UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA
FACULTAD DE BIOLOGÍA

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

Análisis cinético y de la actividad bacteriana por microscopía de fluorescencia, en un BRM bajo retención total de sólidos

TESIS

que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

Presenta el

Ingeniero Civil Juan Alonso Villalón Cueto

Director de Tesis:

Dr. Julio César Orantes Avalos

Codirector de Tesis:

Dra. Ma. Del Carmen Chávez Parga
Dra. Yazmín Carreón Abud

Morelia, Michoacán, Agosto del 2012

1. CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 10

1.1. GENERALIDADES DE LOS PROCESOS BIOLÓGICOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS 10

1.1.1. BIORREACTORES CON MEMBRANAS 11

1.1.2. INCREMENTO EN LA DEMANDA DE LOS BRM SOBRE LOS PROCESOS CONVENCIONALES 11

1.2. BIORREACTORES 12

1.3. JUSTIFICACIÓN 16

1.4. OBJETIVOS GENERAL Y PARTICULARES 17

1.4.1. OBJETIVO GENERAL 17

1.4.2. OBJETIVOS PARTICULARES 17

1.5. HIPÓTESIS 18

2. MARCO TEÓRICO 19

2.1. ESTADO DEL ARTE 19

2.1.1. LA ESCASEZ DE AGUA 20

2.1.2. FUERZAS DE MERCADO 21

2.1.3. PRESIÓN DE LA REGULACIÓN JURÍDICA 22

2.2. PARÁMETROS Y FUNDAMENTOS DE LA OPERACIÓN DEL SISTEMA 22

2.2.1. BIORREACTORES CON MEMBRANAS (BMR) 22

2.2.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE LOS BRM 23

2.2.3. REMOCIÓN DE SÓLIDOS RESIDUALES CON FILTRACIÓN POR MEMBRANA 24

2.2.4. OPERACIÓN DE LA MEMBRANA 24

2.2.5. OBSTRUCCIÓN DE LA MEMBRANA 25

2.2.6. CONTROL DE LA OBSTRUCCIÓN DE LA MEMBRANA 25

2.2.7. INFLUENCIA DEL TRC EN EL SISTEMA DE LOS BRM 26

2.2.8. TAMAÑO DE LA SEPARACIÓN 26

2.2.9. MATERIALES DE LA MEMBRANA 26

2.3. APLICACIONES DE LA MEMBRANA 27

2.3.1. MICROFILTRACIÓN 28

2.3.2. ESTUDIOS PARA APLICACIÓN DE MEMBRANA 28

2.3.3. RÉGIMEN DE MEZCLA EN EL TANQUE DEL BRM 30

2.3.4. SISTEMA DE AIREACIÓN 30

2.3.5. SISTEMAS DE AIREACIÓN POR BURBUJAS 31
2.4. COMPOSICIÓN DE LA BIOMASA 32
2.4.1. METABOLITOS PRESENTES EN LA SUSPENSIÓN 33
2.4.2. NATURALEZA Y COMPOSICIÓN DE LAS SUBSTANCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES 34
2.4.3. FUNCIONES DE LAS SUBSTANCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES 35
2.4.4. NUTRICIÓN DE LOS MICROORGANISMOS 35
2.4.5. TRANSFORMACIÓN BIOQUÍMICA DE LOS NUTRIENTES 35
2.4.6. COMPORTAMIENTO DE LA BIOMASA DENTRO DE LOS BRM 36
2.5. OBSERVACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS AL MICROSCOPIO 37
2.5.1. MICROSCOPÍA DE FLUORESCENCIA 37
2.5.2. ACTIVIDAD BACTERIANA 38
3. MATERIALES Y MÉTODOS 40
3.1. DISEÑO Y ARMADO DEL REACTOR 40
3.1.1. BIORREACTOR CON MEMBRANAS 41
3.1.2. REACTOR PILOTO 42
3.1.3. ARMADO DE LÍNEA DE AIRE CON CALIDAD PARA PROCESOS BIOLÓGICOS 43
3.1.4. CARATERÍSTICAS DE OPERACIÓN DEL MÓDULO 45
3.1.5. CARACTERÍSTICAS GEOMÉTRICAS Y DE FUNCIONAMIENTO EN EL SISTEMA 46
3.1.6. PRUEBAS PREELIMINARES DEL BRM 47
3.1.7. MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS VARIABLES DE OPERACIÓN 48
3.1.8. MEDICIONES RESPIROMÉTRICAS 49
3.2. ARMADO Y CALIBRADO DEL MICROSCOPIO DE EPIFLUORESCENCIA 49
3.3. DISEÑO Y AUTOMATIZACIÓN DEL SISTEMA DE CAPTURA Y ALMACENAMIENTO DE DATOS 50
3.4. TÉCNICAS A EMPLEAR EN EL ANÁLISIS DE LA ACTIVIDAD BACTERIANA EN LOS BRM 52
3.4.1. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOQUÍMICA EN EL BRM 53
3.4.2. CONTEO DE CÉLULAS TOTALES Y ACTIVAS 54
3.4.3. MICROSCOPÍA DE EPIFLUORESCENCIA 54
3.5. PROTOCOLO EXPERIMENTAL 55
3.5.1. DIAGRAMA DE ESPINA 56
3.5.2. CONDICIONES INICIALES DE OPERACIÓN DEL BRM 58

➢ *PROTOCOLO DE MUESTREO DEL BRM* 59
3.5.3. REACTOR BATCH **59**
3.5.4. CONDICIONES DE OPERACIÓN **60**
➢ *Característica de la biomasa empleada como inóculo en batch* 60
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN **62**
4.1. EFICIENCIA DE FILTRACIÓN EN EL SISTEMA **62**
4.1.1. DETERMINACIÓN DEL FLUJO CRÍTICO INTER MEMBRANAL **62**
4.1.2. FLUJO OPERACIONAL DE LA MEMBRANA **64**
4.1.3. RESISTENCIA Y PRESIÓN TRANSMEMBRANAL **66**
4.2. EFICIENCIA DE REMOCIÓN DEL SISTEMA BRM **73**
4.3. SUSPENSIÓN BIOLÓGICA DEL SISTEMA **76**
4.3.1. CARGA ORGÁNICA **77**
4.3.2. BIOMASA **79**
4.4. ANÁLISIS EN EL BATCH **83**
4.4.1. RELACIÓN S0/X0 < 1 ..... **84**
4.5. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL BRM Y BATCH **89**
4.6. FRACCIÓN DE LA BIOMASA ACTIVA **90**
4.6.1. MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA **90**
4.6.2. ACTIVIDAD BACTERIANA **91**
4.6.3. CO REALES CALCULADAS CON LA FRACCIÓN ACTIVA **94**
5. CONCLUSIONES **96**
5.1. VALIDACIÓN DE OBJETIVOS **98**
5.2. VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS **99**
6. BIBLIOGRAFÍA **100**

FIGURAS

Figura 1 Estructura molecular del Polifuoruro de vinildeno (PVDF). ---------- 27
Figura 2 Aplicación de membranas para la remoción de constituyentes de aguas residuales ---- 27
FIGURA 3 Diagrama de flujo del diseño, armado y protocolización del experimento del BRM. 40
FIGURA 4. Configuración del BRM ---------- 41
FIGURA 5. Configuración del reactor empleado en lotes tipo "batch" de acrílico. ---------- 41
FIGURA 6 Water Chiller Termoregulador de la biomasa en suspensión. ---------- 42
FIGURA 7 Difusor de burbuja fina de 25 cm de diámetro efectivo. ---------- 43
FIGURA 8 Configuración del reactor armado sin el módulo. ---------- 43
FIGURA 9 Conexión de filtros de calidad de aire para procesos biológicos. ---------- 43
FIGURA 10 Compresor de aire. ---------- 43
FIGURA 11 Bombas peristálticas Watson Marlow. ---------- 44
FIGURA 12 Configuración del reactor de membranas planas sumergidas. ---------- 44
FIGURA 13 Configuración del módulo en el reactor. ---------- 44
FIGURA 14 Módulo de membranas de di-fluoruro de polivinildeno. ---------- 45
FIGURA 15 Lavado químico del módulo ---------- 46
FIGURA 16 Operación con agua potable para la obtención de (J). ---------- 46
FIGURA 17 Modelado del flujo de lodos al interior del reactor. ---------- 48
FIGURA 18 Tri-ocular y cámara adaptados para el microscopio. ---------- 50
FIGURA 19 Microscopio para fluorescencia. ---------- 50
FIGURA 20 Filtro de DAPI para visualizar la muestra de 330 a 385 nm. ---------- 50
FIGURA 21 Diagrama de circuito para el sensor de presión y del sensor de temperatura. ------- 51
FIGURA 22 Revelado del circuito con cloruro férrico. ---------- 51
FIGURA 23 Circuito estañado para mejorar la conducción. ---------- 51
FIGURA 24 Medidor de presión conectado a la tableta digitalizadora, con una TEE de precisión, para altas presiones. ---------- 51
FIGURA 25 Obtención de J crítico. ---------- 52
FIGURA 26 Circuitos integrados conectados una tableta National Instruments. ---------- 52
FIGURA 27 BRM y equipos conectados. ---------- 52
FIGURA 28 Interfaz de los sensores de presión y temperatura. ---------- 52
FIGURA 29 Variables de operación que se presentan para definir la actividad bacteriana. ------ 56
FIGURA 30 diagrama de conexión y variables de medición en cada etapa del reactor. ---------- 57
FIGURA 31 Reactores tipo batch de 1 l. ---------- 60
FIGURA 32 Se presenta el gasto máximo de 41.4 l/h a una PTM de 0.5 bar. ---------- 63
FIGURA 33 Determinación de J critico a una presión de 0.5 bar a una R = $1x10^{12}$ m^2/m^3. ------ 64
FIGURA 34 Flujo inter membranal en un módulo de membranas planas de Difluoruro de polivinildeno. ---------- 65
FIGURA 35 Gráfica comparativa de la presión en (bar) y la resistencia (m^2/m^3) a lo largo del periodo experimental. ---------- 67

FIGURA 36 R (m^2/m^3) y el J ($l/h \cdot m^2$) contra el tiempo para evaluar los efectos del J en la Rt. - 68
FIGURA 37 Efectos de los SST y SSV en la resistencia por acumulación externa (Rc). --------- 69
Figura 38 Modelo del gradiente velocidades del J. Presencia de materiales coloidales que son lo bastante pequeños para entrar en el poro de la membrana donde pueden depositarse reduciendo aún más la tasa de permeado y aumentar la resistencia al flujo. ---------- 70
Figura 39 Efectos de los DQO_{sol} y EPS en la resistencia por acumulación externa (R_c). --------- 71
Figura 40 Efectos del J, PTM y sólidos en la resistencia total de la membrana.---------- 72
Figura 41 Eficiencia global del sistema del 98.6%, en la remoción de MO. ---------- 74
Figura 42 Suspención biológica---------- 77
Figura 43 Carga volumétrica y carga másica.---------- 78
Figura 44 SST/SST Y $DQO_{particulada}$/SSV . ---------- 79
Figura 45 Comportamiento de los sólidos del brm. ---------- 80
Figura 46 Requerimiento de O_2 en el brm. ---------- 81
Figura 47 Velocidades de consumo de oxígeno con respecto a r_x.---------- 82
Figura 48 Mineralización del sistema ---------- 83
Figura 49 Velocidades de consumo de sustrato en los *batch*. ---------- 85
Figura 50 Consumo de O2 a los diferentes TRC: t00, t30, t60. ---------- 85
Figura 51 DQO disponible en los *batch* a diferentes TRC. ---------- 87
Figura 52 SPM en los batch a los diferentes TRC.---------- 88
Figura 53 Velocidad de consumo de sustrato *batch*-BRM. ---------- 89
Figura 54 Consumo de O_2 en el batch-BRM. ---------- 90
Figura 55 Conteos a partir de los campos obtenidos, a 100 X; con tamaño de partícula de las 2 a las 50 μm, por medio de microscopia de fluorescencia del DAPI y CTC respectivamente durante los 90 días experimentales: a) y b); t0, c) y d); t30, f) y g); t60, h) e i); t90. ---------- 93
Figura 56 Cargas orgánicas reales. ---------- 94
Figura 57 Fracción de la población bacteriana activa en el BRM ---------- 95

TABLAS

Tabla 1 Características del módulo de membranas de membranas planas----------45
Tabla 2 Protocolo del lavado químico del módulo de las membranas ----------45
Tabla 3 Características generales y dimensiones del reactor. ----------47
Tabla 4 Técnicas analíticas empleadas en la parte experimental.----------48
Tabla 5 Condiciones iniciales de la suspensión biológica.----------58
Tabla 6 Protocolo de muestreo del BRM. ----------59
Tabla 7 Características iniciales de la biomasa en los *batch*.----------60
Tabla 8 Protocolo de muestreo para *batch*.----------61
TABLA 9 Flujos de permeado en sistemas BRM a escala real y escala piloto (Stephenson et al., 2000). ----------65
TABLA 10 Ejemplos del proceso del rendimiento de los BRM para el tratamiento de aguas urbanas y de un sustrato completamente soluble y degradable a base de Acetato para este estudio. ----------73
Tabla 11 Porcentajes de eficiencia reportados en algunos estudios.----------76
Tabla 12 Condiciones iniciales de la biomasa en la radiografía del sistema. ----------84
Tabla 13 Parámetros asociados a la degradación del sustrato en los *batch*.----------86
Tabla 14 Fracción orgánica activa dentro de BRM. ----------91

AGRADECIMINETOS

Al Programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Al proyecto de la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, financiado por el programa de investigación 2011

A la Universite Montpellier II.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT).

Al laboratorio de la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera y en particular M. en C. Abril Munrro Rojas

1. INTRODUCCIÓN

1.1. GENERALIDADES DE LOS PROCESOS BIOLÓGICOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS

En las últimas décadas se ha logrado un avance sustancial en la investigación y desarrollo de tecnologías que aplican el conocimiento en el área del tratamiento biológico de las aguas residuales. Esto ha llevado a la realización de nuevas y mejoradas técnicas e infraestructuras para el estudio y la aplicación de estos sistemas.

Estos avances se ven reflejados en la publicación de artículos especializados en revistas internacionales, en la realización de congresos internacionales del agua y comunidades científicas; éstas últimas son una fuente generadora de redes culturales las cuales promueven nuevos adelantos en esta rama de la ciencia. A todo esto podemos aunar que en muchos países hay gente que trabaja arduamente en el saneamiento de las aguas residuales en sus localidades.

En la elección de los sistemas biológicos adecuados para cada caso de contaminación en particular, se busca que éstos sean autosustentables y que impacten positivamente en la sociedad.

Para lograr una selección adecuada del proceso se debe considerar que en éstos se busca reducir el contenido de materia orgánica del agua, la cual se traduce en nutrientes que son metabolizados por cepas bacterianas, aeróbicas o anaeróbicas.

Un aspecto importante a considerar es que la contaminación del medio y en particular del agua, es diferente en su composición y concentración de acuerdo a la zona, localidad o región donde se origina, por tal motivo esta es totalmente diferente de un punto a otro por cerca que éstos se encuentren. Pese a que hay bastante información generada de los sistemas de tratamiento de aguas residuales en países como Francia (M. Spérandio *et al.,* 2005), Italia, (C. Giordano *et al.,* 2007), Alemania (D. Tacke *et al.*, 2008) y Japón (H. Kim *et al.,* 2005) no podemos hacer una generalización de la información, lo que hace necesario generar información científica y tecnológica regional.

1.1.1. BIORREACTORES CON MEMBRANAS

En todo el mundo la necesidad del reciclado y reutilización de las aguas residuales en áreas con fuertes problemas de escasez, ciudades muy contaminadas y zonas altamente industrializadas han abierto un abanico de posibilidades para la incorporación de tecnologías en los procesos para el tratamiento de aguas residuales. Los procesos de lodos activados o anaerobios, por mencionar algunos, son sumamente eficientes pero la creciente demanda de agua a dado paso a poder incorporar la tecnología de las membranas.

Concretamente las ventajas de los BRM son: i) Significativamente más compactos que los procesos convencionales. ii) pueden alcanzar mayores concentraciones de biomasa, lo que se traduce en una menor producción de lodos residuales. iii) El efluente puede estar totalmente libre de partículas y desinfectado.

Las membranas se aplicaron inicialmente para la desalación de agua de mar, sin embargo la tecnología ha crecido dando origen a un mercado internacional de multibillones de dólares que crece a un ritmo de 15% anual (Cross, 1992). Otra de las áreas económicamente importantes es la purificación de agua, sin embargo en las últimas décadas se dieron origen a otras áreas económicamente sustentables como el tratamiento de efluentes, biorreactores, recuperación de metales, solventes y pinturas. El crecimiento dinámico de la tecnología obedece a fuerzas comerciales y ambientales. Estos procesos son tan exitosos porque generalmente no requieren de la adición de productos químicos agresivos, pueden ser llevados a cabo a temperaturas ambiente, forman una barrera absoluta al flujo de contaminantes, y son especialmente eficientes, característica que en económicos y ambientalmente atractivos para los países (Chris A. *et al.*, 1998).

