.* **26** (1), 43-50.

Oyanedel V. (2002) Desarrollo de reactores biológicos híbridos de alta capacidad para el tratamiento de aguas residuales. Tesis Doctoral. Departamento Ingeniería Química. Universidad de Santiago de Compostela.

Oyanedel V., Garrido J.M., Lema J.M. and Méndez R. (2003) A membrane assisted hybrid bioreactor for the post treatment of an anaerobic effluent from a fish canning factory. *Water Science Technology*, **48**(6), 301-309.

Oyanedel V., Campos J.L., Garrido J.M., Lazarova V. and Méndez R. (2005) Development of a membrane assisted hybrid bioreactor for ammonia and COD removal in wastewater. *J. Chem. Tech. Biotech.* **80**, 206-215.

Pelekani C., Newcombe G., Snoeyink V.L., Hepplewhite C., Assemi S., Beckett R. (1999) Characterization of natural organic matter using high performance size exclusion chromatography. *Environmental Science Technology*, **33**, 2807-2813.

Peterson G.L., (1977) A simplification of the protein assay of Lowry which is more generally applicable. *Anal. Biochem.*, **83**, 346-351.

Raunkjaer K., Hvitved-Jacobsen T. and Nielsen P.H (1994) Measurement of pools of protein, carbohydrate and lipid in domestic wastewater. *Water Research*, **28**, 251-262.

Real Decreto 849/1986. Reglamento del dominio público hidráulico, que desarrolla los títulos preliminar I, IV, V, VI y VII de la Ley 29/1985, B.O.E. 103, 30-04-86.

Rosenberger D., Witzing R., Manz W., Szewzyk U. and Kraume M. (2000) Operation of different membrane bioreactors: experimental results and physiological state of the microorganism. *Water Science Technology*, **41**(10-11), 269-277.

Sang-Min L., Jung J.Y. and Yun-Chul (2001) Novel method for enhancing permeate flux of submerged membrane system in two-phase anaerobic reactor. *Water Research*, **35**(2), 471-477.

Sanjeev G. and Davis R. (1995) Cross-flow microfiltration with high frequency reuse filtration. *AIChE Journal*, **41**(3), 501-508.

Scholz W. and Lucas M. (2003) Techno-economic evaluation of membrane filtration for the recovery and re-use of tanning chemicals. *Water Research*. **37**, 1859-1867.

Takacs I. and Wleit E. (1995) Modelling of micromorphology of activated sludge flock: low D.P. low F/M bulking. *Water Science Technology*, **32**(2), 235-243.

Tijhuis L., Huisman J.L., Hekkelman H.D., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J. (1995). Formation of nitrifying biofilms on small suspended particles in airlift reactors. *Biotechnol. Bioeng.*, **47**, 585-595.

Van der Roest H.F., Van Bente A.G.N. and Lawrence D.P. (2002) MBR-Technology in municipal wastewater treatment: challenging the traditional treatment technologies. *Water Science Technology*, **46**(4-5), 273-280.

Van Dijk L. and Roncken G.C.G. (1997) Membrane bioreactors for wastewater treatment: the state of the art and new developments. *Water Science Technology*, **35**(10), 35-41.

Wagner J. and Rosenwinkel K-H. (2000) sludge production in membrane bioreactors under different conditions. *Water Science Technology*, **41** (10-11), 251-258.

Yamamoto K. y Win M.K. (1991) Tannery wastewater treatment using a sequencing batch membrane reactor. *Water Science Technology*, **23**, 1639-1648.

Zaloum R. (1994) Membrane bioreactor treatment of oily wastes from metal transformation mill. *Water Science Technology*, **30**, 9, 21-27.

Zoh K.D and Stenstrom (2002) Application of a membrane bioreactor for treating explosives process wastewater. *Water Research*, **36**, 1018-1024.

6

DEPURACIÓN DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES A ESCALA PILOTO EN UN BIORREACTOR DE MEMBRANA SUMERGIDA

Resumen. En este capítulo se describe la puesta en marcha y operación de un biorreactor de membrana sumergida (BRM) a escala piloto, Zenon ZW-10, para el tratamiento de dos tipos de aguas residuales industriales: vinazas y aguas residuales de curtidos. El BRM se operó durante 120 d, los 50 primeros con vinazas que presentan un alto contenido de materia orgánica biodegradable y sin sólidos en suspensión, operando a una VCO de 2,2 kg DQO/(m³·d). A partir del día 51 se alimentó el reactor con agua residual de la corriente de ribera de una industria de curtidos, que contiene sólidos en suspensión (0,6-1 g SSV/L y un contenido de materia orgánica lentamente biodegradable elevado (40-60%), operando a VCO de 1,5 kg DQO/(m³·d).

Los porcentajes de eliminación de materia orgánica fueron siempre muy elevados (97% para las vinazas y 86% para las aguas de curtidos) independientemente de la VCO aplicada. Se obtuvieron efluentes de excelente calidad, libres de sólidos y con una baja concentración de materia orgánica soluble. Los rendimientos aparentes de producción de biomasa fueron 0,14 g SSV/g DQO y 0,16 g SSV/g DQO cuando se alimentaron vinazas y aguas de curtiembres, respectivamente.

El aumento de la concentración de biomasa afectó negativamente a la transferencia de oxígeno en el reactor, sobre todo con concentraciones superiores a 8 g SSV/L, siendo necesario incrementar el flujo de aire al aumentar la concentración microbiana.

La permeabilidad intrínseca del módulo de membrana, fue de 207 L/(h·m²·bar). Se controló periódicamente la presión transmembrana (PTM) del BRM realizándose limpiezas físicas y químicas con el objeto de evitar disminuciones significativas de la permeabilidad. Se estudió también el efecto de la concentración de la biomasa sobre la permeabilidad del módulo de membrana y la velocidad de transferencia de oxígeno en el BRM.

Al finalizar la operación del BRM, tras realizar un lavado químico externo del módulo se logró un 91% de recuperación de la permeabilidad de la membrana respecto al valor inicial.

6.1.- INTRODUCCIÓN

Los avances en la tecnología de membranas, especialmente el desarrollo de módulos sumergidos de micro y ultrafiltración, han impulsado el desarrollo de biorreactores de membrana (BRM) para el tratamiento de aguas residuales. Las principales ventajas de operar con estos sistemas compactos son: la posibilidad de operar a una alta concentración de biomasa, obtener un efluente de alta calidad libre de sólidos en suspensión, retener y degradar parte de la materia coloidal presente en el agua residual y disminuir la producción de lodo. Las principales limitaciones son el coste operacional, el ensuciamiento de la membrana y el alto consumo energético (Nah *et al.* 2000; Cicek *et al.* 2001).

En el tratamiento de aguas residuales industriales mediante BRM se utilizan dos configuraciones distintas (Figura 6.1), dependiendo de la ubicación del módulo de membrana, este puede ser externo o esté sumergido. En la configuración de BRM externo, habitualmente se emplean módulos tubulares, haciéndose circular habitualmente el lodo por la parte interior a velocidades relativamente elevadas, lo que implica altas variaciones de la presión de trabajo y con ello un incremento de los costes energéticos. Para la configuración en la que el módulo de membrana está sumergido en el reactor se emplean módulos de filtración de placas o de fibra hueca, estando el lodo en contacto con la parte externa del módulo, siendo necesario una aireación adicional para evitar la deposición del lodo sobre la membrana y evitar así el ensuciamiento.

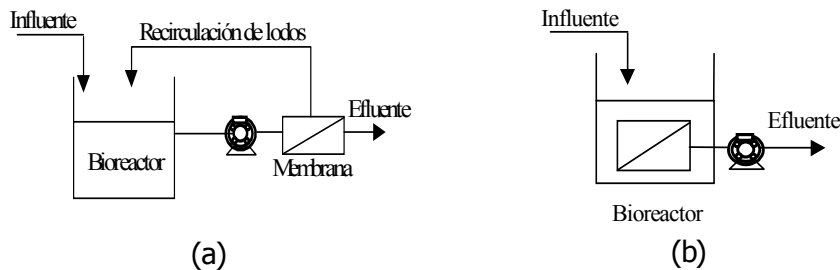


Figura 6.1: Configuraciones de biorreactores de membranas: (a) módulo de membrana externo, (b) módulo de membrana sumergido.

En la Tabla 6.1 se señalan las principales características de cada sistema. La configuración del BRM con módulo sumergido presenta costes de operación más bajos debido a la reducción de costes del bombeo y a la menor frecuencia de limpieza que requiere la membrana.