1.1.2. INCREMENTO EN LA DEMANDA DE LOS BRM SOBRE LOS PROCESOS CONVENCIONALES

Los procesos de membranas pueden proporcionar atractivas alternativas para coadyuvar en los procesos de tratamiento de aguas residuales, empleadas tanto en la optimización del proceso completo como en alguna fase del tren de tratamiento tal y como se ha comprobado en algunos casos expuestos por diferentes autores en el diseño de plantas a escala piloto y escala real. La floculación química en donde se concentran químicamente los contaminantes que

combinado con membranas de micro y ultra filtración produjeron una excelente separación (Cartwrigth, 1992). La optimización de procesos de UF para tratar efluentes de clarificadores secundarios (Vial *et al.* 1992). En la centrifugación que es la separación de las células desde su medio de crecimiento (McKay y Salisbury, 1988). Esta aplicación para tratamientos de agua en los que las células de desecho y los coloides son componentes de la corriente de alimentación. Otro de los mayores beneficios de los BRM es la desinfección del agua sin el empleo de aditivos, por la relación que hay entre el tamaño de poro en la OI, y el tamaño físico del virus (Eisenberg y MIiddlebrooks, 1986). En este intervalo también la UF y MF ha sido considerada para la remoción de todo tipo de gérmenes patógenos y virus de las alimentaciones contaminadas. Según compañías que tienen bastante experiencia en operar plantas de UF (Compañía Lionesa de Agua Dumez), indican que los cosos de operación reducen en gran medida con el contraste de a emplear productos clorados, ozono y peróxidos, aparte de los problemas de producción de subproductos como trihalometanos.

1.2. BIORREACTORES

Una de las modificaciones de mayor influencia de los procesos convencionales de tratamiento biológico es el reemplazo de los clarificadores secundarios en el tren de tratamiento, por unidades de membranas. El proceso de membrana tiene la ventaja de permitir una mayor concentración de biomasa en el reactor (Judd, 2006), puede evitar el azolve de elementos como codos o cambios de dirección y puede evitar la necesidad de un proceso de desinfección por separado. Las configuraciones típicas de los sistemas constan de un biorreactor con una unidad adaptable de filtración por membranas que pueden ser internas (sumergibles) o externas. El lodo activado se recicla a través del sistema y el permeado se dirige a través de la membrana. La aireación del reactor puede reducir el ensuciamiento de la membrana colocada dentro del reactor.

En diferentes partes del mundo el trabajo en laboratorio a escala piloto y a escala real, se han tratado volúmenes mayores a los 400,000 m^3/día (Colon *et al.,* 1989) en este último caso; se han hecho más frecuentes y con muy buenos resultados en la remoción de MOD, la producción de efluentes con niveles de compuestos nitrogenados, SS, DBO y dureza del agua por debajo de los niveles permisibles (Magara *et al., 1992)*. La propiedad de eliminar compuestos clorados, rechazo de iones monovalentes y eliminación de los THM (Watson y Hornburg, 1989), la remoción de aniones y cationes que producen la dureza y metales pesados aparte de otros

materiales inorgánicos, han provocado que estos reactores biológicos puedan encontrar aplicación en las industrias obligadas a cumplir con unas normas más restrictivas para la carga de aguas residuales, particularmente donde los efluentes contengan una carga de contaminantes que son tratados mejor por digestión anaeróbica. Se han reportado parámetros de operación importantes para dar a conocer el beneficio que tiene tratar las aguas residuales con estos sistemas; hay países como México, donde si bien se tiene acceso a parte de la tecnología desarrollada en otros países, hace falta información de cómo operan los sistemas biológicos BRM, su actividad bacteriana dentro del sistema y la caracterización de los contaminantes de las aguas a tratar, para obtener parámetros óptimos de operación y que se vuelvan rentables en nuestro país. Esto sin lugar a dudas nos acota a tener bajas eficiencias en los procesos ya instalados e incluso que resulte improductivo trabajar con un sistema más complejo como el BRM.

Los primeros experimentos en los que se involucró al proceso de filtración con membrana, fueron realizados por Pfeffer a finales del siglo pasado, sin embargo los procesos de membranas semipermeables son conocidos desde hace más de 200 años. Las primeras membranas semipermeables empleadas fueron procedentes de tejidos animales como la vejiga de cerdo y sus primeras aplicaciones fueron relacionadas con la osmosis inversa para la desalación del agua de mar, (R. S. Ramalho, 2003). En (1960) se desarrollaron las membranas sintéticas y el principal interés fue el tratamiento de aguas residuales (AWWARF, 1998), que sin lugar a dudas ha crecido de manera exponencial hacia nuestro tiempo; estas tecnologías son ahora objeto de importantes investigaciones y desarrollos a nivel internacional. Este crecimiento global del uso de las membranas en aplicaciones de la ingeniería medioambiental puede ser atribuido por lo menos a tres factores: i) incremento de la presión jurídica, lo que indica la regulación de leyes para el tratamiento aguas residuales; ii) incremento de la demanda de agua disponible, lo que implica explotar recursos de menor calidad que los utilizados previamente; iii) fuerzas de mercado que rodean el desarrollo y comercialización de las tecnologías de membranas, así como de las industrias de aguas residuales (AWWARF, 1998).

Sin duda alguna uno de los sistemas más completos y que no ha sido empleado en México, es el BRM. En Europa la necesidad de incrementar la desinfección evitando la formación de subproductos de oxidación han estimulado el interés sobre los procesos de membrana (AWWARF, 1998), en la cual el rango de tamaño de las partículas que se filtran se

extiende para incluir los componentes disueltos, el rango operativo comprende tamaños de partículas propios de procesos como la Microfiltración (MF), Ultrafiltración (UF), Nano filtración (NF) y Ósmosis inversa (OI) (Crites y Tchobanoglous, 2000), dicho lo anterior, las concentraciones de la antracina (herbicida), en la Unión Europea, se considera en su nivel máximo permisible es de 0.1 μg/L y de 3 μg/L para Estados Unidos; casos en los cuales las nuevas tecnologías de tratamiento y las membranas jugaran un papel de suma importancia como está ocurriendo ahora.

Estos reactores tienen como principal característica la separación de de fases de un sólido-líquido por medio de la filtración de agua residual a través de una membrana; el rango de potencial de aplicaciones en el tratamiento de agua residual es tan amplio que involucra la desinfección y sub productos de desinfección. Esto ha generado un constante interés por el empleo de las membranas para la alimentación de partículas, con el fin de remover la materia orgánica que pueda ser precursora de sub productos de desinfección (M. Arora y B. Michalczyk, 1986, J. Taylor *et al.,* 1987), para la remoción de organismos patógenos (V. Oliveri *et al*., 1991, V. Mandra *et al*., 1992), la remoción de nutrientes y descloración (V. Oliveri *et al*., 1991, M. Kolega *et al*., 1990).

En la operación de los BRM se utiliza una bomba para presurizar la solución de alimentación y circularla a través de un módulo, simultáneamente se hace una succión del agua con una bomba de vacío que fluye a través de las membranas que retienen partículas de tamaños de hasta 10^{-4} μm (Crites y Tchobanoglous, 2000), según el tamaño de poro. En los BMR una población bacteriana que se encuentra en suspensión, en un régimen de aireación y mezcla total, la cual, bajo altos tiempos de retención celular orientan su metabolismo y se adaptan para trabajar en condiciones de altas cargas orgánicas (Visvanathan *et al*., 2000, Judd, 2006), lo que se va a traducir en un incremento de bacterias.

Por el tamaño de partículas que se retiene en los BRM se puede reusar el agua tratada prácticamente a la salida del proceso y esto se traduce a un ahorro en los procesos físico-químicos lo que nos indica un ahorro sustancial en procesos subsecuentes (Orantes, 2010), tiene un excelente control de la actividad bacteriana y un efluente libre de patógenos y bacterias; Por otra parte una particularidad de suma importancia es que se tiene una producción de lodos mucho

menor con respecto al proceso de lodos activados (Visvanathan *et al*., 2000, Judd, 2006), así como una configuración espacial de diseño mucho menor (Orantes, 2010).

1.3. JUSTIFICACIÓN

Es muy importante generar nuevas alternativas para el tratamiento de aguas residuales en México y es apremiante construir plantas de tratamiento, que sean eficientes, particularmente en zonas densamente pobladas donde el reúso del agua es tan demandante debido a la poca disponibilidad de esta a causa de la contaminación. Es así como surge este proyecto con la idea de trabajar con un reactor de membranas sumergidas para caracterizar la actividad microbiológica del sistema y cuantificar parámetros cinéticos reales, que se traduzcan en mejores diseños y menores costos de operación.

Así mismo, este proyecto se constituye como el primer estudio de la actividad bacteriana y parámetros cinéticos al interior de un biorreactor de membranas sumergidas en México, abriendo la posibilidad de que este sistema pueda ser empleado en un futuro próximo. El dispositivo está calculado con una configuración geométrica específica para lograr una recirculación total de la biomasa; a través del módulo de membranas, (microfitración) inmersas en la biomasa, se produce una separación de fases sólido-líquido por medio de fuerza de succión que da como resultado un efluente libre de patógenos, virus y bajos niveles de contaminantes orgánicos. Trabajos muy importantes en materia de caracterización, crecimiento y tendencias en el comportamiento bacteriológico en los procesos para el tratamiento de aguas residuales indican que una práctica novedosa para evaluar la viabilidad de lodos es la microscopía de fluorescencia. Esta técnica indica la respiración bacteriana con la formación de cristales visibles en un haz de luz UV en el proceso de reductasa a nivel de la membrana bacteriana. Finalmente el diseño del experimento se basa en el análisis de las variables de operación incluyendo la microscopia de fluorescencia que podemos correlacionar para obtener las cinéticas de degradación dentro del BRM.

La aplicación de este estudio es de suma importancia pues es la antesala a definir parámetros de operación óptimos que apuntalan de manera científica la viabilidad de emplear la tecnología de las membranas en los bioprocesos, en México, pues si bien son sistemas con un costo de inversión elevado, el beneficio es mucho mayor cuando los costos de operación son menores.

1.4. OBJETIVOS GENERAL Y PARTICULARES

Los objetivos están planteados en base a la comprobación de la aplicabilidad y reproducción científica, de la metodología a emplear, lo anterior nos sugiere de manera puntual que es posible cumplir con cada uno de los objetivos y hacer efectivo el aporte tecnológico en la aplicación de los BRM en los municipios y estados de México.

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

- Analizar la actividad bacteriana en un biorreactor con membranas sumergidas operado bajo diversas cargas orgánicas a lo largo y durante la estabilización del reactor.

1.4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar los parámetros cinéticos de la operación del BRM.
- Determinar la proporción población bacteriana, que se encuentra activa por medio de técnicas de fluorescencia.
- Analizar posibles correlaciones entre los parámetros cinéticos con la fracción de la población bacteriana activa.

1.5. HIPÓTESIS

La actividad de la biomasa en suspensión, medida en función de la degradación y remoción de contaminantes orgánicos, es mayor en los biorrectores con membranas con respecto a los sistemas convencionales, debido a una fracción de la población bacteriana que se encuentran activa dentro del biorreactor con membranas.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Estado del arte

En el campo del tratamiento de aguas industriales y municipales el uso de los (BRM) está aumentando debido especialmente a la alta exigencia en calidad de efluentes hoy en día. En Alemania hay siete plantas municipales de tratamiento con una capacidad total de 120,000 habitantes, aplicando tecnología BRM (Pinnekamp y Friedrich, 2004). Lamentablemente en México es un proceso que no ha tenido el mismo impacto debido a los altos costos de inversión y especialmente a los costos de operación. Debido a que las aguas residuales son únicas en cuanto a su química, es difícil predecir de antemano cómo se comportará un proceso de membrana dado. Como consecuencia, la selección de la mejor membrana para una aplicación dada se basa nominalmente en los resultados de estudios piloto (Crites y Tchobanoglous, 2004), en los que además es fundamental hacer una caracterización de la composición de la biomasa que se encuentra en el interior del reactor, para conocer las relaciones que influyen en la óptima operación del proceso.

Una membrana puede definirse como un film delgado, que separa dos fases y actúa como una barrera selectiva de transporte de materia e implica que existe una diferencia de potencial químico entre las dos fases. La membrana no es un material pasivo sino un material funcional puesto que se puede caracterizar por su estructura, sus rendimientos en términos de caudales y la selectividad dependen principalmente de la naturaleza de los elementos contenidos en dos fases y de la fuerza directora que se aplica.

Cabe señalar que para comprender mejor el funcionamiento de la microbiología en el interior del reactor se deben comprender los mecanismos de separación, que ofrecen las membranas, que son los siguientes: i) la separación tiene lugar a temperatura ambiente sin cambio de fase, lo que ofrece una ventaja energética comparada con la destilación. ii) la separación tiene lugar sin la acumulación de productos dentro de la membrana (i.e. las membranas están adaptadas para funcionar continuamente sin un ciclo de regeneración), lo que explica la acumulación de los SS al interior del módulo. iii) la separación no necesita la adición de productos químicos como es el caso de la clarificación del agua por asentamiento y filtraje convencional. Esto da ventajas a la calidad del producto y deja menos residuos contaminantes. iv)

la membrana semipermeable es una lámina fina de material capaz de separar sustancias en función de sus propiedades físicas y químicas, cuando se aplica una fuerza directora a través de la misma. Las membranas pueden clasificarse por el tipo de sustancias separadas y por las fuerzas directoras empleadas (i.e. la *microfiltración* (MF) y *ósmosis inversa* (OI)) son dos procesos globales de membrana que utilizan la presión para transportar agua a través de la membrana. Las membranas MF son capaces de separar sólo partículas mientras que en la OI se retienen muchos solutos a medida que el agua permea a través de ella.

Según la AWWARF en (1998) se atribuye el crecimiento global de la aplicación de las membranas en la ingeniería ambiental a tres factores fundamentales:

2.1.1. La escasez de agua

Los recursos hídricos para cumplir con la actual y proyectada demanda del agua, están presentes en suministros que están limitados en su cantidad y calidad. Si partimos el hecho de que 97% del agua de la tierra está contenida en los océanos, cuyo elevado contenido de sal es de (35,000 mg/L) (AWWARF, 1998 y Orantes, 2009), 2% se presenta en forma de hielo en los casquetes polares y glaciares, el 0.3% está presente en la atmósfera, solo el 0.1% se encuentra en ríos y lagos; quedando el 0.6 % contenida en acuíferos subterráneos y el restante está disponible en agua terrestre (AWWARF, 1998 y Orantes, 2009), lo que nos indica que hay aproximadamente $5x10^{15}$ m^3 del agua de ríos, lagos y acuíferos superficiales disponibles para las necesidades de los 6,000 millones de personas, por lo que se presenta un panorama de mucho trabajo para tratar el agua por diferentes métodos para conseguir nuevamente agua potable. Por tal motivo el agua de mar desalada y el agua subterránea salina han llegado a ser una de las fuentes principales de agua en las regiones áridas del Medio Oriente, que ostenta cerca de los dos tercios de la capacidad mundial de plantas desaladoras que aplican el proceso de las membranas. En áreas con escases de agua el incremento del tratamiento de aguas residuales municipales para su reutilización como agua potable indirecta e industrial directa, así como el reciclaje industrial interno, se ha convertido en un medio atractivo para optimizar los suministros de agua existente. Por lo que en muchas de estas aplicaciones existen oportunidades para la incorporación de tecnologías de membrana. Como la aplicación a gran escala que se aplica en la Factoría de Agua 21 en el condado de Orange California, como parte de un sistema que potabiliza indirectamente un afluente municipal tratado vía infiltración de agua subterránea y la restauración para la

reutilización directa que se realiza en Windhoek, la capital de Nambia. Esto forma parte de la tecnología para producir agua potable de alta calidad a partir de aguas residuales secundarias municipales, con los BRM, que se han comprobado también que a escala de experiencias piloto y de demostración son sumamente eficientes.

2.1.2. Fuerzas de mercado

El tratado de las aguas residuales no se considera generalmente como un mercado abierto, ya que la gran mayoría de las plantas de tratamiento son propiedad de los municipios y que no actúan a los incentivos normales de mercado o a las reglas económicas.