Tabla 6.1: Principales ventajas y desventajas de las dos configuraciones de los biorreactores de membrana (Stephenson *et al.* 2000)

Sumergida	Externa
Alto coste de aireación	Bajo coste de aireación
Bajo coste de bombeo	Alto coste de bombeo
Bajo flujo	Alto flujo
Requiere una menor frecuencia de lavado	Requiere una mayor frecuencia de lavado
Bajo coste de operación	Alto coste de operación
Alto coste de inversión	Bajo coste de inversión
Equipos comerciales	
- Mitsubishi	- Wehrkle-Werk Biomembrat®
- Zenon Zeeweed®, Zenogem®	- Rhodia-Orelis Pleiade®
- Kubota	
- Hans Hüber AG Hüber VRM®	
- Puron	

La principal aplicación de los reactores biológicos de membrana sumergida es en la actualidad el tratamiento de aguas residuales urbanas, tanto en Europa como en Estados Unidos y Japón, con el objetivo de recuperar y/o reutilizar el agua tratada logrando así un incremento de los recursos disponibles y minimizando el impacto ambiental (DiGiano *et al.* 2004). Las principales instalaciones se ubican en grandes edificios, buscando la reutilización del agua para usos no potables, habiéndose alcanzado reducciones en consumo de hasta un 90% (Irwin, 1990). La tecnología a escala industrial para el tratamiento de aguas municipales ha sido desarrollada, principalmente en Japón y Canadá, habiéndose reemplazado las configuraciones de los módulos tubulares utilizadas inicialmente por los módulos de membranas de fibra hueca, lo que ha disminuido los requerimientos de energía y se ha traducido en un incremento en el número de instalaciones (Van der Roest, 2002). Actualmente, los BRM se están introduciendo también para el tratamiento de las aguas residuales industriales, así como en el tratamiento de lixiviados procedentes de vertederos (Monti, 2001). Diversos estudios han mostrado buenos resultados al aplicar la tecnología de ultrafiltración en la eliminación de nutrientes como nitrógeno y fósforo presente en aguas residuales municipales e industriales (Monti *et al.* 2001, Innocenti *et al.* 2001, Innocenti *et al.* 2002).

En este capítulo se estudia la operación de un biorreactor de membrana sumergida a escala piloto, para el tratamiento de vinazas y de las aguas residuales provenientes de la corriente de ribera de una industria de curtidos.

Las aguas residuales producidas en la industria vinícola, se caracterizan por presentar un alto contenido de materia orgánica fácilmente biodegradable, una

gran variedad de materias disueltas principalmente azúcares y alcoholes y materia en suspensión (Crivillé y Mata-Alvarez, 1995), mientras que, las aguas residuales generadas en el proceso de curtido se caracterizan por presentar un bajo porcentaje de materia orgánica fácilmente biodegradable y una importante concentración de sólidos en suspensión, como se ha podido ver en los apartados 4.2.3 y 5.2.5 de la presente memoria, en las que se presentan las características de las aguas residuales de curtiembre empleadas en las etapas experimentales (Tünay *et al.* 1995, Carucci *et al.* 1999, Orhon *et al.* 2000). Características comunes a ambos sectores industriales, industria del vino y de fabricación de pieles, son la alta carga contaminante que presentan sus efluentes y la distribución anual irregular de los caudales de los efluentes, lo que dificulta el tratamiento, siendo necesario la aplicación de tratamientos biológicos flexibles.

Los objetivos particulares de este estudio los siguientes:

1. Puesta en marcha de un reactor de membrana sumergida a escala piloto
2. Seguimiento de la eliminación de materia orgánica de aguas residuales industriales (de vinazas y de la corriente de ribera de la industria de curtidos)
3. Evaluación de la operación del módulo de membrana

6.2.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1.- Métodos analíticos

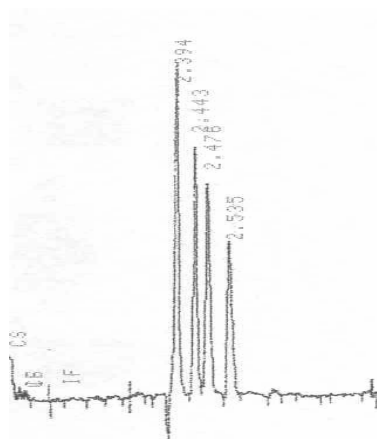
Las concentraciones de amonio, nitrito, nitrato y DQO se determinaron de acuerdo a las metodologías descritas en la sección 4.2.1 del capítulo 4. Las mediciones de oxígeno disuelto y pH en el reactor se realizaron según descripciones de la sección 4.2.1 del capítulo 4.

Determinación de sulfato, cloruro y fósforo por electroforesis capilar

Las concentraciones de sulfato, cloruro y nitrato se han determinado individualmente mediante electroforesis capilar (Waters Capillary Ion Analyzer). Para la realización de los análisis las muestras se filtraron previamente a través de filtros de membrana Gelman Suport 0,45µm. Se empleó como electrolito 5 ml de cromato concentrado (4,05 g cromato sódico + 17 ml sulfúrico 10mM completando a 250 ml con agua) al que se le adiciona 5 ml de modificador electro-osmótico CIA-PakTM OFM Anión BT (Waters) completando a 100 ml con agua miliQ. La muestra se hace migrar por medio de la aplicación de una corriente eléctrica a través de un capilar a 25 °C.

El capilar empleado es de sílice fundida con una cubierta de poliimida, con una longitud de 60 cm y un diámetro interno de 75 µm a través del cual se hacen

migrar los diferentes aniones. La detección de los iones se realiza mediante un detector de UV a una longitud de onda de 254 nm. La determinación cuantitativa se realiza contrastando el área del pico de la muestra con el área de un patrón intercalado entre las muestras a analizar que contienen un rango entre 5 y 100 ppm de los iones analizados (Figura 6.1).



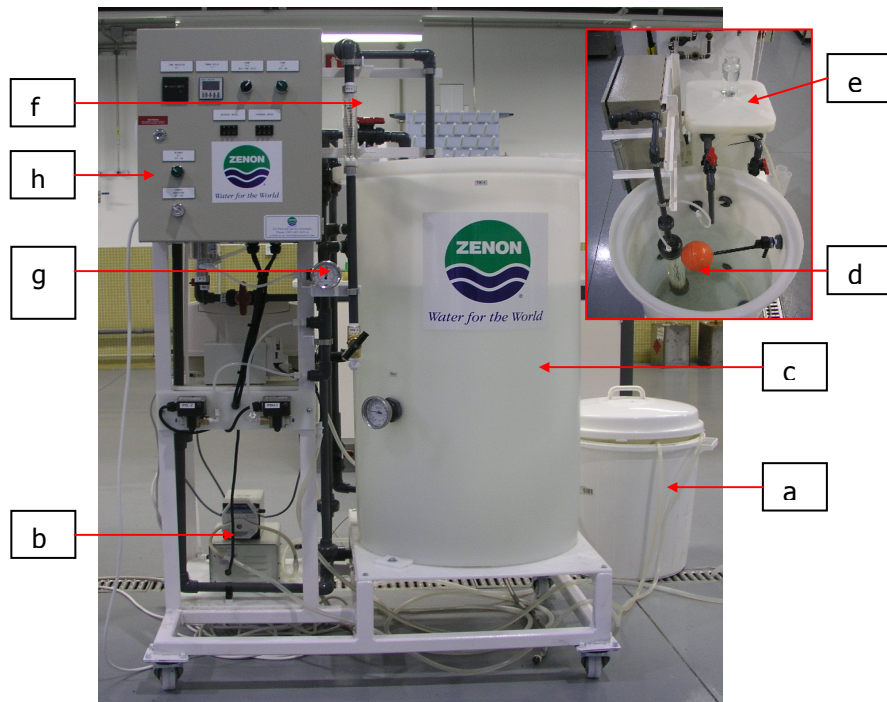


Figura 6.2: Biorreactor de membrana a escala piloto: a.- Depósitos de alimentación, b.- Bombas peristálticas de alimentación, c.- Reactor biológico, d.- Módulo de ultrafiltración, e.- Recipiente contenedor de permeado, f.- Rotámetro, g.- Manómetro, h.- Panel de control

Uno de los aspectos más importantes en la operación de un BRM es el mantenimiento de la permeabilidad de la membrana. Como regla general, diferentes autores, indican que el tipo de ensuciamiento determina el tipo de limpieza requerida: química y/o física, para el caso del material acumulado en la superficie, retirándose este con aire o contralavados con agua (Van der Roest et al. 2002). Para el caso en que los poros de la membrana se colmaten, Zoh y Stenston (2002) evaluaron varias disoluciones de limpieza para el lavado de la membrana, siendo la utilización de disoluciones ácidas y básicas más efectivas que los habituales contralavados, contralavados con agua potable conteniendo NaClO recuperaron la eficacia de la membrana. De acuerdo a las diferentes referencias bibliográficas y ensayos realizados, los controles de limpieza aplicados al módulo de membrana en este capítulo fueron los mismos realizados en el capítulo anterior: contralavados con permeado, contralavados químicos y al final de la operación del biorreactor un lavado químico externo. La regularidad de los contralavados químico dependió de la PTM del BRM.

6.2.3.- Características de las aguas residuales utilizadas

Durante los 120 días de operación, el BRM se alimentó con dos tipos de aguas residuales industriales diferentes: vinazas y agua residual de la corriente de ribera del tratamiento de curtición.

Durante los primeros 50 días de operación, periodo de puesta en marcha, el sistema se alimentó con vinazas. La alimentación se preparó por dilución de vino, que contenía una concentración de materia orgánica de 100 g DQO/L, con agua potable de forma que la concentración de materia orgánica estuviese entre 1000 y 4000 mg DQO/L, que es un rango representativo de las aguas de lavado del embotellado y de los filtros en una bodega. A esta alimentación se le adicionó NH_4Cl y KH_2PO_4 como nutrientes para mantener la relación DQO:N:P de 100:5:1 y NaHCO_3 . Esta agua residual se caracteriza por no presentar sólidos en suspensión.

A partir del día 51 de operación, se comenzó a utilizar como alimentación agua residual proveniente de la corriente de ribera de una curtiduría. Esta agua industrial se sometió previamente a un pretratamiento de filtración a través de un tamiz de 0,6 mm, para evitar la entrada de sólidos en suspensión gruesos que pudiesen dañar la membrana.

Para el período comprendido entre los días 51 y 120, se recolectaron aguas industriales de una industria de curtidos para ser utilizadas como alimentación. Periódicamente se llenaba de dicha agua residual el depósito de 1 m³ anexo al BRM. En la Tabla 6.2. se resumen los principales parámetros de cada lote de agua residual alimentado al BRM.

Tabla 6.2. Principales características del agua residual de curtiembre utilizada.

(mg/L)	Período de operación (d)										
	51-60	61-66	67-78	79-81	82-84	85-88	89-95	96-103	104-110	111-114	115-120
DQO_t	2130	1292	744	1510	-	1796	1850	693	-	347	347
DQO_s	1814	1088	581	449	598	1578	1714	453	205	187	227
NTK	42	29	-	-	-	38	37	38	34	41	49
N-NH₄⁺	9	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-NO₃⁻	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d	n.d
CT	518	753	231	179	217	878	521	236	117	112	61
CI	30	34	23	29	30	13	15	29	63	68	20
COT	489	719	208	150	187	865	506	207	54	44	41
Cl⁻	1089	1408	945	1008	1020	1044	1015	1015	1029	1029	1008
SO₄²⁻	363	341	358	294	150	246	250	215	273	287	-
PO₃²⁻	20	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-

n.d. no detectado; (-) no determinado

6.2.4.- Estrategia de operación

Las principales condiciones de operación para los dos tipos de aguas residuales utilizadas como alimentación se resumen en la tabla 6.3. La VCO alcanzó valores de 2 kg DQO/(m³·d) y la PTM no superó los 50 kPa, presión máxima de operación del módulo de membrana recomendada por el fabricante.

Tabla 6.3: Resumen de las condiciones de operación del BRM.

Parámetros	Agua residual de vinazas	Agua residual de la corriente de ribera
Tiempo de operación (días)	0-50	51-120
VCO (kg DQO/(m ³ ·d))	1-2	0,5-1,5
PTM (kPa)	10-20	20-40
Flujo de permeado (L/h)	5	5-10
Flujo de aire (L/min)	28-70	70-112

6.3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los siguientes apartados se muestran los resultados obtenidos durante todo el periodo experimental, referentes a la eliminación de materia orgánica y operación del BRM, al efecto de la concentración de biomasa sobre el coeficiente de transferencia de oxígeno y a la operación del módulo de membrana como apartados específicos.

Durante el período experimental el sistema operó a una temperatura en torno a 15°C, presentó un pH promedio de 6,6 y la concentración de oxígeno disuelto fluctuó entre 4 y 5 mg O₂/L. No se observó presencia de nitratos en el permeado hasta el día 103 de operación, manteniéndose a partir del día 104 y hasta el final de la operación una concentración promedio de nitratos de 50 mg N/L.

6.3.1.- Eliminación de materia orgánica en el BRM

En la figura 6.3, se muestra la eliminación de la materia orgánica en términos de DQO para los dos tipos de aguas residuales industriales estudiadas. Durante los primeros 50 días el reactor se operó con vinazas con una concentración de materia orgánica entre 1000 y 4000 mg DQO/L y los restantes días de operación el reactor se alimentó con agua de la corriente de ribera de la industria de curtidos que presentó una concentración de materia orgánica entre 2000 mg DQO/L y 350 mg DQO/L. Durante prácticamente todo el período experimental e independiente del tipo y lote del agua residual se obtuvieron concentraciones de DQO en el permeado menores a 100 mg DQO/L, siendo la concentración de

materia orgánica presente en el permeado atribuible a la fracción soluble no biodegradable presente en ambas aguas residuales utilizadas.

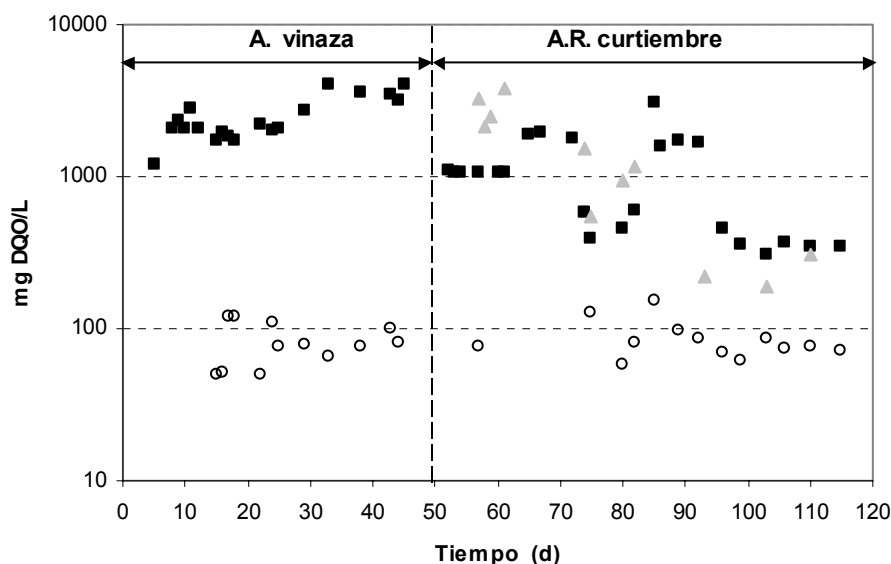


Figura 6.3: Concentración de materia orgánica en términos de DQO soluble, en el influente (■), reactor (▲) y permeado (○) del MBR.

A partir del día 51, en el que se comenzó a utilizar agua residual de la industria de curtidos, se realizó un seguimiento de la concentración de materia orgánica soluble en el reactor. Inicialmente se observó una acumulación de materia orgánica soluble, alcanzándose concentraciones superiores a la DQO_{total} del influente, disminuyendo posteriormente estos valores a concentraciones entre 200 y 300 mg DQO/L. La acumulación de materia orgánica puede ser atribuida a la presencia de materia orgánica coloidal que puede pasar a través del filtro Gelman Suport con un tamaño de poro de 0,45 μm con el que se suele determinar la materia orgánica soluble, pero que queda retenida por el sistema de membrana de filtración, con un tamaño de poro de 0,04 μm . En este sentido es importante señalar que la presencia de dichos niveles de materia orgánica en el reactor indican la presencia de una fracción contaminante que en los clásicos sistemas de lodos activos saldría con el efluente final al no ser materia orgánica sedimentable.

En la Figura 6.4, se muestra la eficacia de depuración obtenida en el BRM para una rango de VCO entre 0,2 y 2,2 kg DQO/(m³·d). Se observa que durante todo

el periodo experimental en el que se utilizó vinazas (días 0-50 de operación), se obtuvo una eficacia promedio de depuración superior al 95%, mientras que en el periodo que se utilizó agua residual de la industria de curtidos se obtuvo una eficacia de depuración promedio superior a un 86%. La variación de la VCO prácticamente no afectó al porcentaje de eliminación de materia orgánica. Asimismo se observó que la eliminación de materia orgánica es prácticamente independiente de la concentración del influente, no así del tipo de influente. Estos resultados son análogos a los obtenidos por Rozzi y Malpei (2003) que mencionan que para los sistemas de membranas la eficacia del sistema es prácticamente constante y no se ve afectado por distintas concentraciones de materia orgánica del influente.