La evaluación de la efectividad de costos de un proyecto es normalmente precaria, puesto que el periodo de amortización es normalmente largo y la voluntad de asumir riesgos en el diseño es limitada. La competencia restringida entre los diseñadores de las plantas y los fabricantes no incentivan la adopción de medidas alternativas. Sin embargo a medida que la industria se fue privatizando el panorama ha ido cambiando, ya que los municipios están contratando compañías privadas, no sólo para hacer funcionar y mantener las plantas de tratamiento, sino también para diseñarlas y construirlas. Lo que desencadeno una generación de diseños más innovadores y más tecnificados. Otro factor que se debe tener en cuenta fue la apertura de los mercados mundiales; debido al crecimiento del mercado interno en Japón, en el tratamiento de aguas industriales y municipales en 1984, las ventas de equipos de tratamiento se duplicaron con respecto a las de Estados Unidos. Este incremento esta unido a un ambicioso programa de investigación que incrementa la posibilidad de que Japón, pueda hacerse cargo de una mayor cuota del mercado mundial. Lo que se especula que esta situación estimuló a la competencia forzando a otras empresas a ser más innovadoras en el desarrollo de nuevas tecnologías de tratamiento.

Recientemente en un panorama mundial, las membranas y sus procesos han llegado a ser un producto industrial de gran impacto desde un punto de vista tanto técnico como comercial y las ventas mundiales de membranas sintéticas superaron los 2000 mdd, entre 1990 y 1992. Teniendo en cuenta que la mayoría de las aplicaciones industriales cuenta con cerca del 40% y en ocasiones solo el 20% del total de costos de inversión de una planta de membranas; el total anual de ventas para la industria basadas en las membranas estaría cerca de los 5000 mdd, (Strathman, 1992 y Baker *et al*., 1990).

2.1.3. Presión de la regulación jurídica

Presión de la regulación jurídica e.i. en Estados Unidos se desarrolló un reglamento clave que fue el paso de las enmiendas en 1986 de *Safe Drinking Water Act* (*SDWA*), ya que tuvieron un impacto muy importante sobre los requerimientos de tratamiento, de reducción de la turbidez y de la desinfección química del agua para asegurar la remoción y la inactivación de protozoos específicos, virus y bacterias. Dichos requerimientos deben cumplirse aumentando la dosis de desinfectantes químicos tales como el cloro. Sin embargo a dosis mayores de cloro pueden generar cloroformo o trihalometanos. Y debido a que el tratamiento de agua residuales de ha enfocado tradicionalmente sobre los procesos de separación sólido-líquido más que los procesos de remoción de contaminantes disueltos en el agua. De tal forma que las enmiendas han forzado a los profesionales del tratamiento de agua a considerar el empleo de tratamientos no convencionales, tales como tecnologías de membranas, que solas o en conjunción con la separación sólido-líquido son capaces de cumplir con las normas antes mencionadas.

2.2. Parámetros y fundamentos de la operación del sistema

2.2.1. Biorreactores con membranas (BMR)

El tratamiento biológico es un aspecto importante en los procesos de tratamiento de aguas residuales y urbanas (Metcalf y Eddy, 2003), que juegan un papel cada vez mayor en el tratamiento de aguas residuales (Rittman y Snoeyink, 1984).

Los procesos biológicos se pueden definir como sistemas tecnológicos diseñados para acumular microorganismos que oxidan los contaminantes orgánicos (DQO) y minerales (NH_3, Fe^{2+} entre otros) que son dadores de electrones y reducen O_2, NO_3, SO_4 ó CO_2, que son aceptores de electrones (Rittman, 1987).

La eficiencia de los procesos biológicos depende de dos factores principales: la concentración de biomasa en el reactor y la relación de transformación específica de los microorganismos. La mayoría de los intentos de mejora en los últimos cien años ha tenido como objetivo el aumentar la concentración de microorganismos en el biorrector, separando los sólidos

y líquidos y luego recirculando la biomasa (en forma de lodos activados), o bien desarrollando reactores de cultivos fijos, (Lazarova y Manem, 1994).

Por otro lado los últimos desarrollos de una nueva generación de membranas de UF y MF más productivas y menos costosas han hecho que surgiera un nuevo concepto de tratamiento biológico como los biorreatores con membranas (BRM), (Cheyran y Mehala, 1986). Esta nueva tecnología ofrece varias ventajas sobre procesos convencionales utilizados hasta ahora, que incluyen la fiabilidad, tamaño y sobre todo la excelente calidad del agua tratada la alta calidad y desinfección total del efluente final, significa que los procesos de los BRM son aplicados para muchos fines, como por ejemplo, tratamiento y reutilización del aguas residuales, industriales y urbanas; así como el reciclaje de los edificios y tratamiento de lixiviados vertederos.

2.2.2. Descripción del proceso de los BRM

Los BMR se pueden definir como la combinación de dos procesos básicos: i) degradación biológica y ii) separación por membrana. En un proceso único en el que los sólidos en suspensión y microorganismos responsables de la biodegradación son separados del agua tratada, mediante una unidad de filtración por membrana. La totalidad de la biomasa está confinada dentro del sistema proporcionando un control perfecto del tiempo de permanencia de los microorganismos en el reactor (edad del lodo) y la desinfección del influente.

En una operación bastante general de los BRM tenemos que él influente entra en el biorreactor donde es puesto en contacto con la biomasa. La mezcla es bombeada y luego, bajo presión, filtrada a través de la membrana. El agua filtrada es descargada del sistema mientras que la biomasa es devuelta al biorrector. El exceso del lodo se bombea y descarga con el fin de mantener una edad del lodo constante y la membrana se limpia periódicamente mediante lavado a contracorriente, lavado químico o ambos (AWWARF, 1998).

Una de las mayores ventajas del BMR está en la calidad del agua tratada, ya que este sistema puede simultáneamente tratar biológicamente y desinfectar el efluente.

La separación completa entre el tiempo de retención hidráulica (TRH), y el tiempo de retención de sólidos suspendidos (TRS) permite un control óptimo de las reacciones biológicas y una mayor fiabilidad y flexibilidad de uso. El elemento clave de la tecnología del BRM es la

capacidad de absorber variaciones y fluctuaciones de la carga orgánica hidráulica del sistema. El control completo de la edad del lodo es especialmente importante para permitir el desarrollo de microorganismos de crecimiento lento como las bacterias nitrificantes. Las membranas UF y MF utilizadas en el BRM funcionan bajo mayores concentraciones de biomasa y por tanto, mayores cargas orgánicas que los procesos convencionales de lodos activados y clarificación basados en separación por gravedad, por lo que los sistemas pueden ser más compactos. Así mismo, la membrana puede retener material soluble de elevado peso molecular, aumentando su tiempo de retención, mejorando así la oportunidad de su biodegradación en el reactor biológico.

2.2.3. Remoción de sólidos residuales con filtración por membrana

Esta filtración involucra la separación (remoción) de un material en particular de un líquido. En la filtración por membrana, el rango del tamaño de las partículas se extiende para incluir los componentes disueltos. La función de la membrana es servir de barrera selectiva que permitirá el paso de ciertos constituyentes y retendrá otros encontrados en el líquido (Cheryan, 1986). El líquido que pasa por la membrana semipermeable se conoce como filtrado (también conocido como la corriente filtrada o producida), y el líquido que contiene los constituyentes retenidos es conocido como retenido (ó también conocido como concentrado, fase retenida, corriente de desecho). La tasa de filtrado que fluye por la membrana se conoce como tasa de flujo, expresada como gal/pie▪d (Crites y Tchobanogous, 2000). Dicho a través de la membrana puede describirse mediante la siguiente expresión, considerada como el principio de una operación de membrana:

$$Flujo = fuerza\ directora \times concentración \times movilidad \quad (3.1)$$

2.2.4. Operación de la membrana

Teóricamente basándonos en una clasificación general de las operaciones de membrana se consideran aspectos generales como i) fuerza directora, ii) mecanismo de separación, iii) estructura de membrana y iv) fases de contacto, esto nos lleva a definir en base a la ecuación 3.1 el modo de operación para el proyecto. De acuerdo a la literatura las características del proyecto a la MF corresponde un tamaño de poro de 0.1μm y se emplea una fuerza directora que será **presión**, el mecanismo de separación es el **cribado**, la estructura está definida en **macroporos** y

las fases de contacto son **líquidas** (AWWARF *et al.,* 1998). Las presiones de trabajo se mantienen bajas tanto en la UF como en la MF (50 a 500 kPa).

En forma más práctica la operación de los procesos de la membrana es relativamente simple. Se utiliza una bomba para presurizar la succión de alimentación y circularla a través del módulo. Se utiliza una válvula para mantener la presión del retenido. El filtrado es retraído, normalmente a presión atmosférica. A medida que los constituyentes del agua suministrada se acumulan en las membranas (proceso llamado obstrucción de la membrana), la presión aumenta en el lado de la alimentación, el flujo de la membrana comienza a disminuir, lo mismo que el porcentaje de rechazo. Cuando el comportamiento se ha deteriorado hasta cierto nivel, los módulos de membrana se ponen fuera de servicio y se lavan en contraflujo y/o se limpian químicamente (Crites y Tchobanoglous, 2004).

2.2.5. Obstrucción de la membrana

El término obstrucción se utiliza para describir el propósito y acumulación potencial de los constituyentes en la corriente de alimentación en la membrana. La obstrucción de la membrana es una consideración importante en el diseño y la operación de los sistemas de membrana, ya que afecta las necesidades de tratamiento preliminar, los requerimientos de limpieza, las condiciones de operación, el costo y el desempeño. La obstrucción de la membrana, puede ocurrir en tres formas generales: i) Aumento en los constituyentes del agua de alimentación en la superficie de la membrana (comúnmente como formación de una pasta), ii) Formación de precipitados químicos debido a la química del agua de alimentación y iii) Daño de la membrana ocasionado por la presencia de las sustancias químicas que reaccionen con la membrana, o agentes biológicos que colonicen la membrana (Crites y Tchobanoglous, 2000).

2.2.6. Control de la obstrucción de la membrana

En general se utilizan tres métodos para controlar la obstrucción de la membrana: i) Tratamiento preliminar del agua de alimentación, ii) Retro enjuague de la membrana y iii) Limpieza química de las membranas.

El tratamiento preliminar se utiliza para reducir los SST y el contenido bacteriano del agua de alimentación. Con frecuencia, el agua de alimentación se acondiciona químicamente para

limpiar la precipitación química dentro de las unidades. El método de uso común para eliminar el material acumulado de la superficie de la membrana es el retro-enjuague con agua y/o aire. El tratamiento químico es utilizado para remover los constituyentes que no son removidos durante el retro-lavado convencional. Los precipitados químicos pueden ser removidos alterando la química del agua de alimentación y por el tratamiento químico. El daño de la membrana causado por constituyentes destructores es generalmente irreversible (Crites y Tchobanoglous, 2004).

2.2.7. Influencia del TRC en el sistema de los BRM

El tiempo de retención celular (TRC) es fundamentalmente importante en las propiedades de la biomasa principalmente en los sistemas BRM, C. Giordano y colaboradores en 2007, operaron un BRM en condiciones similares a diferentes TRC, en intervalos de 20 días reportaron un sistema alta afectividad en la remoción de contaminantes orgánicos e inorgánicos y tienen un buen control sobre la actividad biológica. También indican que debido a las características del sistema en el cual los TRC son prolongados, independientemente de los TRH, se redice la producción de lodos y el proceso biológico tiene periodos de arranque más corto (Visvanathan *et al.,* 2000; Judd, 2006).

2.2.8. Tamaño de la separación

Los tamaños de los poros en las membranas se identifican como macro poros (superiores a 50nm), meso poros (de 2 a 50 nm) y micro poros (menores de 2 nm) (Crites y Tchobanoglous, 2004). No obstante las membranas de (PVDF), figura 3.1, son consideradas porosas; medios densos en los que la difusión de especies tiene lugar en el volumen libre que está presente entre las cadenas macromoleculares del material de la membrana.

2.2.9. Materiales de la membrana

Las membranas pueden ser elaboradas en un gran número de materiales orgánicos e inorgánicos. Las membranas usadas para el tratamiento de aguas residuales son orgánicas. Los tipos principales de membranas utilizadas son de polipropileno, acetato celuloso, poliamidas aromáticas y compuestos de película delgada. La selección de la membrana y la configuración del sistema se basan en minimizar la construcción y deterioro de la membrana, normalmente determinada en estudios de planta piloto (Crites y Tchobanoglous, 2004). Una de las principales

estructuras moleculares de lo que están hechas las membranas son de *polifluoruro de vinildeno* (PVDF), que a causa de su excelente estabilidad química y térmica, se emplean como membranas macro porosas de microfiltración pese a que son muy sensibles al cloro.

$$-(CH_2 - CF_2) -$$

FIGURA 1 Estructura molecular del Polifuoruro de **vinildeno** (PVDF).

2.3. Aplicaciones de la membrana

Con la evolución de las preocupaciones de la salud humana y el desarrollo de las membranas nuevas y menos costosas, la aplicación de la tecnología de las membranas en el campo de la ingeniería ambiental ha aumentado considerablemente dentro de los últimos 5 años. Se espera que el alto uso de membranas continúe en el futuro. De hecho se ha sugerido que la filtración convencional sea obsoleta dentro de 20 años. Las principales aplicaciones de las diferentes tecnologías de membrana para la remoción de componentes que se encuentren en aguas residuales se resumen en la tabla 3.2. Los rangos usuales de operación en términos de presiones operativas y tasas de flujo, así como el tipo de membrana utilizada se reportan en la Figura 2.

	Tipo de membrana				
Constituyente	MF	UF	NF	OI	Comentarios
Organismos bidegradabres		x	x	x	
Dureza			x	x	
Metales pesados			x	x	
Nitrato			x	x	
Organismos contaminantes prioritarios		x	x	x	
Constituyentes orgánicos sintéticos			x	x	
SDT			x	x	
SST	x	x			Removidos como tratamiento preliminar para NF u OI
Bacterias	x	x	x	x	Usados para desinfección de membrana. Removidos para tratamiento preliminar para NF y OI con MF v UF
Quistes u ooquistes protozoarios	x	x	x	x	
Virus			x	x	Usados para desinfección con membrana.

FIGURA 2 Aplicación de membranas para la remoción de constituyentes de aguas residuales

Una parte muy importante en MF es la separación de materiales inorgánicos como los metales pesados de efluentes específicos de procesos biológicos. Por lo que en el proceso es muy importante tomar en cuenta los siguientes aspectos: i) **Fuerza motriz:** La característica que distingue los procesos MF y UF es la aplicación de la presión hidráulica para lograr la separación deseada. (Crites y Tchobanoglous, 2004), ii) **Mecanismos de remoción** La separación de las partículas en la MF y en la UF está acompañada por un colado (tamizado), sin embargo el colado es muy importante en las membranas de UF, especialmente en las de grandes aberturas de poros (Crites y Tchobanoglous, 2004).

2.3.1. Microfiltración

La microfiltración MF puede emplearse en muchas formas en los sistemas de reutilización. La MF puede ser empleada para remplazar la filtración convencional con el fin de remover la turbiedad, los SST residuales, los parásitos eucarióticos y la mayoría de las bacterias. La MF también puede ser utilizada en vez de los clarificadores secundarios en cuyo caso la unidad de MF puede ser ubicada externa o internamente, si se ubica internamente el proceso se describe como membrana como membrana inmersa. En los sistemas de purificación de agua, la MF puede servir como un tratamiento preliminar para procesos avanzados y ósmosis inversa. Las membranas de microfiltración MF con las más numerosas en el mercado y menos costosas y son hechas normalmente de polipropileno acrilonitrilos, nailon y polotetrafluoroetilenos (Crites y Tchobanoglous, 2004).

2.3.2. Estudios para aplicación de membrana

Debido a que las aguas residuales son únicas en cuanto a su química, es difícil predecir de antemano cómo se portará un proceso de membrana dado. Como consecuencia, la selección de la mejor membrana para una aplicación dada se basa nominalmente en los resultados de estudios piloto. Los indicadores de obstrucción de la membrana pueden ser utilizados para evaluar la necesidad de tratamiento preliminar. En algunas situaciones, los fabricantes de membranas proveen un servicio de prueba para identificar la membrana más apropiada para aguas o aguas residuales específicas.

Los elementos que conforman la planta piloto incluyen:

1. Sistemas de tratamiento preliminar
2. Tanque para homogenizar el flujo y para lavado
3. Bombas para presurizar la membrana, recirculación y retro-enjuague con los controles apropiados (por ejemplo, controladores de frecuencia variable)
4. Módulo de prueba de la membrana
5. Adecuación de instalaciones para el monitoreo del desempeño del módulo de pruebas
6. Sistema apropiado para el reto-enjuague de las membranas.