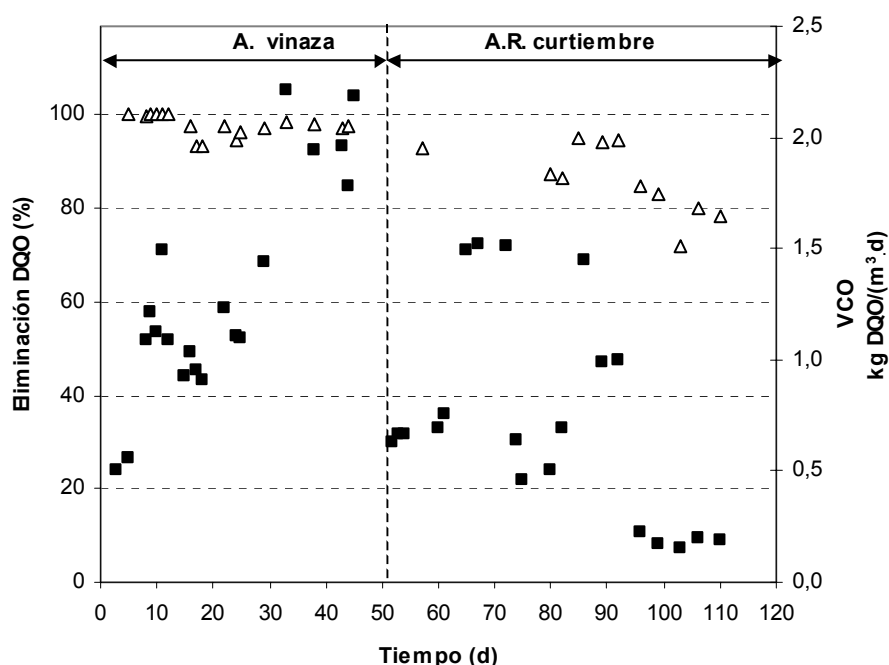


Figura 6.4: Porcentaje de eliminación de materia orgánica (Δ) y VCO aplicada al BRM (■).

Las eficacias de eliminación de materia orgánica de las aguas de curtidos fueron similares a las obtenidas en el capítulo anterior, en el que se empleó un reactor híbrido de membrana, operando a VCO superiores a las del BRM. Otros autores (Yamamoto y Win, 1991) estudiaron el tratamiento de aguas residuales de curtiembres con biorreactores de membrana, a escala de laboratorio, obteniendo

porcentajes de eliminación de materia orgánica entre 93,7 y 96,3% utilizando un reactor en discontinuo con una unidad de membrana de fibra hueca (Mitsubishi Rayon Co Ltd, Japón). Goltara *et al.* (2003) alcanzaron un 90% de eliminación de materia orgánica presente en el agua residual, proveniente de la etapa de ribera del proceso de curtido, usando un módulo de fibra hueca Zenon ZW-1 sumergida en un sistema SBR.

6.3.2.- Rendimiento del módulo de membrana

En este apartado se presenta el comportamiento del módulo de membrana durante el periodo experimental.

6.3.2.1.- Alternativas para la operación del módulo

Se realizaron dos tipos de pruebas para evaluar alternativas de operación del módulo que favorecieran el funcionamiento de la membrana y contrastar las recomendaciones del fabricante para el mantenimiento de la permeabilidad del módulo de membrana y evitar operar a PTM elevadas.

Uno de los ensayos fue el seguimiento de la PTM instantánea durante algunos ciclos de operación eliminando completamente la aireación en el módulo de membrana, pero continuando con los ciclos de contralavado.

Otra alternativa estudiada consistió en realizar seguimientos de la PTM instantánea al realizar ciclos fijos de contralavado durante 45 segundos cada 15 minutos.

En la Figura 6.5, se muestra un perfil representativo de ensayos en los que se suprime cíclicamente la aireación interna en la membrana, llevándose a cabo ciclos de permeado y contralavado de 15 min y 45 seg, respectivamente. La ausencia de aireación incrementa la PTM, pero al airear nuevamente la membrana manteniendo un flujo de aireación constante de 84 L/min, la PTM instantánea retorna a valores similares o superiores a los que presentaba antes de suspender la aireación. Por tanto, la interrupción de la aireación para las características de este módulo no es recomendable. La aplicación de aireaciones intermitentes suele utilizarse con buenos resultados en unidades industriales ya que al operar con ciclos alternados con y sin aireación en momentos puntuales supone una reducción importante del coste operacional, también dependiendo de las propiedades hidrofílicas del módulo es recomendable una aireación intermitente.

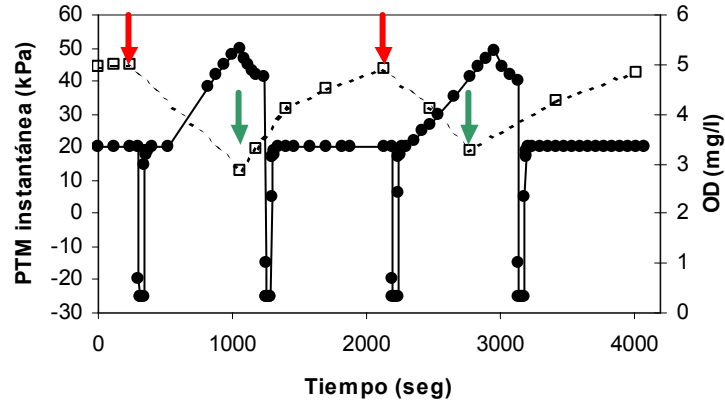


Figura 6.5: Perfil de PTM instantáneas (●) y (□) concentración de oxígeno en el reactor en ensayos con aireación interrumpida. Las flechas rojas indican el momento en el que se suprime la aireación y las flechas verdes el momento en el que se airea nuevamente el módulo.

La Figura 6.6, muestra como varía la PTM al realizar ciclos de contralavado con el permeado manteniendo la aireación interna de la membrana constante con objeto de que las fibras estén en movimiento. Tras el contralavado se observa una reducción de la PTM en 2 kPa, lo que indica que el contralavado favorece el desprendimiento de parte de la biomasa adherida a la superficie de la membrana.

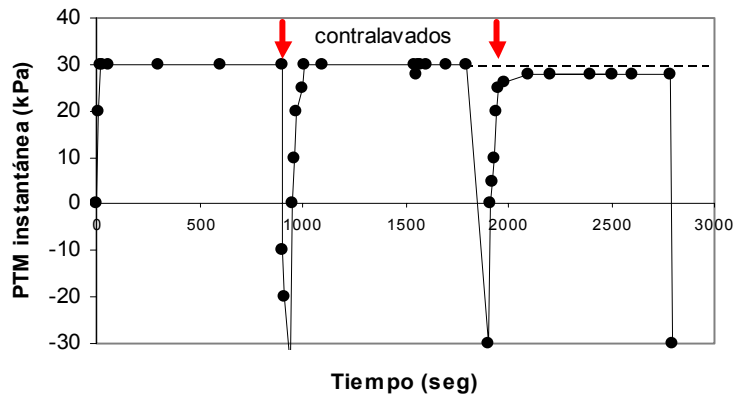


Figura 6.6: Perfil de (●) PTM instantánea cuando se aplican ciclos de contralavado sin interrumpir la aireación. La flecha roja indica el momento que se realiza el contralavado.

A la vista de estos resultados, se optó por la segunda alternativa para operar el sistema.

6.3.2.2.- Condiciones de operación

En la Figura 6.7 se observan los valores de la PTM alcanzados en el módulo de membrana en función del caudal de permeado durante los distintos periodos de operación, indicando las flechas los días en que se realiza la limpieza química. Durante los primeros 60 días de operación, el flujo de permeado se mantuvo constante en 5 L/h. Entre los días 61 y 80 de operación el caudal se incrementó hasta alcanzar 10 L/h y posteriormente se disminuyó al caudal inicial de 5 L/h.

Durante los primeros 18 días de operación, la PTM aumentó paulatinamente desde 10 kPa hasta alcanzar una PTM de 30 kPa, disminuyendo la permeabilidad de la unidad de ultrafiltración desde 55 L/(h·m²·bar) hasta 18 L/(h·m²·bar), por lo que se procedió a realizar el pertinente contralavado químico. Tras el contralavado se aprecia al día siguiente una disminución en torno a 5 kPa la PTM.