Toda la información recolectada a lo largo del tiempo debe ser suficiente para permitir el diseño del sistema a gran escala y la información normalmente requerida se relaciona con:

1. Requerimientos de tratamiento preliminar incluyendo dosificación química.
2. Características generales de operación a largo plazo.
3. Correlación de los caudales con los tiempos de operación.
4. Frecuencia de lavado incluyendo el protocolo y los requerimientos químicos.
5. Requerimientos posteriores al tratamiento.

Entre las medidas usuales de calidad del agua se encuentran:

- Turbiedad
- Conteo de partículas
- Carbono orgánico total
- Nutrientes
- Metales pesados
- Contaminantes orgánicos
- Sólidos disueltos totales
- pH
- Temperatura
- Conteo de placas heterótrofas
- Otros indicadores de bacterias
- Constituyentes específicos que pueden limitar la recuperación del sílice, bario, calcio y sulfato biotoxicidad

No obstante los parámetros específicos seleccionados para la evaluación dependerán del uso final que se le vaya a dar al agua o a las instalaciones de prueba piloto empleadas para evaluar varias opciones de tratamiento de membrana (Crites y Tchobanogous, 2000).

2.3.3. Régimen de mezcla en el tanque del BRM

Los regímenes de mezcla usados en los procesos de lodos activados son nominalmente el de flujo pistón y completamente mezclados. El régimen de mezcla completa presenta entre sus ventajas el hecho de que el tanque de aeración sirve como amortiguador en el que se suavizan hasta cierto punto las oleadas de carga. Esto resulta especialmente provechoso en el tratamiento de aguas residuales de la industria, las que contienen cantidades de sustancias toxicas o inhibitorias. Se puede entonces mantener un nivel más uniforme con respecto a las concentraciones de lodos y sustratos y requerimiento de oxígeno y hacen también más fáciles las condiciones de observación y control (Crites y Tchobanoglous, 2004).

2.3.4. Sistema de aireación

El oxígeno libre disuelto es el reactivo esencial para los procesos aeróbicos. Cuando los organismos aeróbicos utilizan los nutrientes orgánicos, consumen al mismo tiempo el oxígeno disuelto. Si no se repone el oxígeno disuelto, el crecimiento aeróbico se detiene cuando se agota el oxígeno y sólo pueden continuar los procesos anóxicos o anaeróbicos. Los métodos disponibles para la aeración en los procesos de lodos activados se pueden clasificar, en términos generales, como sistemas de aeración por burbujas o sistema de “difusor”, sistemas de aeración mecánica y sistemas combinados que asan tanto la aspersión por aire como la agitación mecánica.

El requisito principal que debe cumplir un sistema de aeración es que debe ser capaz de transferir oxígeno al licor mezclado a una tasa equivalente al pico de requerimiento de oxígeno, expresado como la masa de oxígeno transferida por unidad de volumen por unidad de tiempo ($kg_{O2}/m^3 \cdot h$).

La disolución de oxigeno no es la sola función del sistema de aeración, ya que también suministra la agitación necesaria para mantener en suspensión los flóculos del lodo y el licor mezclado tan homogéneo como sea posible en un sistema de tres fases. Aún en procesos de flujo

pistón, es deseable la homogeneidad "vertical". Si la agitación es insuficiente para mantener en suspensión en todo el líquido a los flóculos de los lodos, el contacto reducido entre microorganismos y nutrientes retardará la tasa de remoción de nutrientes. Algunos organismos pueden estar privados de nutrientes y en el peor de los casos, los lodos podrían asentarse en el fondo del tanque de aeración y formar una capa anaeróbica. De manera similar, se requiere un mezclado adecuado para asegurarse de que algunas regiones del tanque no se vean privadas de oxígeno disuelto y se vuelvan anóxicas (Winkler, 1998).

2.3.5. Sistemas de aireación por burbujas

En los sistemas de aireación por burbujas, la transferencia de oxígeno se efectúa de tres maneras por la acción de burbujas que se forman dentro de la mezcla de licor. El aire comprimido pasa a través de perforaciones llamadas aspersores o a través de medios porosos llamados difusores, o por disolución de aire a presión en una parte del líquido, el cual se libera posteriormente dentro del cuerpo principal del licor mezclado para su mezcla total. La aspersión produce las burbujas más gruesas, y el aire disuelto las más finas, pero la terminología para el tamaño de las burbujas producidas por un sistema resulta inexacto. Con términos muy apropiados se puede decir que las burbujas "finas" tienen un diámetro menor de aproximadamente 1 ½ a 2 mm, y las burbujas "gruesas" son las mayores de 3 a 5 mm de diámetro. Las burbujas "medianas" se encuentra entre este rango, y se usa también el término "micro", aparentemente con el mismo significado que "finas". El término "aeración por difusor" se usa con frecuencia para describir sistemas de aeración por burbujas en general, incluyendo los sistemas de aspersión (Winkler et al., 1998).

- **DIFUSORES DE BURBUJA FINA**

Los difusores de burbujas finas se fabrican de material sintetizado, cerámico o de plástico comprimido formado en placas, platos, tubos o domos. El tamaño de las burbujas producidas por el difusor depende no solo del tamaño de los poros del medio poroso, sino también de su capacidad de humedecimiento. Esto se ve afectado a su vez por la presencia de materiales tensos activos en aguas residuales. La humectación afecta la capacidad de coalescencia que ocurre entre las burbujas que se forman en poros adyacentes antes de su desprendimiento. Por ejemplo la

sílice ligada con silicatos vítreos es más fácil de ser humedecida que la sílice ligada con la cerámica, y para medios con tamaños similares de los poros, produce burbujas más finas.

Los difusores de burbujas finas ofrecen una mayor resistencia al flujo de aire que los dispositivos de burbujas medias o gruesas. Además, el aire se debe de filtrar cuidadosamente antes de que pase al difusor, de otra manera, los poros podrían bloquearse con polvo en el interior o "lado seco" del medio poroso. También están sometidos al crecimiento de microorganismos en la superficie mojada, ya que se trata de una región de alta disolución de oxígeno. Resulta ventajoso montar los dispositivos en una distribución que permita un fácil acceso para limpieza (Winkler *et al*., 1998).

2.4. Composición de la biomasa

La biomasa en un proceso biológico de tratamiento de aguas residuales se puede encontrar fija a una superficie o en suspensión. En este caso, las bacterias se encuentran en suspensión, pero asociadas en forma de flóculos, que se caracterizan por la adaptación de la suspensión al medio en el cual se desarrollan y constituye un medio de protección contra sus depredadores (Warner, 2003). Esos flóculos pueden ser caracterizados por su morfología, sus propiedades físicas y por sus compuestos.

Los microorganismos presentes en la biomasa son principalmente bacterias, hongos, protozoarios y metazoarios. En una suspensión biológica mixta aeróbica, la mayor parte de la población bacteriana está compuesta de microorganismos heterótrofos que se desarrollan a expensas de la materia orgánica biodegradable necesaria para la síntesis de nuevas bacterias y para la producción de la energía asociada a la actividad celular. La composición química de la materia viva está en función de las especies presentes. La fracción inorgánica (expresada como peso seco) solo representa aproximadamente el 3%, ella está compuesta de iones: Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+}, Na^{+}, Fe^{3+}, S y de otros elementos únicamente en cantidades traza [ASCE, 1998]. La fracción orgánica por el contrario, es más importante y está compuesta de un 50 ±5 % de Carbono, 20-30 % de Oxígeno, 8-15 % de Nitrógeno, 8 % de Hidrógeno y 2.5-5 % de Fósforo (Pitter y Chudoba., 1990). La materia viva es a menudo representada por la fórmula química: $C_5H_7O_2NP_{0.2}$ (ASCE., 1998).

2.4.1. Metabolitos presentes en la suspensión

Las bacterias que se encuentran de frente a nuevas condiciones de la suspensión van a liberar en el medio metabolitos microbianos en suspensión (SMP, por sus siglas in inglés, Soluble Microbial Products) (Low y Chase, 1999). Esos metabolitos, esencialmente de tipo orgánico, pueden ser productos intermediarios (Clifton 1963, Painter 1983, Daigger y Grady, 1977) o bien productos finales del metabolismo (Chudoba, 1985). Sin embargo, los productos intermediarios son más fácilmente reutilizados para el crecimiento. Por el contrario, los productos finales son más difícilmente biodegradables (Hejzlar y Chudoba, 1986) por lo que se van a encontrar en el agua tratada por medio de procesos biológicos.

Bajo condiciones de alta carga orgánica, las bacterias van a liberar productos intermediarios (Hejzlar y Chudoba, 1986). Por el contrario, cuando los microorganismos se encuentran en condiciones de baja carga orgánica no habrá prácticamente productos intermediarios y las bacterias van a incorporarse a los ciclos donde hay a la vez crecimiento y muerte (Hejzlar y Chudoba, 1986) donde los metabolitos (SMP) y los exopolímeros (EPS) son hidrolizados y utilizados como neosubstratos, constituyendo un substrato suplementario con relación al substrato exógeno original.

Los EPS están presentes en la estructura de los flóculos. Por el contrario los productos microbianos solubles (SMP) están definidos como compuestos celulares difundidos a través de la membrana celular y los vamos a encontrar en la suspensión biológica. Estos son biodegradables y pueden ser resultado de la lisis, de una liberación durante la síntesis o bien excretados para un fin en particular (Laspidou y Rittman, 2002).

Los SMP son importantes ya que se van a encontrar en la mayor parte de los efluentes biológicos y son fuentes de carbono. Es importante notar que en la teoría de Laspidou y Rittman (2002), los SMP y los EPS solubles nos están diferenciados. Por lo tanto, los EPS son los compuestos de la matriz gelatinosa e hidratada que constituye los fóculos, mientras que los SMP son los compuestos celulares solubles que son liberados durante la lisis de las bacterias o excretados por la bacteria misma. Sin embargo, los EPS pueden ser también liberados de la matriz del flóculo y convertirse, entonces en SMP.

También es importante precisar que un gran número de bacterias libera proteínas en su ambiente, estas proteínas liberadas en la suspensión pueden ser, ya sea toxinas o enzimas (Pelmont, 1993).

Las bacterias no son capaces de transportar macromoléculas (debido a su tamaño), a través de la pared celular (Law, 1980). Es por ello que una hidrólisis de estos compuestos tiene lugar al contacto de las bacterias (al interior del flóculo) en el caso de las bacterias en suspensión. Las enzimas hidrolíticas (i.e. proteínas) que son liberadas entonces en la suspensión, este fenómeno explica la presencia de proteínas en la suspensión (Confer y Logan, 1998). Sin embargo, la presencia de otras enzimas en estado libre también podría ser explicada por la lisis bacteriana (Pelmont, 1993). Esas proteínas pueden, eventualmente, convertirse en un neosubstrato (soluble) (Confer y Logan, 1998) e incuso participar en las reacciones de degradación de otros substratos presentes en la suspensión. Pelmont (1993) considera que es posible que la lisis bacteriana de una parte de la población no sea accidental sino programada. Señala, sin embargo, que es un fenómeno que aún no es bien conocido.

2.4.2. Naturaleza y composición de las substancias poliméricas extracelulares

Los EPS son polímeros producidos en el metabolismo bacteriano. Son (i) el resultado de un proceso de adaptación al medio ambiente, (ii) productos liberados en el anabolismo, (iii) productos de la lisis o (iv) compuestos absorbidos pero que pueden también ser provenientes del agua residual (Urbain *et al.*, 1993, Nielsen *et al.*, 1997, Chudoba 1985). Constituyen la mayor parte de la fracción orgánica del flóculo, pudiendo constituir entre 50 y 60 % (y hasta un 80%) en peso de la fracción orgánica del flóculo, expresado como materia seca, mientras que las bacterias no constituyen más que entre el 2 y el 20% (Frolund *et al.*, 1996).

Los principales constituyentes de los EPS son proteínas. Estas constituyen 45-55 % de los EPS (Wilén *et al.*, 2003), porcentaje cercano al de los constituyentes de las bacterias. Sin embargo, Sponza (2002) encontró que las proteínas pueden llegar a constituir entre el 60-80 % de los EPS. Los otros polímeros son: substancias húmicas (30-33 %), compuestos de tipo polialifático y poliaromático que contiene varios tipos de grupos funcionales, entre ellos fenoles y carboxilos (Lurie y Rebhum, 1997) ; polisacáridos (10 %) del cual una porción es de ácido urónico (Wilén *et al.*, 2003, Frolund *et al.*, 1996; Urbain *et al.*, 1993, Bura *et al.*, 1998, Jorand *et*

al., 1995, Dignac *et al.*, 1998) ; compuestos iónicos Ca^{2+}, Mg^{2+}, Fe^{3+}, Al^{3+}, K^{+}, Na^{+} (Jin *et al.*, 2004), y ADN (Wilén *et al.*, 2003).

2.4.3. Funciones de las substancias poliméricas extracelulares

Los EPS son los responsables de la aglomeración de las bacterias en flóculos (Laspidou y Rittman, 2002), así como de la filtrabilidad de la suspensión. La formación de flóculos depende de las condiciones del medio (actividad iónica, pH, etc.). La posibilidad de floculación aumenta según la concentración de proteínas, carbohidratos y ADN en los EPS (Wilén *et al*., 2003). La primera función de la matriz de EPS es entonces la agregación de los flóculos. Sin embargo también tiene otras funciones importantes: la adhesión de superficies, la constitución de una barrera protectora contra los biocidas, depredadores u otros agentes nocivos, la retención de agua, la adsorción de compuestos orgánicos exógenos presentes en el medio (Laspidou y Rittman, 2002), la retención de exoenzimas cerca de la superficie de las bacterias para la degradación de macromoléculas (Frolund *et al.*, 1996) y la obtención de nutrientes (Laspidou y Rittman, 2002).

2.4.4. Nutrición de los microorganismos

En los sistemas de lodos activados al incorporar un agua residual que contenga nutrientes necesarios, la biomasa se va a incrementar, generando lodos residuales. El proceso, de desarrollo de los lodos, cuando arranca una PTAR, se puede acelerar por una siembra con una población microbiana, como los lodos procedentes de otro proceso, un cultivo especialmente desarrollado en laboratorio o lodos de una planta piloto. En este proceso el inoculo es de suma importancia ya que si se emplean especies microbianas lo suficientemente aptas para establecerse en los lodos el sistema se podrá estabilizar rápidamente (Winkler, 1998). Una de las características más importantes de los microorganismos que forman parte de floculos en los inóculos, es su capacidad de llevar a cabo ciertas reacciones químicas (i.e. hidrólisis). El resultado o la expresión final de esta organización es el crecimiento (replicación) o la acumulación de fuentes energéticas. En esencia la nutrición microbiana consiste en el suministro de los ingredientes químicos necesarios para hacer monómeros, estos compuestos químicos son los nutrientes (Orantes, 2005). Los nutrientes se clasifican en macronutrientes y micronutrientes en función de las necesidades de las bacterias. Los elementos que los conforman son:

2.4.5. Transformación bioquímica de los nutrientes

El metabolismo microbiano es el proceso de degradación de contaminantes expuestos en las aguas residuales, por medio de una serie de reacciones propias de los microorganismos. Estos toman de su medio las macromoléculas que contienen los elementos necesarios para su desarrollo. La degradación de estas substancias químicas complejas y la formación de compuestos más sencillos, acompañado de una liberación de energía se llama catabolismo. Durante el catabolismo se acumula energía en forma de ATP que posteriormente es utilizada en el anabolismo. El anabolismo es un proceso en el que los microorganismos sintetizan los componentes celulares necesarios para su crecimiento a partir de los productos intermedios generados en el catabolismo, utilizando la energía acumulada previamente. El metabolismo es el resultado colectivo de reacciones anabólicas y catabólicas (Brock y Madigan, 1993).

Los microorganismos requieren energía, la cual pueden obtener de distintas fuentes. Los organismos fotótrofos la obtienen a partir de la luz. Los quimiótrofos a partir de reacciones de oxido-reducción. El carbono puede ser utilizado en forma de carbono orgánico (heterótrofos) o de dióxido de carbono (autótrofos). En el caso de los sistemas de tratamiento biológico principalmente se encuentran microorganismos quimioheterótrofos.