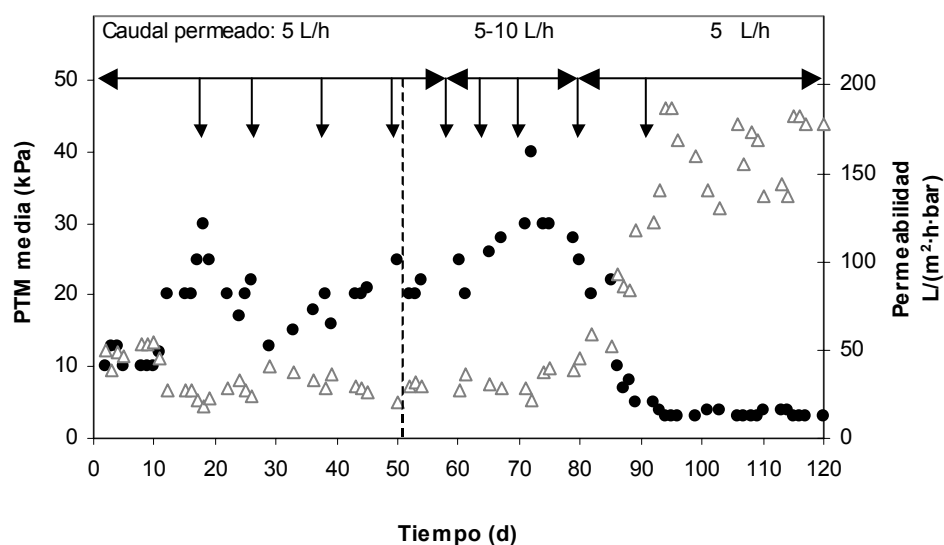


Figura 6.7: PTM (●) y permeabilidad del módulo de membrana (△) durante la operación del BRM. Las flechas indican los días en que se realiza un contralavado químico.

A partir de ese momento cuando la PTM alcanza valores entre 20 y 25 kPa se realiza el correspondiente lavado químico. Estos contralavados se realizaron regularmente cada 10-12 días, aproximadamente hasta el día 95, a partir del cual la PTM se mantuvo en 5 kPa. Durante el periodo comprendido entre los días 60 y 70 se necesitó realizar lavados químicos con más frecuencia, al parecer se obtuvo un mayor ensuciamiento del módulo de membrana debido a la elevada concentración de sólidos en el reactor (14 g SSV/L).

En la Figura 6.8, se muestra un ejemplo de como varía la PTM instantánea durante los ciclos de permeación y contralavado de la membrana. En él se puede apreciar como la presión máxima durante la etapa de permeación se alcanza a los 3 minutos y que los valores máximos alcanzados no superan la PTM recomendada por el fabricante de 50 kPa. El contralavado químico favorece la recuperación de la permeabilidad de la membrana, aunque no de forma inmediata, ya que durante los 2 primeros ciclos tras el lavado químico solo se observa una disminución de 2 kPa, aunque, al cabo de un día la disminución es de aproximadamente 5 kPa.

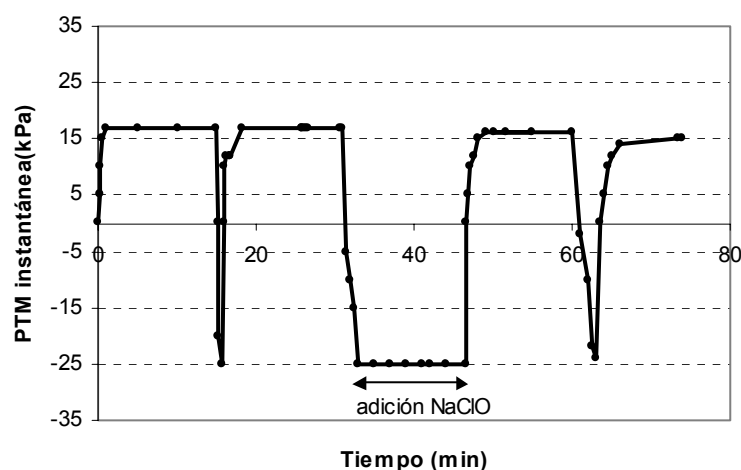


Figura 6.8: Perfil típico de la PTM instantánea durante 4 ciclos de operación del módulo de membrana. Se indica el periodo en que se realiza el contralavado químico.

6.3.2.3.- Evolución de la permeabilidad del módulo de membrana

Antes de comenzar los experimentos, se determinó la permeabilidad intrínseca del módulo de membrana usando agua limpia, obteniéndose un valor de 207 L/(h·m²·bar). El módulo Zenon ZW-10 utilizado durante el periodo experimental

presentó una permeabilidad menor que la del módulo ZW-500a ($300 \text{ L}/(\text{h}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar})$) empleado en aplicaciones a escala real (Van der Roest *et al.* 2002), pero mayor que la del módulo Zenon ZW-1 ($100 \text{ L}/(\text{h}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar})$) caracterizado y utilizado en el capítulo 5 en el reactor híbrido de membrana a escala de laboratorio.

Finalizada la operación del BRM, se extrajo la biomasa del reactor, el módulo de membrana Zenon ZW-10 se sometió a un lavado con agua corriente y después de un lavado químico externo. En la Figura 6.9 se representan la permeabilidades del módulo de membrana Zenon ZW-10 obtenidas en tres situaciones puntuales: membrana nueva, membrana al final de la operación (120 días) después de lavarla de forma manual con agua y membrana al final de la operación después de un lavado químico externo. Se obtuvo una permeabilidad de $132 \text{ L}/(\text{h}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar})$ después del lavado con agua potable y $188 \text{ L}/(\text{h}\cdot\text{m}^2\cdot\text{bar})$ después del lavado químico externo, obteniéndose una recuperación de la unidad con respecto al valor inicial del módulo de un 91%. El porcentaje de permeabilidad no recuperado puede ser justificado por un posible micro ensuciamiento de la membrana (bio ensuciamiento, ensuciamiento orgánico, poros de la membrana bloqueados o la formación de láminas sobre la superficie de la fibra) (Van der Roest, 2002).

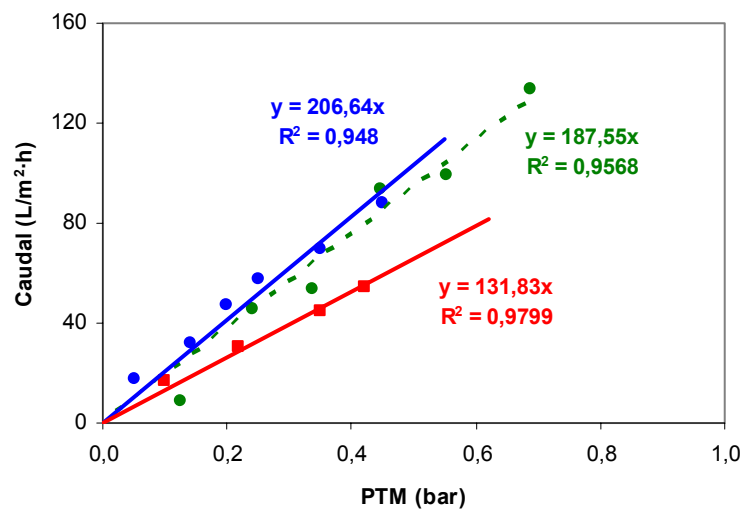


Figura 6.9: Permeabilidad del módulo de membrana: (●) membrana nueva, (■) membrana con un periodo de operación de 120 días tras un lavado con agua y (--- ● ---) tras un lavado químico externo.

Uno de los factores que contribuyen a que la membrana alcance un mayor tiempo de vida es el proceso de la construcción de la misma, ya que la disposición y longitud de las fibras tienen una repercusión en el ensuciamiento. Al comparar el comportamiento del módulo de membrana de fibra hueca ZW-1 empleado en el capítulo 5 con el módulo ZW-10 utilizado en este capítulo, se observó que ambas unidades operaron a PTM menores 50 kPa, se alcanzaron permeabilidades entre 9 y 90 L/(h·m²·bar) para el módulo ZW-1 y entre 15 y 180 L/(h·m²·bar) para el módulo ZW-10. En el módulo ZW-1, los lavados químicos prolongados realizados no lograron recuperar la permeabilidad de la membrana en un porcentaje significativo, necesiéndose recurrir a una limpieza química externa de modo habitual, mientras que con el módulo ZW-10, los lavados químicos realizados permitieron obtener una operación en continuo del módulo durante 120 días sin necesidad de cambio del módulo de membrana por uno limpio. Este hecho puede deberse a que el módulo ZW-1 presenta una menor longitud y la disposición de las fibras es más rígida lo que impide la vibración de éstas, mientras que las fibras del módulo ZW-10 presentan una mayor longitud y holgura, obteniéndose un mayor movimiento de las fibras por medio de la aireación lo que permite un desprendimiento de parte de la biomasa adherida en la superficie de las fibras, lográndose por tanto una mejora en la operación de la unidad.

Xing *et al.* (2003) investigaron el ensuciamiento y la limpieza de una membrana de ultrafiltración de configuración tubular, obteniendo un alto porcentaje de recuperación de la permeabilidad mediante limpiezas químicas. Los productos químicos usados con más frecuencia son el hipoclorito de sodio, que reduce el ensuciamiento de la membrana vía desinfección, previniendo la colonización de bacterias en la superficie de la membrana, disoluciones ácidas o alcalinas, hidróxido de sodio, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido clorhídrico, que eliminan componentes orgánicos y/o inorgánicos. La elección del agente de limpieza depende fuertemente del ensuciamiento y del tipo de membrana (Bourgeois *et al.* 2001, Van der Roest *et al.* 2002).

6.3.2.4.- Efecto de la concentración de biomasa sobre la permeabilidad de la membrana

La concentración de biomasa en el reactor aumentó durante los primeros 90 días de operación desde 0,5 g SSV/L a 15 g SSV/L. Posteriormente, se purgó el BRM reduciéndose la concentración de biomasa a 4 g SSV/L. Se obtuvieron rendimientos aparentes de 0,14 y 0,16 g SSV/g DQO al emplear como alimentación aguas residuales de vinazas y de curtiembres, respectivamente. Günder y Krauth (1999) obtuvieron rendimientos de 0,35 y 0,53 g SSV/g DQO influente para cargas de 0,01 y 0,1 g DQO/ (g SSV·d) al tratar aguas residuales

municipales en un sistema de lodos activos en el que el sedimentador se reemplazó por un módulo de membrana.

En la Figura 6.10 se observa el efecto de la concentración de biomasa sobre la permeabilidad de la membrana, la línea vertical en el día de operación 92 indica la disminución del TRS a 30 d.

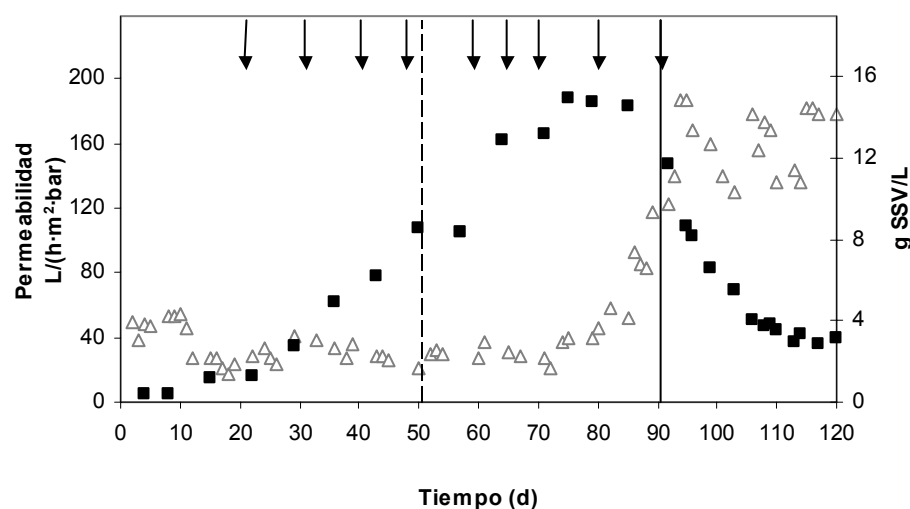


Figura 6.10: Evolución de la (■) concentración de la biomasa en el BRM y (△) permeabilidad de la membrana. Las flechas indican contralavados con NaClO.

Durante los 80 primeros días de operación no se observó ningún efecto en la permeabilidad de la membrana al aumentar la concentración de la biomasa en el reactor de 1 a 15 g SSV/L. La permeabilidad se mantuvo constante en torno a 40 L/(h·m²·bar), debido a que durante este período los lavados químicos realizados con NaClO permitieron controlar el ensuciamiento de la membrana, evitando así la disminución de la permeabilidad. Entre los días 80 y 95 de operación, la permeabilidad de la membrana aumentó hasta alcanzar valores de 160 ± 20 L/(m²·h·bar) que se mantuvieron constantes hasta el final de la operación del BRM. Debido a la alta permeabilidad de la membrana a partir del día 96 se suprimieron los contralavados químicos. El incremento de la permeabilidad observado a partir del día 80 se debe al incremento del caudal de permeado desde 5 hasta 10 L/h durante el período comprendido entre los días 60 y 80. Durante el período experimental se observa que la variación de la permeabilidad no depende significativamente de la concentración de biomasa en el reactor. Nah *et al.* (2000) observaron que la concentración de biomasa no afectó significativamente sobre la presión de succión. Sin embargo, Ueda *et al.* (1996)

observaron una relación entre el incremento de la concentración de la biomasa y el aumento de la PTM de modo que al aumentar la concentración de biomasa sobre 10 g/L, aumenta la PTM, lo que implica una disminución de la permeabilidad.

6.3.2.5.- Efecto de la concentración de biomasa sobre la transferencia de oxígeno

Durante el período experimental se operó el sistema con una concentración de oxígeno disuelto comprendida entre 4-5 mg O₂/L. Estas concentraciones de oxígeno en el reactor se obtuvieron variando de forma manual la aireación cuando la concentración de oxígeno disminuía del rango mencionado. Se comprobó que la acumulación de SST en el sistema empeoraba la transferencia de oxígeno. Un problema comúnmente encontrado al operar con altas concentraciones de biomasa es la dificultad de lograr una buena aireación, siendo necesario incrementar costes de aireación para mantener una concentración de oxígeno adecuada en el reactor y evitar un ensuciamiento excesivo de la membrana evitando así una mayor frecuencia de limpieza de la membrana (Cicek *et al.* 2001).

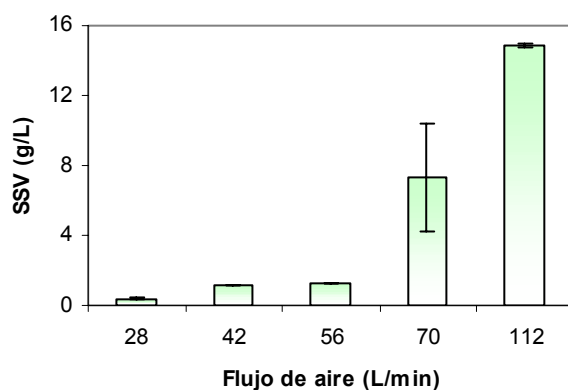


Figura 6.11: Efecto de la concentración de biomasa en el BRM sobre el flujo de aire necesario para mantener una concentración de oxígeno disuelto entre 4-5 mg O₂/L, durante los 90 primeros días de operación.

Para VCO de 1 kg DQO/(m³·d) y concentraciones de biomasa entre 0,5 y 15 g SSV/L se observa que a medida que aumenta la concentración de biomasa es necesario aumentar el flujo de aire desde 28 L/min hasta 112 L/min, tal como se muestra en la Figura 6.11.

Diversos autores indican que las altas concentraciones de biomasa disminuyen la velocidad de transferencia de oxígeno en el sistema debido probablemente a un aumento de la viscosidad aparente del medio. Lübbek *et al.* (1995) y Nagaoka *et al.* (2000) relacionan el aumento de la viscosidad con un mayor ensuciamiento de la membrana, además este aumento de la viscosidad hace necesario incrementar el flujo de aire para mantener una adecuada concentración de oxígeno en el reactor, incrementándose por tanto los costes energéticos de la aireación con respecto a los sistemas convencionales de lodos activos. Guardino (2001) al realizar una evaluación de los sistemas con membranas indica que el coeficiente de transferencia de oxígeno disminuye considerablemente a concentraciones de 20 g SSV/L.

Con objeto de evaluar la influencia de la concentración microbiana sobre la velocidad de transferencia de oxígeno se realizaron ensayos en los que se determinó el coeficiente de transferencia de oxígeno usando el método dinámico descrito en el apartado 6.2.4. En la Figura 6.12, se muestran los diferentes coeficiente de transferencia de oxígeno obtenidos a distintas concentraciones de biomasa.