2.4.6. Comportamiento de la biomasa dentro de los BRM

De acuerdo a lo descrito anteriormente respecto a la biomasa y al hacer una comparativa entre el sistema de lodos activados convencionales que tienen una configuración de un biorreactor seguido de un tanque de sedimentación con una purga para el tratamiento de lodo residual, lo que hace que tengamos un control en la población de los microorganismos operando estos reactores con concentraciones de biomasa medias. En el caso de los biorreactores con membranas la etapa del clarificador se omite y se hace la separación de fases sólido-líquido por medio de las membranas. La acumulación de sólidos, ($\geq 0.1\mu m$) para el caso de la MF, es total dentro del biorrecator por ende se operan con concentraciones de biomasa del orden de los 40,000 mg/l y son capaces de soportar niveles altos de toxicidad y metales pesados. Lo anterior el comportamiento microbiano a altas concentraciones de contaminantes que aparentemente generan un ambiente sumamente agresivo para los microorganismos, no obstante gracias a la gran capacidad de adaptabilidad que tienen las bacterias a este tipo de cambios en el medio. En gran medida en los procesos biológico de tratamiento de aguas residuales la degradación de contaminantes orgánicos se traducen a los microorganismos en energía por medio de el proceso

de anabolismo (70%) y en el catabolismo (30%), lo que es empleado para el mantenimiento, producción y crecimiento de microorganismos. En estos sistemas el porcentaje en la producción y gasto de energía se ve invertido, aparentemente por la gran cantidad de microorganismos los requerimientos de energía son mucho mayores. En los BRM vamos a encontrar que los TRC son mayores con lo que se presenta una estabilidad del sistema, según la literatura, también se presentan fenómenos de crecimiento críptico lo que estaría definiendo que el sistema se mantiene debido a este fenómeno pero solo una pequeña parte de la población, definida como la más apta esta activa.

2.5. Observación de los microorganismos al microscopio

A parte de la existencia en el mercado de varios tipos de microscopios, se han ideado múltiples técnicas por las cuales las muestras de microorganismos se preparan para el examen con el máximo detalle. Cada tipo de microscopio y cada método de preparar las muestras ofrecen una ventaja precisa para demostrar algunos aspectos morfológicos (J. Pelczar, 1997) en este caso de microorganismos. La microscopía empleada para propósitos especiales de trabajos de investigación, se definen por diferentes técnicas que desarrollan propiedades convenientes para demostrar estructuras morfológicas específicas.

2.5.1. Microscopía de fluorescencia

Algunas sustancias químicas absorben la energía de las ondas ultravioleta y la emiten como ondas visibles de mayor longitud. De esta manera un material aparece con un color a la luz ordinaria y con otro del todo distinto por la luz ultravioleta. A este fenómeno se le denomina fluorescencia (J. Pelczar, 1997). La microscopía de fluorescencia fue desarrollaron por Agust Köhler en 1904; la característica básica es la propiedad de algunas moléculas de emitir luz por un proceso inducido; el fenómeno de la fluorescencia fundamentalmente consiste en tres pasos (i) Excitación: la luz excita al fluorocromo o marcador y el contenido de energía de la luz eleva electrones a un nivel más alto de energía (estado excitado); (ii) Disipación parcial de energía: Nivel más bajo de energía (estado excitado relajado); (iii) Emisión: Regreso del electrón a su estado basal después de $< 10^{-6}$ s. La energía se emite como luz fluorescente de energía más baja y longitud de onda más alta (cambio de color); (Congreso de microscopía, 2010).

La microscopía de fluorescencia tiene grandes ventajas basadas en atributos que no son fáciles de conseguir con otras técnicas ópticas de microscopía. El empleo de fluorocromos o marcadores hace posible identificar células, componentes celulares sub-microscópicos y organismos con un alto grado de material no fluorescente específico. Dicha microscopía puede mostrar también la presencia de material fluorescente con un alto grado de sensibilidad. Por otro lado se pueden detectar, un número de moléculas fluorescentes, extremadamente pequeño (en el orden de las 50 moléculas por μ^3) (M. Abramowitz y F. W. D. Rost, 1993). Hay algunos especímenes que son fluorescentes cuando son irradiados con luz de una corta energía de onda (primaria o auto fluorescente). La fluorescencia es convenientemente provechosa en el estudio de las plantas, petrografía en carbón mineral, petrología de las rocas sedimentarias y en la industria de los semiconductores. En el estudio de tejidos y patógenos en los animales, sin embargo la auto florescencia es a menudo muy débil o no muy específica y se emplea poco. De un valor mucho mayor para tales especímenes son los fluorocromos (también llamados fluoroforos) los cuales son excitados por irradiación de luz y cuyo eventual rendimiento de luz emitida es de mayor intensidad. Tal fluorescencia es denominada fluorescencia secundaria.

Las técnicas de microscopía de fluorescencia pueden ser aplicables al tipo de material orgánico, material vivo con anterioridad, o de material vivo (con el uso in vitro o fluorocromos en vivo). Estas técnicas pueden también ser aplicadas en material inorgánico (especialmente en la investigación de contaminantes en discos semiconductores). También hay un incremento en el número de estudios que emplean pruebas de fluorescencia para monitorear rápidamente los cambios fisiológicos en la concentración de ion como calcio y magnesio y valores de pH en células vivas (Abramowitz, 1993; Herman, 1998 y Rost, 1992).

2.5.2. Actividad bacteriana

La determinación de la actividad microbiana es de importancia para el proceso de análisis de aguas residuales, debido a que tanto la degradación de la materia orgánica, la productividad del sistema, y el rendimiento de la biomasa dependen de la actividad metabólica. (Griebe, 1997). Usualmente la evaluación de la actividad bacteriana en los procesos de lodos activados se han evaluado midiendo parámetros generales como OUR (*rate of oxygen uptake*), contenido de (ATP), biomasa (SSV), o el empleo de algún sustrato. Estos parámetros no proveen ninguna información del gradiente de la actividad microbiana o la viabilidad en la población de lodos.

De acuerdo a los últimos estudios que se han revisado todavía no se conoce cuales bacterias en los lodos activados en un BRM, están metabólicamente activas y que impacto constituyen en el sistema.

Dado que los procedimientos de conteo de plato es un proceso que consume mucho tiempo y subestima considerablemente el número de bacterias activas en los lodos activados. Muchos investigadores han ensayado la medición de la masa de células activas en los lodos activados ya que todas las bacterias aerobias y anaerobias poseen un sistema de transporte de electrones, en donde las sales de *tetrazolium* pueden ser utilizadas como un aceptor de electrones para detectar la actividad de la deshidrogenasa y de esa manera las bacterias metabólicamente activas.

La detección de la actividad bacteriana se basa en la reducción de sales incoloras solubles en agua, a la reducción de productos cromo génicos, insolubles en agua, en forma de cristales de color rojo los cuales pueden ser extraídos de las células u cuantificados colorimétricamente; esto también es empleado para la medición de la actividad acumulativa de los lodos activados. Los productos fluorescentes del CTC y la alta sensibilidad a la tinción en la reacción redox hacen que sea muy sencillo de detectar por microscopía de fluorescencia. Las bacterias fisiológicamente activas son fáciles de reconocer entre otras partículas en los lodos activados por su brillo color rojo fluorescente. Además los depósitos de los productos del CTC se pueden extraer con etanol para su cuantificación espectrofotométrica.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

En éste capítulo se describen los materiales empleados en el proyecto y la metodología montada, en el laboratorio, para poder desarrollar cada variable operativa que nos permitirá conformar una matriz de datos para el análisis e integración de los resultados y discusiones que veremos en el capítulo siguiente.

Al abordar la parte del montaje de la metodología del sistema fue necesario predeterminar la logística del proyecto que se resume en el siguiente diagrama de flujo (Figura 3). Cabe resaltar que por las condiciones del proyecto eventualmente este trabajo puede enriquecerse con la comparación de otros trabajos desarrollados en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, que se desarrollaron también a escala piloto en el laboratorio.

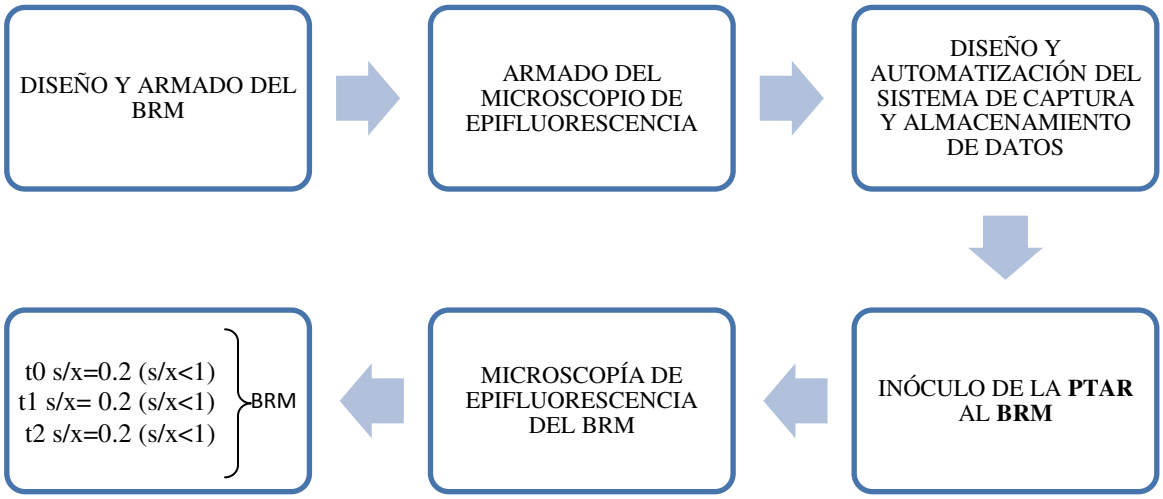


FIGURA 3 Diagrama de flujo del diseño, armado y protocolización del experimento del BRM.

3.1. DISEÑO Y ARMADO DEL REACTOR

En base a los objetivos planteados se diseñaron dos reactores escala piloto para ser empleados como BRM (Figura 4), para que opere en retención total de materia en suspensión, con el fin de evaluar el comportamiento microbiano en la evolución en el arranque y la

estabilización del BRM, el otro tipo de reactor por lotes *batch* (Figura 5), donde se analizó el comportamiento de la biomasa del BRM, que en este estudio se sometió a baja CO siguiendo su comportamiento a través de las cinéticas de consumo de sustrato, consumo de oxígeno y crecimiento de la población microbiana.

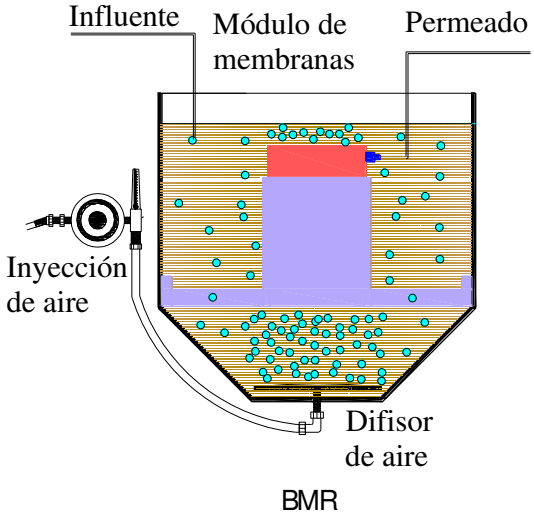


FIGURA 4. Configuración del BRM

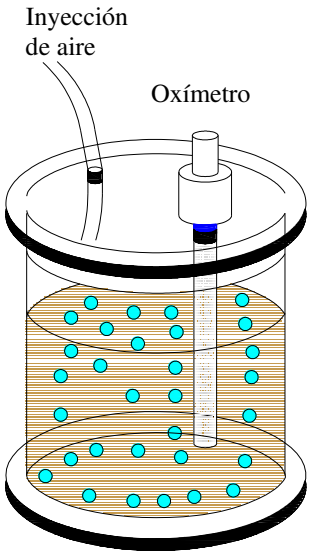


FIGURA 5. Configuración del reactor empleado en lotes tipo "batch" de acrílico.

3.1.1. BIORREACTOR CON MEMBRANAS

Para llevar a cabo la experimentación se diseñó y construyó un reactor piloto con un módulo de membranas planas sumergidas, que fue instalado y puesto en operación en el

Laboratorio de tecnología de la madera, en el área de química, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y fue inoculado con lodos del canal de oxidación de la PTAR de Las Garzas del municipio de Pátzcuaro Michoacán. Este reactor se operó en continuo, en condiciones aeróbicas y se trabajará con un régimen de mezcla total y a temperatura controlada por medio de un termorregulador marca **BOYU C Series** a 20º C (Figura 6). La variable de control será la carga orgánica (CO) y el tiempo de retención celular (TRC). Las variables analizadas serán la degradación de materia orgánica medida como Demanda Química de Oxígeno (DQO) y la producción de biomasa medida como Sólidos Suspendidos Volátiles (SSV) y la actividad de la biomasa será determinada con un microscopía de epifluorecencia mediante técnicas de tinción con marcadores CTC y DAPI.

FIGURA 6 Water Chiller Termoregulador de la biomasa en suspensión.

3.1.2. Reactor piloto

Para dar inicio a la parte experimental, se diseñó un reactor cilíndrico con una base tronco-cónica. Se determinó que el material del tanque fuera de acrílico (Figura 7), de modo que permitiera una mejor apreciación del movimiento de la suspensión biológica. Para suministrar el flujo de aire necesario se barrenó la base del tanque y se adaptó un empaque roscado de ¾" (diámetro exterior) y se colocó un difusor de membrana fina (Figura 8). Una vez adaptado el difusor se adaptó un cople reductor de ½" x ¼" en la parte inferior del plato, se rosco un codo de 90º donde se conecta un tramo de manguera (30 cm) de alta presión de ¼" el cual se conecta a un rotámetro que opera a 40 l/min.

FIGURA 8 Configuración del reactor armado sin el módulo.

FIGURA 7 Difusor de burbuja fina de 25 cm de diámetro efectivo.

3.1.3. ARMADO DE LÍNEA DE AIRE CON CALIDAD PARA PROCESOS BIOLÓGICOS

Para la entrega de aire se empleó un compresor de aire marca **IndustrialAir** de 227 l de capacidad, el cual se conectó a tres filtros de aire, marca **Kaeser,** con el fin de tener una calidad de aire para procesos biológicos, i) Filtro fino de partículas modelo, (**KPF35**). ii) Filtro fino de retención de vapores de aceite, modelo (**KOX35**). iii) Filtro centrifugo para la eliminación de líquidos, modelo (**KLS**), que se muestran en las (Figuras 9 y 10).

FIGURA 9 Conexión de filtros de calidad de aire para procesos biológicos.

FIGURA 10 Compresor de aire.

La estructura de soporte se manufacturó a la medida del reactor con solera de 1" siguiendo la geometría del reactor. Los soportes que se adaptaron al reactor fueron de perfil de 1" procurando elevarlo 15 cm de la superficie donde se instalara con la finalidad de poder conectarlo o en su defecto desmontar el difusor para facilitar el vaciado y la limpieza. Al interior de la base estructural fue recubierta de una lámina de neopreno para proteger el reactor. La estructura se

recubrió de pintura anticorrosiva. La parte de la adición de sustrato y la filtración de permeado se llevó a cabo por medio de un módulo de membranas planas sumergidas, por medio de 2 bombas peristálticas **Watson Marlow 323S** de 400 r.p.m. una para el influente de sustrato y otra para el efluente de permeado (Figura 11). Los módulos de membranas planas: i) presión, ii) flujos y iii) los mecanismos de filtrado que van a emplear.

FIGURA 11 Bombas peristálticas Watson Marlow.

El reactor está diseñado para albergar un V_{op} = 80 L. La configuración geométrica con la que fue proyectado el reactor, está diseñada para favorecer el mezclado y evitar la sedimentación de la suspensión biológica. En la parte superior tendrá forma cilíndrica, sin tapa, la parte inferior es un remate de cono truncado con una base en la cual se colocará un difusor de plato circular, de membrana de burbuja fina con un diámetro de 21 cm (Figura 12 y 13); al centro del reactor a una altura de 15 cm medida desde la base, se colocó un soporte de acrílico de sección rectangular en el cual se colocó un módulo de membranas planas de PVDF (Di-fluoruro de polivinilideno), con diámetro de poro de 0.14 μm (Figura 12) entre otros parámetros que se muestran en la Tabla 1.

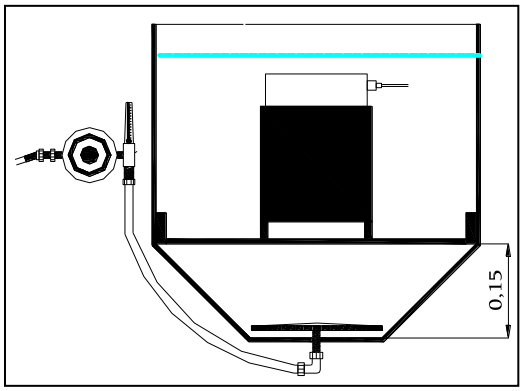


FIGURA 12 Configuración del reactor de membranas planas sumergidas.

FIGURA 13 Configuración del módulo en el reactor.