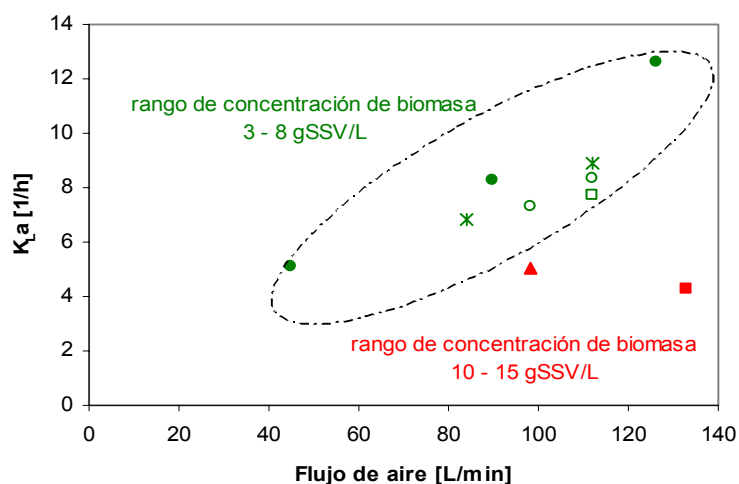


Figura 6.12: Efecto de la concentración de biomasa sobre el coeficiente de transferencia de oxígeno. (●) 3 g SSV/L, (✱) 4 g SSV/L, (□) 6 g SSV/L, (○) 8 g SSV/L, (▲) 10 g SSV/L, (■) 15 g SSV/L.

Se observa que el coeficiente de transferencia disminuye al aumentar la concentración de SSV en el sistema, siendo más acusado el efecto cuando la concentración de biomasa es superior a 8 g SSV/L. Recientes investigaciones

sugieren operar a concentraciones entre 10-11 g SSV/L para evitar problemas en la membrana y disminuir el consumo de energía (Van der Roest, 2002, Cornel y Krause, 2003), aunque las primeras aplicaciones de BRM se llevaron a cabo manteniendo la concentración de biomasa alta, típicamente superiores a 20 g SSV/L (Gander *et al.* 2000, Jefferson *et al.* 2000).

La transferencia de oxígeno depende de las características de la biomasa, del tamaño de la burbuja de aire y el tiempo de residencia de la burbuja en el agua. Estos dos últimos parámetros dependen fuertemente de la viscosidad del lodo. La configuración del reactor, el mecanismo de mezcla y aireación y la concentración y características del lodo pueden influir en la viscosidad de el lodo, por lo que, éstos parámetros son muy importantes en el BRM si se pretende operar a altas concentraciones de biomasa (Van der Roest, 2002).

6.4.- CONCLUSIONES

Los porcentajes de eliminación de materia orgánica en el BRM ZW-10 fueron para las vinazas de un 97% y para el agua residual de la industria de curtidos un 86% dependiendo muy poco de la VCO aplicada pero si del tipo de agua utilizada como alimentación en el BRM. En las condiciones de operación utilizadas se obtuvieron efluentes de excelente calidad, libre de sólidos y con una baja concentración de materia orgánica siempre inferior a 100 mg DQO/L.

El aumento de la concentración de biomasa a valores superiores a 8 g SSV/L afectó negativamente la transferencia de oxígeno, siendo necesario incrementar el flujo de aire para mantener constante la concentración de oxígeno disuelto en el reactor. Los ensayos de la determinación del K_La indicaron que para concentraciones de biomasa superiores a 8 g SSV/L la transferencia de oxígeno disminuye claramente, por lo que es recomendable operar estos sistemas compactos con concentraciones de biomasa inferiores a 8 g SSV/L para evitar problemas de transferencia de oxígeno y reducir costes de aireación.

Se ha comprobado que las acciones recomendadas por el fabricante (Zenon) de limpieza física y química: aireación del módulo, contralavados y lavado puntual con NaClO , son muy necesarias para la mantener alta la permeabilidad del módulo.

6.5.- REFERENCIAS

Bourgeois K., Darby J. and Tchobanoglous G. (2001) Ultrafiltration of wastewater: Effects of particles, mode of operation and backwash effectiveness. *Water Research*, **35** (1), 77-90.

Carucci A., Chiavola A., Majone M. and Rolle E. (1999). Treatment of tannery wastewater in a sequencing batch reactor. *Water Science Technology* **40** (1), 253-259.

Cicek N., Macomber J., Davel J., Suidan M.T., Audic J. and Genestet P. (2001) Effect of solids retention time on the performance and biological characteristics of membrane bioreactor. *Water Science Technology* **43** (11), 43-50.

Cornel P. and Krause S. (2003) State of the art on MBRs in Europe. *International Conference. Application and perspectives of MBRs in wastewater treatment and reuse*. Cremona,

Crivillé A. y Mata-Alvarez (1995) La industria vinícola en Catalunya. La problemática de sus aguas residuales. *Tecnología del agua*, **137**, 53-67.

Diestre L. y de las Fuentes L. (198) Desarrollo de nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas residuales: reactores biológicos de membrana. *Retema*, 9-18.

DiGiano F., Andreottola G., Adham S., Buckley C., Cornet P., Daigger G., Fane A.G., Galil N., Jacangelo J., Pollice A., Rittmann B., Rozzi A., Stephenson T. and Ujang Z. (2004) Safe water for everyone. Experts suggest that membrane bioreactors may be a key to global water sustainability. *WE&T*, 31-35.

Gander M.A., Jefferson B. And Judd S.J. (2000) Membrane bioreactors for use in small wastewater treatment plants: membrane materials and effluent quality. *Water Science Technology* **41** (1), 205-211.

Goltara A., Martinez J. and Méndez R. (2003) Carbon and nitrogen removal from tannery wastewater with a membrane bioreactor. *Water Science Technology* **48** (1), 207-214.

Guardino R. (2001) Biorreactores de membrana (MBR) para la depuración de aguas residuales. *Tecnología del agua*, **215**, 46-51.

Günder B. and Krauth K. (1999) Replacement of secondary clarification by membrane separation results with tubular, plate and hollow fibre modules. *Water Science Technology* **40**, (4-5), 311-320.

Innocenti L., Bolzonella D., Paven P. and Cecchi F. (2001) Start-up and preliminary results of a submerged ultrafiltration membrane SBR for the treatment of domestic and industrial wastewater discharging into Venice lagoon (Italy) Proc. *1st Int. Conf. On membrane Technology for Wastewater Reclamation and Reuse*, 9-13 September, Tel Aviv (Israel).

Innocenti L., Bolzonella D., Paven P. and Cecchi F. (2002) Effect of sludge age on the performance of a membrane bioreactor: influence on nutrient and metals removal. *Desalination*, **146**(1-3), 467-474.

Irwin J. (1990) On site wastewater reclamation and recycling. *Water Environmental Technology*, **22**(11), 90-91.

Jefferson B., Laine A.L., Judd S.J. and Stephenson T. (2000) Membrane bioreactor and their role in wastewater reuse. *Water Science Technology*, **41**(1), 197-204.

Lübbecke S., Volgelpohl A. and Dewjanin W. (1995) wastewater treatment in a biological high-performance system with high biomass concentration. *Water Research*, **29**(3), 793-802.

Monti S., Belli L., Pavan P., Battistoni P., Cecchi F. (2001). The use of the Zenogem[®] process for domestic and industrial wastewater treatment in Italy. Proc. *1st Int. Conf. On membrane Technology for Wastewater Reclamation and Reuse*, 9-13 September, Tel Aviv (Israel).

Nah Y.M., Ahn K.H. and Yeom I.T. (2000) Nitrogen removal in household wastewater treatment using an intermittently aerated membrane bioreactor. *Environmental Technology*, **21**, 107-114.

Nagaoka H., Komo S., Yamanishi S. and Miya A. (2000) Influence of organic loading rate on membrane fouling in membrane separation activated sludge process. *Water Science Technology*, **41**, 10-11.

Orhon D., Genceli E.A. and Sözen S. (2000). Experimental evaluation of the nitrification kinetics for tannery wastewaters. *Water S.A.* **26** (1), 43-50.

Rozzi A. and Malpei F. (2003) Perspectives of MBR use for agro-industrial wastewater treatment and reuse. *International Conference. Application and perspectives of MBRs in wastewater treatment and reuse*. Cremona.

Stephenson T., Judd S., Jefferson B. and Brindle K. (2000) Membrane Bioreactor for wastewater treatment. IWA Publishing, London, UK, ISBN 1-900222-07-8.

Tünay O., Kabdasli I., Orhon D. and Ates E. (1995) characterization and pollution profile of leather tanning industry in turkey. *Water Science Technology*, **32** (12), 1-9.

Ueda T., Hata K. and Kikuoka Y. (1996) Treatment of domestic sewage from rural settlements by a membrane bioreactor. *Water Science Technology*, **34**, 198-196.

United States Environmental Protection Agency. (2003) Membrane filtration guidance manual. Pennsylvania, Washington, EE.UU disponible en: <http://www.epa.gov/edocket>.

Van Dijk L. and Roncken C.G.C. (1997) Membrane bioreactors for wastewater treatment: The state of the art and new developments. *Water Science Technology*, **35** (10), 35-41.

Van der Roest H.F., Lawrence D.P. and Van Bentem A.G.N. (2002) Membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. IWA Publishing.