3.1.4. CARATERÍSTICAS DE OPERACIÓN DEL MÓDULO

El módulo se colocó justo por encima del plato difusor y alineado al centro del reactor. Este módulo cuenta con las siguientes características operativas con las cuales aseguramos el buen funcionamiento y un mayor periodo de vida útil.

FIGURA 14 Módulo de membranas de difluoruro de polivinildeno.

TABLA 1 Características del módulo de membranas de membranas planas

Características	Dimensionamiento	Unidades
Material de la membrana		PVDF
Diámetro de poro	0.14	μm
Número de placas	8	piezas
Espacio entre placas	12	mm
Área filtrante del módulo	0.2	m^2
Área especifica	54	m2 de áreas filtrante/m3 del módulo

TABLA 2 Protocolo del lavado químico del módulo de las membranas

Etapas de lavado	Concentración de reactivo	Duración de la etapa
Recarga manual de agua	-	-
Baño de una solución de sosa	4 g/l	24 h
Baño en una solución de ácido cítrico	22 g/l	5 h
Baño en una solución de hipoclorito de sodio	0.2 g/l	5h

El proceso de lavados químicos del módulo de membranas comienza con un lavado a mano que consistió en: i) Desconectar el módulo evitando que el agua del reactor se infiltre por el pivote de succión, para después poner el módulo bajo el chorro de agua en la tarja y retirar la torticidad que se ha formado sobre las membranas. Cabe resaltar que hay que cuidar la temperatura del agua en operación y en los lavados ya que este tipo de material reacciona con

altas temperaturas, por tal motivo, la temperatura de operación fue de 20 ºC ± 2 ºC. Otra consideración importante es que el módulo una vez que se ha mojado no se debe dejar secar así que entre lavado y lavado se tuvo que dejar en un balde de agua sumergido en 5.340 l de agua de la llave como se muestra en la (Figura 15) ii) El primer lavado químico se hizo con una solución de **NaOH**, donde se disolvió 4g por cada litro de agua empleada para el lavado, después se sumergió el módulo en el balde procurando que no entrara nada de la solución por el pivote de succión como se muestra en la (Figura 15). Este lavado duró 24 h durante toda la experimentación cada mes. iii) Después del primer lavado se enjuagó el módulo y se dejó remojando mientras se preparó el segundo lavado con **ácido cítrico** con una proporción de 22 g de soluto por cada litro de agua empleado para el lavado. iv) El tercer lavado químico es en una solución de **NaOCl** en una proporción de 0.2 ml por cada litro de agua empleada para la inmersión del módulo, este último lavado también se hace durante 5h.

El primer lavado se realizó al inicio de la corrida experimental después de haber obtenido el flujo crítico (J) de la membrana con agua potable.

FIGURA 15 Lavado químico del módulo

FIGURA 16 Operación con agua potable para la obtención de (J).

3.1.5. CARACTERÍSTICAS GEOMÉTRICAS Y DE FUNCIONAMIENTO EN EL SISTEMA

Esta configuración tiene la finalidad de evitar la sedimentación de las partículas en suspensión, propias de los lodos biológicos y garantizar el buen funcionamiento del módulo de membranas planas (Figura 17).

El aire necesario para la concentración de oxígeno disuelto, se suministró en forma continua por un compresor de aire compresor marca **Industrial** modelo **ILA3606056.C** de 3.6 H.P. y 60 galones de capacidad. El flujo de aire se controló por un rotámetro que se operó a un

gasto constante de 40 l/min de aire, y a la descarga será a través del plato difusor de burbuja fina, colocado en la parte inferior del reactor para evitar sedimentación y acumulación de los lodos generados.

TABLA 3 Características generales y dimensiones del reactor.

Elemento	Dimensiones (cm)
Atura total	51
Tirante de agua	35
Bordo libre	15
Altura del cilindro	35
Diámetro interior del Cilindro	51
Altura del cono	15
Diámetro de la base del reactor	22
Diámetro del plato difusor	22
Espesor de las paredes	0.6
Espesor de la base	0.9
Inclinación del cono truncado	45º
Altura de la base del reactor al modulo de membranas	15
Elemento	Volumen (l)
Volumen total	85
Volumen de operación	70

Después de la descripción de los reactores se presentan los sistemas de captura y almacenamiento de datos, las etapas de experimentación, el programa de muestreo y se hace referencia a los métodos analíticos empleados.

3.1.6. PRUEBAS PREELIMINARES DEL BRM

Una vez ensamblado y conectado el reactor se dio paso a las pruebas hidráulicas para corroborar el buen funcionamiento del dispositivo. Primero se realizó una prueba de permeabilidad; se verterá agua limpia en el reactor casi a su máxima capacidad y se dejará en reposo por un periodo de unos 3 días con la finalidad de verificar que el reactor no tuviera fugas o problemas de sellado, posteriormente se sometió a una prueba de suministro de aire para revisión de las conexiones y verificar que no hubiese fugas de aire.

El aire suministrado sirve como fuente de oxígeno para los microorganismos y como medio de agitación en el reactor. Con objeto de garantizar que se tenga una mezcla correcta. Es importante tener una mezcla adecuada para lograr condiciones homogéneas en el reactor y así favorecer la transferencia de oxígeno y el contacto entre las partículas contaminantes y las bacterias. También servirá para favorecer el cizallamiento de las partículas adherida a las paredes de las membranas dentro del módulo.

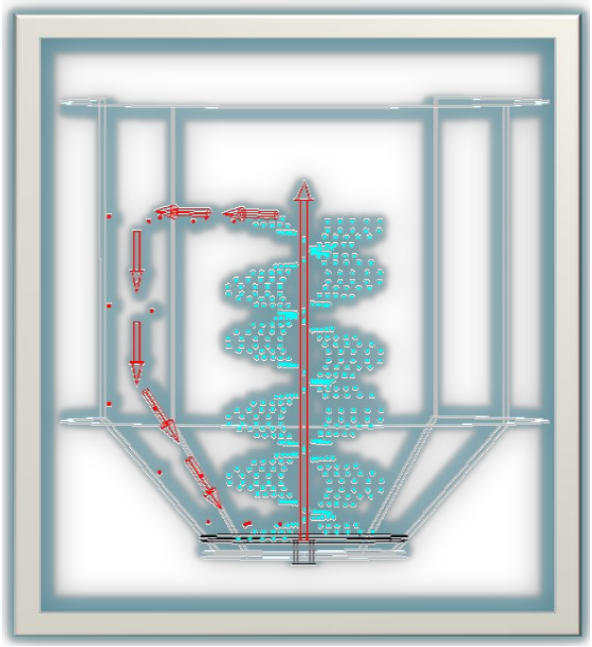


FIGURA 17 Modelado del flujo de lodos al interior del reactor.

3.1.7. Métodos de análisis para la determinación de las variables de operación

Con el fin de determinar la composición de la suspensión, controlar los parámetros de operación y de estimar la actividad biológica se efectuarán los análisis mostrados en la Tabla 4.

TABLA 4 Técnicas analíticas empleadas en la parte experimental.

Parámetros	Técnicas analíticas
PH	Medición amperométrica pH-metro Hach -EC10
OD	Medición amperométrica Sonda para determinación de oxígeno disuelto Hach-Sension6
T	Termómetro integrado a la sonda de medición de oxígeno Hach-Sension6.
DQO_{Tot}	Método de digestión en reactor y colorimetría Espectrofotómetro DR 12010, Hach (0-1500 mg/l)
DQO_{Sol}	Método de digestión en reactor y colorimetría Espectrofotómetro DR 12010, Hach (0-150 mg/l)
SST	Por gravimetria[1] Sólidos secados a 103 - 105 °C
SSV	Por gravimetría[1] Sólidos secados a 103 105 °C y a 550 °C

Respirometría	Mediciones amperométricas de oxígeno disuelto
Microscopía de fluorescencia	Citometría con marcadores CTC y DAPI Microscopio compuesto con EPI-FLUORECENCIA Motic BA400
Ultrasonificación	Baño ultrasónico

[1] APHA - AWWA – WPCF, 1992

3.1.8. Mediciones respirométricas

Las mediciones respirométricas permiten cuantificar el consumo de oxígeno tanto de la población heterótrofa como de la población autótrofa. La nitrificación fue inhibida por medio de la adición de alylthiurea (Spérandio y Paul, 2000) a una concentración de (10 mg/l) (Wood et al., 1981). Las velocidades de consumo de oxígeno (OUR) se realizarán en recipientes de 1 l, de acrílico con tapa para evitar el intercambio de oxígeno por medio de la superficie libre del agua. La suspensión será tomada del reactor y se agitará perfectamente mezclada por medio de un agitador magnético (Thermoline) Se utilizará un medidor de oxígeno disuelto portátil y se tomaron dos lecturas de la evolución de la concentración de oxigeno disuelto a través del tiempo. La OUR corresponde a la velocidad de consumo de oxígeno en el instante en el que se toma la muestra de suspensión biológica.

3.2. ARMADO Y CALIBRADO DEL MICROSCOPIO DE EPIFLUORESCENCIA

La microscopía se realizó en un microscopio **MOTIC BA400** (Figura 18 y 19) al cual se le adapto un tri-ocular para poder adaptar una cámara especial para fluorescencia, **Moticam pro 282B**, que tiene la principal característica de contar con un enfriador que evita que se sobrecaliente a causa de los rayos UV emitidos en ciertas longitudes de onda para llevar a cabo la técnica.

FIGURA 19 Microscopio para fluorescencia.

FIGURA 18 Tri-ocular y cámara adaptados para el microscopio.

Para montar la técnica de fluorescencia se mandaron a hacer filtros especiales que nos pudiesen restringir los rayos UV emitidos por la lámpara de arco Hg, a sólo dos longitudes de onda. Los fluorocromos especiales de CTC y DAPI se fueran visibles en las longitudes de onda a 450–515 nm y 330–385 nm respectivamente.

FIGURA 20 Cámara Moticam 282 con enfriador para fluorescencia.

3.3. DISEÑO Y AUTOMATIZACIÓN DEL SISTEMA DE CAPTURA Y ALMACENAMIENTO DE DATOS

Se diseñaron los sensores de presión intermembranal al igual que la interfaz de operación de cada uno con el programa LabVEW. Una vez configurados los circuitos se procedió a ensamblar y armar los sensores de temperatura con un transistor y el de presión con un sensor con

un rango de 0 a 0.5 bar para monitorear las condiciones intermembranales y hacer determinaciones de flujo, presión, gastos y resistencia del módulo de membranas.

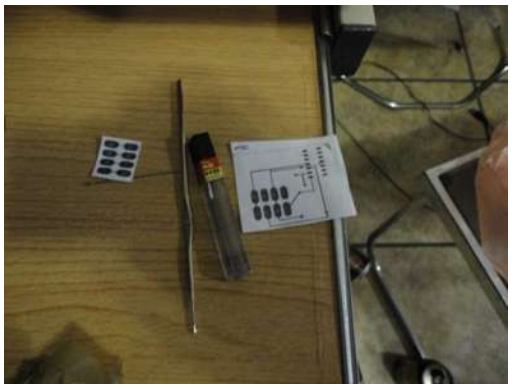


FIGURA 21 Diagrama de circuito para el sensor de presión y del sensor de temperatura.

FIGURA 22 Revelado del circuito con cloruro férrico.

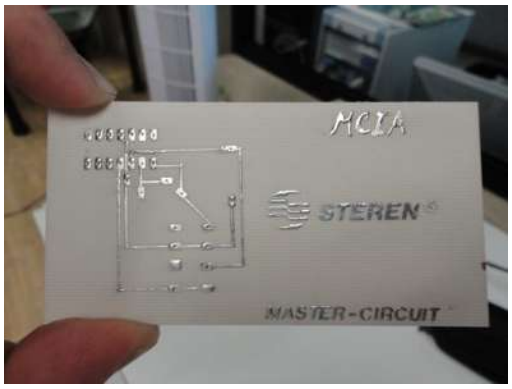


FIGURA 23 Circuito estañado para mejorar la conducción.

FIGURA 24 Medidor de presión conectado a la tableta digitalizadora, con una TEE de precisión, para altas presiones.

Una vez terminado el circuito se montó y se conectó a una tableta digitalizadora para poder procesar los datos emitidos por los sensores. Previo a ello se configuro y se protegieron los sensores para que no les entrara agua del reactor y evitar fallas en la tableta.

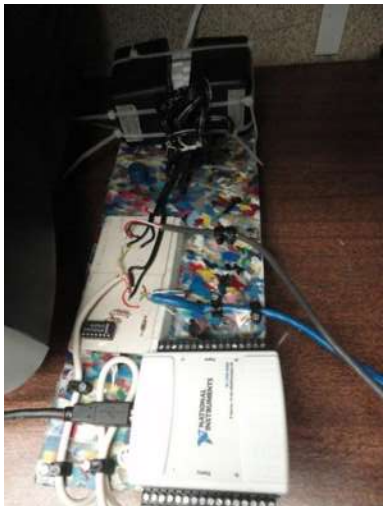


FIGURA 25 Obtención de J crítico.

FIGURA 26 Circuitos integrados conectados una tableta National Instruments.

El sensor de presión se conectó con una manguera cristal de 4 mm de diámetro, con los bombas peristálticas se conectaron en paralelo para obtener el flujo crítico (J). En paralelo se trabajó en la automatización del los micro-sensores con la creación de una interfaz dinámica programada con el LabView. Cabe resaltar que la calibración del micro sensor se realizó mediante el mismo programa en el cual se buscó la relación electro voltaica con la presión que media de fabrica para igualarla a 1 atm. De este modo evaluamos la presión como un valor restrictivo del funcionamiento de las membranas en cuanto a su ensuciamiento. En este tenor se estuvo muy al pendiente que la disminución de la presión no fuera más de 0.5 bar, lo que nos estaría indicando la limpieza química del modulo para su posterior puesta en operación.

FIGURA 27 BRM y equipos conectados.

FIGURA 28 Interfaz de los sensores de presión y temperatura.

3.4. Técnicas a emplear en el análisis de la actividad bacteriana en los BRM

Posterior a la puesta de operación del BRM con el inoculo de lodos activados provenientes de la zanja de oxidación de la PTAR de Las Garzas; de Pátzcuaro Michoacán se comenzó a montar la técnica para el análisis de la actividad bacteriana por medio de la *Fluorescent in situ hibridization* (FISH) es una técnica citométrica (conteo de bacterias) la cual se puede emplear para detectar y localizar la presencia o ausencia del DNA en los cromosomas; actividad bacteriana en base a la actividad enzimática de las bacterias o RNA.

- Para desarrollarla se emplea la microscopía fluorescente
- Elección de un tipo de fluoroforo (Marcadores DAPI y CTC) y determinación de rango de luz visible

3.4.1. Determinación de la actividad bioquímica en el BRM

La aplicabilidad de la fluorescencia se enfoca en el conteo rápido y directo de la evaluación de la viabilidad y la actividad de los lodos tomados de las plantas de tratamiento de aguas residuales. (Ziglio et al., 2002). Esta viabilidad y actividad de la biomasa está estimada respectivamente en función de la integridad de la membrana.

Se ha desarrollado una técnica que permite disgregar el lodo de tal manera que permite recuperar las bacterias en bien estado sin dañar a la membrana. Estas mediciones nos sirven para medir los dos parámetros esenciales para definir la actividad biológica del proceso de lodos: el decaimiento endógeno y el crecimiento bacteriano en condiciones de alta carga orgánica F/M > 1. Algunos autores proponen procedimientos simples para la estimación de la actividad de la biomasa por medio de una directa correlación con el número de células activas presentes en la biomasa.

Oxygen uptake rate (OUR), Kappeler y Gujer proponen este método para la determinación de la actividad de la porción heterotrófica de la biomasa y se utilizan los términos viabilidad y actividad bacteriana como indicadores de la célula que muestran la integridad de la membrana y la actividad metabólica respectivamente. Por otra parte la fluorescencia o tinción fluorescente es frecuentemente empleado como una herramienta de análisis de la morfología y funciones de la célula e.i. (i) detección de la integridad de la membrana empleando marcadores de retención o marcadores de elisión de fluorescencia por medio de marcadores DAPI, PI etc. (ii)

actividad bacteriana empleando sales como CTC o INT. (Kaprelyants y Kell, 1993). (iii) actividad enzimática (Diaper y Edwards, 1994).