Xing C.H., Wen X.H., Qian Y., Wu .Z. and Klose P.S. (2003) Fouling and cleaning in an ultrafiltration membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Separation Science and Technology*, **38**(8), 1773-1789.

Yamamoto K. and Win M.K. (1991) Tannery wastewater treatment using a sequencing batch membrane reactor. *Water Science Technology*, **23**, 1639-1648.

Zoh K.D and Stenstrom M.K. (2002) Application of a membrane bioreactor for treating explosives process wastewater. *Water Research*, **36**, 1018-1024.

CONCLUSIONES GENERALES Y POSIBLES IMPLICACIONES

Se presentan aquí las conclusiones generales de este trabajo de investigación, en el que se evaluaron diferentes alternativas para la mejora del tratamiento biológico de las aguas residuales de la industria de curtidos.

Los sistemas de titulación empleados en la determinación de los parámetros cinéticos de la biomasa y en la evaluación de los efectos inhibitorios de diversos compuestos, tanto sobre biomasa en suspensión como en biopelículas, son una alternativa interesante que se podría implementar, asimismo, en un proceso biológico. Estos sistemas hacen posible el realizar la monitorización de la evolución de los procesos biológicos de eliminación de materia orgánica y nitrogenada, lo que permitiría una rápida detección de anomalías en la operación de los sistemas biológicos en las EDAR.

Las diversas modificaciones en la estrategia de operación y en la configuración de los reactores biológicos permiten mejorar los rendimientos de eliminación de compuestos nitrogenados y materia orgánica con respecto a los sistemas de tratamiento biológico convencionales, que se suelen emplear en el sector. La adición de HCO_3^- a la alimentación, en el sistema de lodos activos incrementó el porcentaje de nitrificación debido a la deficiencia de carbono inorgánico que presentó este tipo de aguas residuales. La incorporación de una unidad de predesnitrificación al sistema de lodos activos y el empleo de fuentes externas de carbono (metanol o agua residual de la etapa de ribera) posibilitaron el incrementar el porcentaje de eliminación de nitrógeno. La estrategia de operación en semicontinuo del sistema de lodos activos, con la adición de agua de ribera como fuente de carbono, podría disminuir los costes de operación de sistemas industriales, obteniendo asimismo elevadas eficacias de eliminación de nutrientes.

Como se puede observar en la Tabla 1, el análisis de costes de las modificaciones indica que el sistema de lodos activos, operado en semicontinuo, podría ser una de las mejores alternativas a implantar en una EDAR industrial. La notable mejora del rendimiento de eliminación de nitrógeno y la utilización del agua de ribera como fuente de carbono compensa el gasto de inversión necesario de realizar para las correspondientes modificaciones.

Tabla 1: Estimación del incremento de costes de los distintos sistemas de lodos activos empleados. Base de cálculo: Caudal de 1000 m³/d y 2500 m³ de reactor.

Acción:	ΔCoste de inversión (€/d)		Δ Coste de operación (€/d)		Δ Coste total (€/d)
Mejora de la nitrificación	-	0	Adición de bicarbonato	660	660
Eliminación de nitrógeno	Tuberías Acelerador de corriente Bomba (fuente de C)	1,6 6,6 1,1	Adición Metanol (DQO/N=3)	750	759
Operación en semicontinuo	2 Aceleradores de corriente Bomba (fuente C)	13,1 1,1	Fuente de C: agua de ribera	0	14

El coste de inversión se considera sobre la base de una amortización a 5 años

La utilización de tecnologías de membranas, permitió operar a altas VCO y VCN obteniendo efluentes con concentraciones de materia orgánica y sólidos en suspensión muy inferiores a los sistemas convencionales. Los sistemas de tratamiento con membranas, son una buena alternativa para tratar aguas residuales de curtiembres, especialmente para aquellas industrias en las cuales se vaya a construir una planta de tratamiento. Los costes totales de los sistemas con membranas respecto a los sistemas de lodos activos son superiores, pero los beneficios ambientales amortizarían dicha inversión, ya que se obtiene un efluente de excelente calidad en términos de materia orgánica y sólidos en suspensión apto para ser reutilizado en la industria, siendo además la producción de fango un 50% menor respecto al de un sistema de lodos activos.

Los costes para tratar agua residual industrial en un biorreactor híbrido de membrana (BRHM) y en un biorreactor de membrana sumergida (MBR) se estiman en 0,38 €/m³ y de 0,36 €/m³, respectivamente a partir de los datos presentados en la Tabla 2.

Tabla 2: Estimación de los principales costes en los sistemas de membrana.
Base de cálculo: Caudal de 1000 m³/d.

Sistema de membranas	Δ Coste de inversión (€/d)		Δ Coste de operación (€/d)		Δ Coste total (€/d)
BRHM	Obra civil + reactor (500 m ³) + cámara de membrana (4 m ³)	310	Reactivos lavado	10	383
	Superficie filtrante	13	Energía	50	
	(3) Bomba	3			
BRM	Obra civil + reactor (550 m ³)	308	Reactivos lavado	10	367
	Superficie filtrante	13	Energía	34	
	(2) Bombas	2			

El coste de inversión se considera sobre la base de una amortización a 5 años

MAIN CONCLUSIONS OF THIS RESEARCH AND POSSIBLE IMPLICATIONS

The main conclusions of this research were to assay and develop different alternatives for the improvement of the biological treatment stage of tannery wastewater treatment plants. Here these are summarised and presented.

Titration systems were employed to determine the kinetic parameters of the biomass and to evaluate the inhibitory effects of different compounds so on suspended biomass as well as on biofilms. These systems are an interesting alternative to be used for monitoring carbon and nitrogen removal processes in biological systems. The titration systems are an important tool for detecting in a short period of time possible anomalies during the operation of the biological process of the WWTP.

The different modifications in the operation strategy and in the configuration of the biological reactors make feasible to improve the efficiency. The removal of nitrogen compounds and organic matter is enhanced with regard to the conventional biological treatment systems, which often are used in tanneries. The addition of HCO_3^- in the feed to the activated sludge increased the nitrification percentage, due to deficiency of inorganic carbon that characterizes this kind of wastewater. The incorporation of a desnitrification stage to the activated sludges system and the use of external carbon sources (methanol or wastewater from the beamhouse stream) increased the nitrogen removal percentage. The strategy of a semicontinuous operation in the activated sludge system and the addition of an external carbon source, could decrease the operational costs of industrial systems, additionally obtaining an increase of the nutrients removal percentages.

In Table 1 is represented the analysis of the cost of the feasible modifications. This table shows that the semicontinuous operated activated sludge system may be one of the best alternatives to be implemented in an industrial WWTP. The improvement of efficiency of nitrogen removal and the use of beamhouse wastewater as carbon source, adjust the capital investment required to carry out the corresponding modifications.

Table 1: Estimation of the increase of the costs for the different activated sludge systems assayed. On the basis of: Flow 1000 m³/d and reactor volume 2500 m³.

Action:	Δ Capital Investment (€/d)		Δ Operational cost (€/d)		Δ Total cost (€/d)
Improvement of the nitrification	-	0	Addition bicarbonate	660	660
Nitrogen removal	pipes stirring Pump (C source)	1.6 6.6 1.1	Addition methanol (DQO/N=3)	750	759
Sequential operation	2 stirring Pump (C source)	13.1 1.1	Carbon source: Beamhouse wastewater	0	14

Capital investment is considered based on a payback period of 5 years

The use of membrane technologies allowed to operate at high OLR and NLR. The effluents have a organic matter and suspended solids content lower than conventional systems. The membrane systems are a good alternative for treating wastewaters in tanneries, especially for those facilities in which wastewater treatment system should be upgraded. The total costs of membrane systems are higher to that of the typical activated sludge system. However, the environmental benefits would compensate this investment, due to the excellent quality of the effluent in terms of organic matter and suspended solids, which make feasible direct water reuse. Moreover, the sludge production in membrane systems is 50% lower than in conventional activated sludge systems.

The costs for treating the industrial wastewater in a hybrid membrane bioreactor (HMB) and a submerged membrane bioreactor (MBR) are estimated around 0.38 €/m³ and 0.36 €/m³, respectively. (Data shown in Table 2).

Table 2: Estimation of main costs in the membrane systems. On the basis of: Flow of 1000 m³/d.

Membrane systems	Δ Capital investment (€/d)		Δ Operational cost (€/d)		Δ Total cost (€/d)
HMB	civil works + reactor (500 m ³) + membrane tank (4 m ³) Membranes (3) Pumps	310 13 3	Chemicals Energy	10 50	383
MBR	Civil works + reactor (550 m ³) Membranes (2) Pumps	308 13 2	Chemicals Energy	10 34	367

Capital investment is considered based on a payback period of 5 years