3.4.2. Conteo de células totales y activas

La población bacteriana (células totales y activas) presente en el reactor piloto se determinarán el método, que han empleado algunos autores, propuesto por Griebe et al. (Griebe et al., 1997) que se basa en el uso combinado de dos fluorocromos: 5-cyano-2-3-ditolyltetrazolium chloride, conocido como (CTC), para la determinación de los microorganismos activos y 4,6-diamido-2-phenylindole (DAPI) para la determinación de microorganismos totales (Coello et al., 2003). Este método se aplicará incubando durante 2 horas muestras de lodos activados de 100 ml, extraídas del BMR, con 4mM del fluorocromo CTC, en condiciones de ausencia de luz y a una temperatura de 20 ºC. Los controles se prepararán a partir de las muestras incubadas, previamente inactivadas con formaldehido a una concentración final 2%. Para asegurar que el conteo de células sea representativo, se homogenizará la muestra previo a realizar la microscopía. Las muestras deben primero ser dispersadas, disgregando el floculo mediante una prueba de sonificación, que consiste en poner en un baño ultrasónico las muestras en un recipiente a 1 cm de profundidad durante 2 min y a 40W de potencia. Bajo estas condiciones de dispersión la respiración bacteriana no se verá afectada (Shaby S. et al., 1997). Después de la incubación la muestra se teñirá con DAPI-lac con una dilución (10 μg/ml) para la determinación total de las células, es decir, se teñirá el material del DNA pese a que las bacterias están vivas o muertas. La muestra según algunos autores se filtra con un filtro de membrana negro de policarbonato de 2 μm de tamaño de poro y se dará comienzo al conteo mediante la microscopía de epifluorescencia (Coello et al., 2003). Mientras que Chen et al. Según en sus estudios realizados hacia el 2003 indica que se puede aplicar la microscopía de epifluorescencia después de la dilución con las sales de DAPI.

3.4.3. Microscopía de epifluorescencia

La tinción del DNA y detección de la actividad bacteriana empleando DAPI y CTC con dos fluorocromos que pueden ser detectados con luz UV, que existan a diferentes longitudes de onda corta, alta frecuencia y energía; de 330–385nm y 450–515 nm respectivamente. (C. Zeiss México, 2010). En DAPI (fluorescencia en azul), los conteos se deberán hacer en diferentes

campos para garantizar la veracidad del conteo. Y los resultados deberán ser expresados en células/ml ó en células/g SSLM si se conoce la concentración de SSLM. Para CTC (fluorescencia en rojo), se formarán gránulos producto de la respiración celular, con lo que se hará el conteo, con varios campos y también los resultados deberán ser expresados en células/ml ó en células/g SSLM si se conoce la concentración de SSLM (Chen et al., 2003). La examinación y conteo de las partículas deberán hacerse por triplicado (G. Schaule, 1993).

- **ACTIVIDAD BACTERIANA**

La actividad de la deshidrogenasa es determinada directamente de la microscopía de epifluorescencia (T. Griebe, 1997). La adición de nutrientes no permite un incremento en el 5-Cyano-2,3-ditolyltetrazolium cloride (CTC), de las células activas (T. Griebe, 1997). El almacenamiento de las muestras en condiciones de baja temperatura o aireación insíden en una significante disminución en la actividad de la deshidrogenasa en un tiempo de 30 minutos (T. Griebe, 1997). Este método es los sufiecientemente rápido y sensitivo, idóneo para la detección y enumeración de microorganismos metabólicamente activos en los lodos activados (T. Griebe, 1997). La actividad extracelular redox es medida con la sal, 3'-{1-[phenylamino-) carbonyl]-3,4-tetrazolium}-bis(4-methoxy-6-nitro)benzene-sulfonic acid hydrate (XTT). La cual redice remanentes solubles en este estado, después de la extracción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS) con una resina de intercambio cationico.

3.5. PROTOCOLO EXPERIMENTAL

En un análisis del experimento se determinaron que las variables de operación serían: pH, temperatura, conductividad, (DQO) Demanda Química de Oxígeno total y soluble, sólidos suspendidos volátiles (SSV), sólidos suspendidos totales (SST), tiempo de retención hidráulica (TRH), tiempo de retención celular (TRC), concentración de oxígeno disuelto (OD), carga orgánica (C.O.), tamaño de poro, relación de proporcionalidad de nutrientes, OUR, tipo de sustrato, SSV iniciales y J dinámico en las distintas etapas del sistema BRM a la par de la epifluorecencia. Apuntando a tener como respuesta actividad bacteriana para hacer un recalculo de las $CO_{aparentes}$ y obtener CO_{reales}. (Figura 29 y 30)

3.5.1. Diagrama de espina

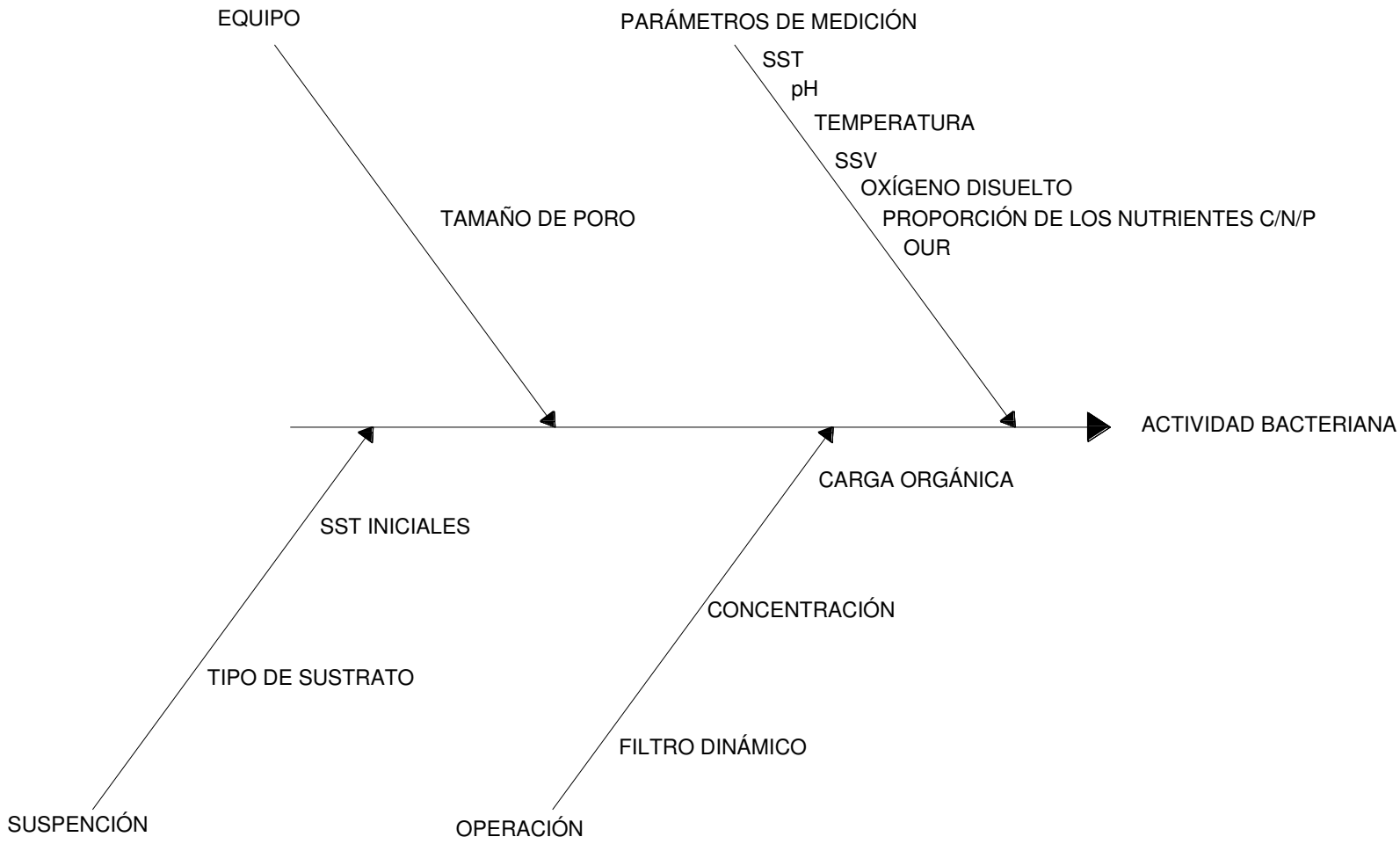


FIGURA 29 Variables de operación que se presentan para definir la actividad bacteriana.

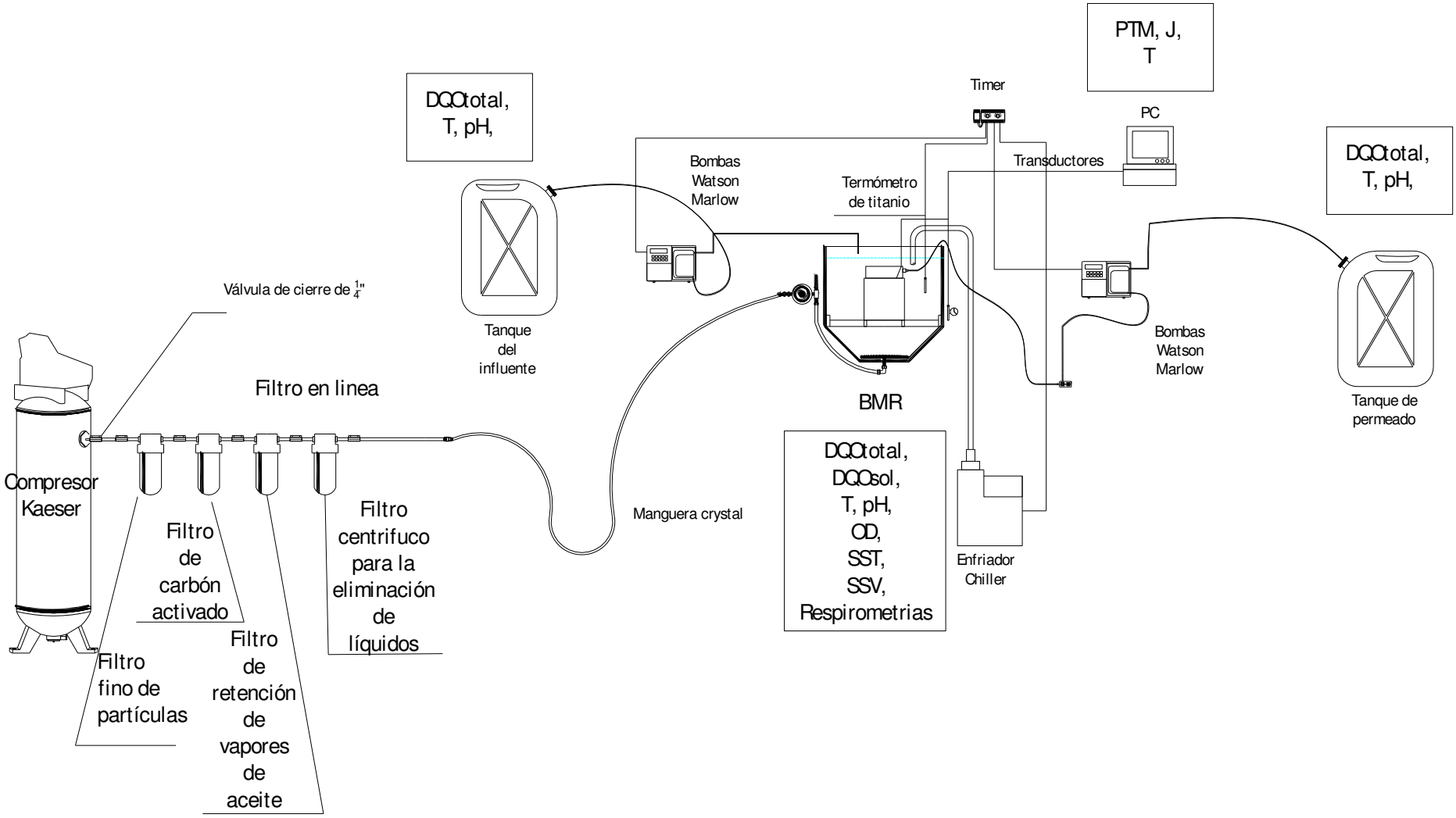


FIGURA 30 Diagrama de conexión y variables de medición en cada etapa del reactor.

3.5.2. Condiciones iniciales de operación del BRM

La suspensión biológica que fue tomada de la zanja de oxidación de la PTAR, fue analizada teniendo como resultados los datos presentados en la Tabla 5.

TABLA 5 Condiciones iniciales de la suspensión biológica.

DQOtotal (mg/l)	DQOsol (mg/l)	SSV (mg/l)	SSV/SST (mg_{SSV}/mg_{SST})	SOUR ($mg_{O2}/mg_{SSV}.l$)
3105	172	2570	0.81	0.12

- **CARACTERÍSTICAS DEL SUSTRATO**

La utilización de un sustrato sintético facilita la cuantificación de las cinéticas de reacción, lo cual permite trabajar en condiciones más precisas y reproductibles. En nuestro caso el BRM fue alimentado continuamente a carga orgánica volumétrica ($CO_{volumétrica}$) de 0.8 kg_{DQO}/kg_{SSV}, con un sustrato orgánico sintético, soluble y fácilmente biodegradable, usando ácido acético ($C_2H_4O_2$) como fuente de carbono, nitrato de amonio (NH_4NO_3) y fosfato de amonio ($NH_4H_2PO_4$) (previamente neutralizado con hidróxido de sodio (NaOH)). Los nutrientes fueron proporcionados con una relación C/N/P = 150/15/1, con el objeto de garantizar el aporte necesario para la actividad biológica.

- **CONDICIONES FÍSICO-QUÍMICAS**

El BRM trabaja en condiciones aeróbicas a 20°C ± 1°C, El pH en el reactor se mantuvo estable a 7.5 ±0.5 por medio de la adición de acido sulfúrico (H_2SO_4) e hidróxido de sodio (NaOH).

Los experimentos se llevaron a cabo sin limitaciones de oxígeno, con una concentración mínima de oxígeno disuelto en el reactor mayor de 2 mg_{O2}/l.

➢ PROTOCOLO DE MUESTREO DEL BRM

En la Tabla 6 se presenta el plan de muestreo que se seguirá a lo largo de la experimentación indicando la frecuencia y los parámetros analizados.

TABLA 6 Protocolo de muestreo del BRM.

Muestras para analizar los siguientes parámetros	Influente y Efluente	Muestras semanales	Membranas planas	Muestras semanales	BRM	Frecuencia de medición
Temperatura			✓	1 x mín, 7días	✓	1 x día; 2 x semana
Presión intermembranal			✓	1 x mín 7 días		
pH	✓	1 x día; 2 x semana			✓	1 x día; 2 x semana
Oxígeno Disuelto					✓	1 x día; 2 x semana
DQO_{total}	✓	1 x día; 2 x semana			✓	1 x día; 2 x semana
$DQO_{soluble}$					✓	1 x día; 2 x semana
SST					✓	1 x día; 2 x semana
SSV					✓	1 x día; 2 x semana
SSF					✓	1 x día; 2 x semana
Microscopía de epifluorescencia					✓	1 x día; 2 x semana

3.5.3. REACTOR BATCH

Se diseño de forma cilíndrica, con acrílico transparente de 4 mm de espesor (Figura 31), el volumen del reactor, fue de 1 L, en la parte inferior esta sellado perfectamente y en la parte superior una tapa la cual sella herméticamente. Cuenta con dos orificios: uno que permiten la introducción de manguera para adición de aire, esto para mantener una

concentración mínima de 2 mgO2/L, y otro para la inserción de sonda para medición de pH, T y OD.

FIGURA 31 Reactores tipo batch de 1 l.

3.5.4. Condiciones de operación

- **Característica de la biomasa empleada como inóculo en *batch***

La suspensión biológica fue tomada del BRM, en la Tabla 7 se describen las condiciones iniciales para cada corrida experimental.

TABLA 7 Características iniciales de la biomasa en los *batch*.

Tiempo de operación (d)	$S/X_{teórica}$ (mg_{DQO}/mg_{SSV})	So (mg_{DQO}/l)	Xo (mg_{SSV}/l)	SOUR (mg_{DQO}/mg_{SSV})
0	0.2	172	2570	0.07
30	0.2	117	3360	0.04
60	0.2	370	3250	0.11
93	0.2	72	3060	0.02

- **Características del sustrato**

Se adicionó un sustrato orgánico sintético, soluble y fácilmente biodegradable, usando $C_2H_4O_2$, NH_4NO_3 y $NH_4H_2PO_4$ (previamente neutralizado con hidróxido de sodio (NaOH). Se adicionaron 10 mg/l de N-Allylthiourea con objeto de inhibir la nitrificación (Wood et al., 1981). Los nutrientes fueron proporcionados con una relación C/N/P = 150/15/1, a dos diferentes relaciones S/X, para CO baja s/x=0.2

- **Condiciones físico-químicas**

El *batch* trabaja en condiciones aeróbicas, el pH se mantuvo estable a 7.5 ±0.5 (Figura 3.9), por medio de la adición de acido sulfúrico (H_2SO_4) e hidróxido de sodio (NaOH).

Los experimentos se llevaron a cabo sin limitaciones de oxígeno, con una concentración mínima de oxígeno disuelto en el reactor mayor de 2 mg_{O2}/l.

- **Frecuencia de muestreo y variables de operación**

El programa de muestreo que se siguió para evaluar los *batch* se presenta en la Tabla 8

TABLA 8 Protocolo de muestreo para *batch*.

CO de trabajo	Parámetros	Frecuencia de muestreo y análisis	Corrida experimental
Baja (So/Xo<1)	pH, T, OD, DQOtotal, DQOsol, SST, SSV, Respirometrías	Cada h fase exógena, Cada 2 horas fase endógena	6 horas

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se presentan los resultados que se obtuvieron a lo largo de las corridas experimentales y encontraremos que abarca resultados obtenidos en la construcción del sistema, el análisis microbiológico y la evaluación de los dos tipos de sistemas de operación, tanto el BRM como el *batch*.

El objetivo de estudio apunta a un análisis de la evolución de la biomasa en los 90 días de experimentación. Se hace una descripción integral del comportamiento global del BRM, en la evolución de la biomasa en el reactor se contrastan los resultados con los estudios que se realizaron en paralelo cada mes en un reactor *batch* en baja carga orgánica cabe señalar que se toma como inoculo una muestra de lodo cultivado en el BRM.

El análisis se amplía con el estudio de la evolución de la biomasa, mediante la técnica de microscopía y fluorescencia, que se convierte en una radiografía paulatina de la activación bacteriana a lo largo del tiempo de retención celular. Por último se presenta una comparación con un estudio realizado con otro BRM en Francia en la universidad de Montpellier II y otro estudio realizado en la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo un sistema de LAC en el 2007 con la finalidad de analizar la actividad bacteriana en cada sistema.

4.1. EFICIENCIA DE FILTRACIÓN EN EL SISTEMA

Cabe mencionar que un factor fundamental fue lo que se obtuvo como resultado con el armado del transductor de presión que se menciona en el capítulo de los materiales empleados en el proyecto, gracias al buen funcionamiento del dispositivo pudimos tener una evaluación exitosa de la eficiencia global del sistema BRM.

4.1.1. DETERMINACIÓN DEL FLUJO CRÍTICO INTER MEMBRANAL

Como se ha descrito en antecedentes la determinación del flujo crítico inter membrana es importante para determinar el punto de quiebra que tiene el sistema en términos de filtración y por ende de eficiencia del sistema.

Las especificaciones del fabricante indican que el módulo no se debe operar por arriba de los 0.5 bar para no dañar la membrana. En la (Figura 32) se muestra el comportamiento de la PTM, en una prueba que consiste en incrementar el flujo hasta encontrar el gasto máximo de operación en el cual la PTM se vuelve asintótica, es decir que al incrementar la presión el

flujo ya no cambia y se presenta un incremento en la presión de manera exponencial hasta el punto de dañar el módulo.

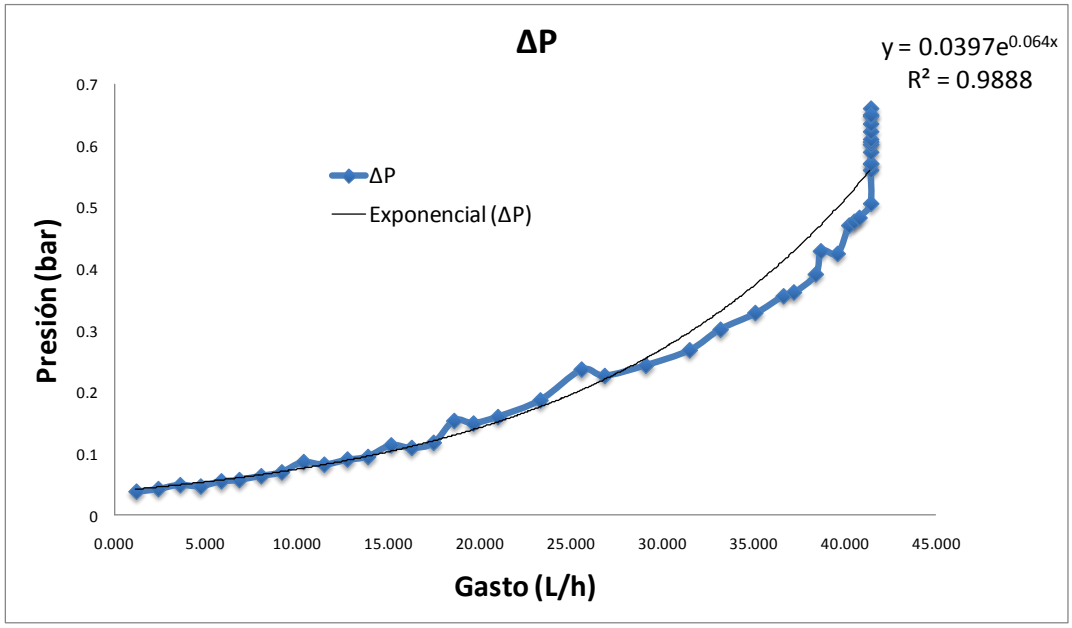


FIGURA 32 Se presenta el gasto máximo de 41.4 l/h a una PTM de 0.5 bar.

Uno de los principios de funcionamiento de las membranas nos habla de que el J crítico es directamente proporcional a la PTM, por lo que por medio de esta prueba determinamos el flujo crítico de las membranas al alcanzar los 0.5 bar de presión, que es de 207 $l/h \cdot m^2$ punto en el que se la grafica crese de manera asintótica como se muestra en la (Figura 33), lo que es equivalente al Q = 41.4 l/h cuando podemos observar una diferencia de presión de 0.5 bar. Lo anterior es de gran importancia ya que podemos inferir el punto de colmatación de la membrana como un parámetro de operación del sistema. Cabe resaltar que las pruebas de permeado se hicieron con agua potable antes de arrancar con la corrida experimental para poder calcular la resistencia de la membrana limpia (R_m).

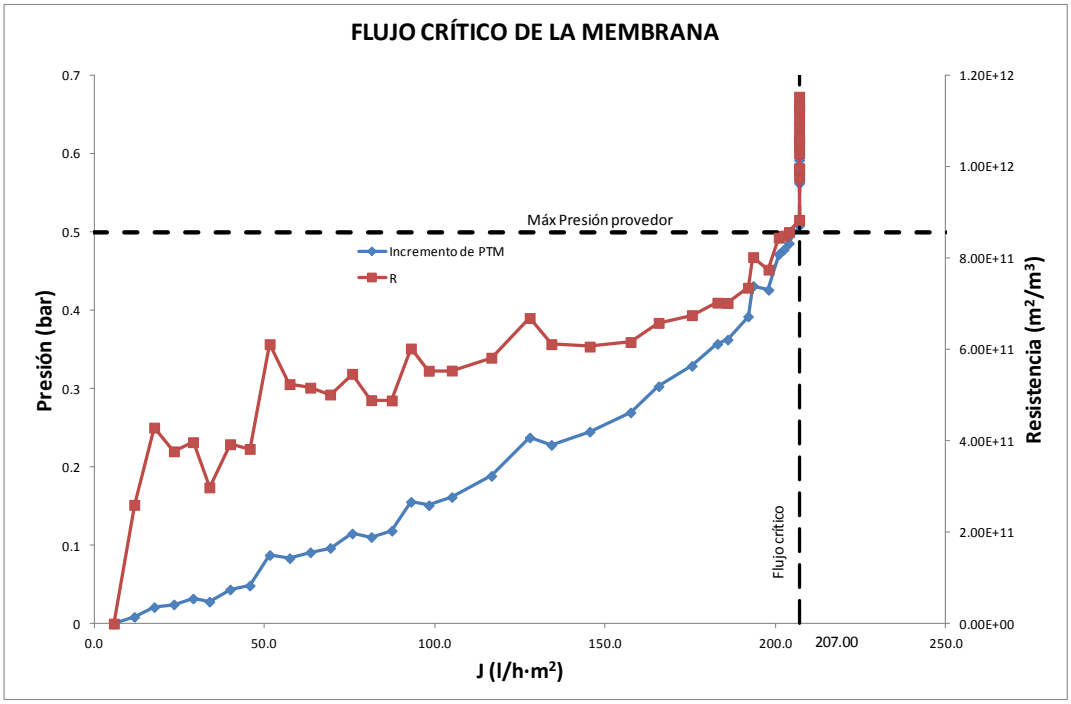


FIGURA 33 Determinación de J critico a una presión de 0.5 bar a una R = $1x10^{12}$ m^2/m^3.

Con estos parámetros de operación se observó un incremento paulatino de la R con el incremento de la PTM hasta llegar a una resistencia final registrada de R = 1.3 x 10^{12} m^2/m^3.

4.1.2. FLUJO OPERACIONAL DE LA MEMBRANA

Posterior al lavado químico inicial de la activación del módulo de la membrana del BRM, nos avocamos a determinar el flujo de operación del módulo de membranas en base a la determinación del J crítico y a la literatura, para poder encontrar un J sub-crítico que nos permitiera tener un sistema de lodos, en condición de prácticamente escases de alimento (Coello *et al.*, 2003).

Se determino operar con un $J_{sub\text{-}crítico}$ = 4.6 l/h·m^2 que corresponde a un Q = 0.92 l/h esto nos ubica en un panorama científico experimental a estar trabajando con un sistema a escala piloto (Tabla 9). Esta condición de operación resultó de sobre manera benéfica para el experimento, pues no es posible que se presente una saturación en la membrana con un flujo tan inferior al J crítico (Ognier *et al.*, 2004), en un periodo de operación tan corto (90 días). Además de una producción de SST del orden de los 4.1 g/l, cuarenta veces menor de lo que se presentan en sistemas a escala real pero lo suficientemente representativo para determinar tanto la actividad bacteriana como las velocidades de activación de la fracción activa de la suspensión biológica.

TABLA 9 Flujos de permeado en sistemas BRM a escala real y escala piloto (Stephenson et al., 2000).

Fabricante	*Tipo*	*MEMBRANA*	*Flujo de permeado (l/h·m^2)*
Este estudio (México)	*BRMs*	*Plana*	*4.6*
Kubota (Japón)	*BRMs*	*Plana*	*25*
Zenon (Canada)	*BRMs*	*Fibra hueca*	*30*
Orelis (Japón)	*BRMe*	*Plana*	*100*
USF (Australia)	*BRMe*	*Tubular*	*40*
Wehrle Werk (Alemania)	*BRMe*	*Tubular*	*100*

Cabe resaltar que este flujo también resultó benéfico en el sentido de la periodicidad de lavados químicos para la limpieza de las membranas, es decir, que al tener menos lavados del módulo por efectos de saturación de materia, se evitaron las alteraciones de las condiciones de flujo, físico químicas y mecánicas durante el periodo experimental lo cual es muy importante para la evaluación de la continuidad del sistema.

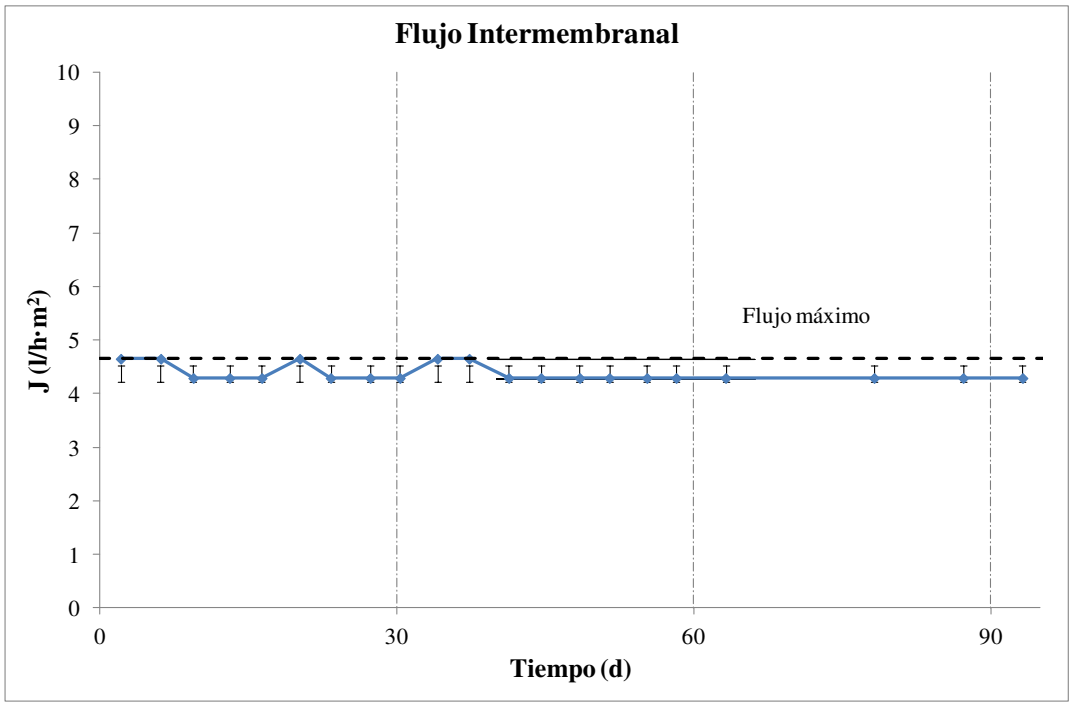


FIGURA 34 Flujo inter membranal en un módulo de membranas planas de **Difluoruro de polivinildeno.**

El $J_{sub\text{-}crítico}$ de operación fue de 4.6 l/h·m2 este fue continuo y se mantuvo muy por debajo del $J_{crítico}$ = 207.0 l/h·m2, esta condición de operación en realidad resulta benéfica para evitar la colmatación del módulo de membranas ya que algunos investigadores e incluso en este experimento podremos apreciar que a menor J tenemos una PTM baja lo que nos indica que no tenemos colmatación de las membranas en este punto.

El BRM es un sistema en continuo a $CO_{volumétrica}$ y flujo constante tanto en el influente como en el permeado. Pese a lo anterior en la Figura 3 se puede apreciar una variación despreciable de un J = 0.35 l/h·m^2, esta variación y disminución al final de la prueba se debe a la operación de las bombas peristálticas con las que se controlaron los gastos tanto de influente de sustrato como efluente de permeado, cabe señalar que lo anterior fue para mantener el volumen de operación constante a 70 l, lo que se logró al final de la partida.

4.1.3. RESISTENCIA Y PRESIÓN TRANSMEMBRANAL

De acuerdo a la ecuación de Darcy del comportamiento de filtración de las membranas descrita por la ecuación del flujo en el medio poroso; demuestra que la R es directamente proporcional a la PTM. El la Figura 4 se aprecia la proporcionalidad en el incremento entre la PTM y la R, de acuerdo a lo que se presenta en la Figura 3, el J se presenta prácticamente constante este control en la variable trae como resultado un incremento en la PTM proporcional al incremento de la R total a lo largo de los 90 días de operación del BRM.

Tal y como se registran la mayoría de las variables respuesta en el BRM, tanto la PTM como la R total, registran un comportamiento cíclico, con una ligera tendencia al crecimiento. La R máxima registrada fue de 4.89 x 10^{12} a una PTM = 0.058 bar al día 78 de operación del BRM. Esto nos sugiere un incremento de las Rp y Rc, por obstrucción al poro y ensuciamiento de la membrana respectivamente.

Pese a las variaciones en la R esta se mantiene constante prácticamente durante los 90 días, lo que nos indica que se mantiene muy por debajo de la máxima PTM que indica el fabricante por lo que las condiciones de filtración se encuentran en la fase uno descrita por Ognier *et al*., (2004) de la evolución de la presión, en la cual esta evolución se reporta inferior a 0.05 kPa/h para membranas planas de PVDF (Yu et al., 2003; Cho y Fane, 2002) y en la cual la acción del filtro dinámico (Orantes et al., 2006) es preponderante.

Durante esta etapa, las macromoléculas y partículas en suspensión que se aproximan por el flujo convectivo a los sólidos acumulados sobre la membrana y que constituyen un filtro

dinámico, se degradan por la acción biológica de los microorganismos acumulados. Esta condición, en conjunto con el flujo membranal sub-crítico y las características hidrofóbicas de la membrana permitieron que el BRM se pudiera operar durante largo tiempo (i.e. más de las 500 h reportadas por Ognier et al., (2004) para la fase uno), sin que hubiera una colmatación de las mismas, como lo muestra la (Figura 35) en la cual se observa que la presión y la resistencia se mantuvieron sin cambio significativo desde el inicio de la corrida experimental con una PTM de 0.3 a 0.4 bar y una resistencia de $4.89x10^{12}$ m^2/m^3.

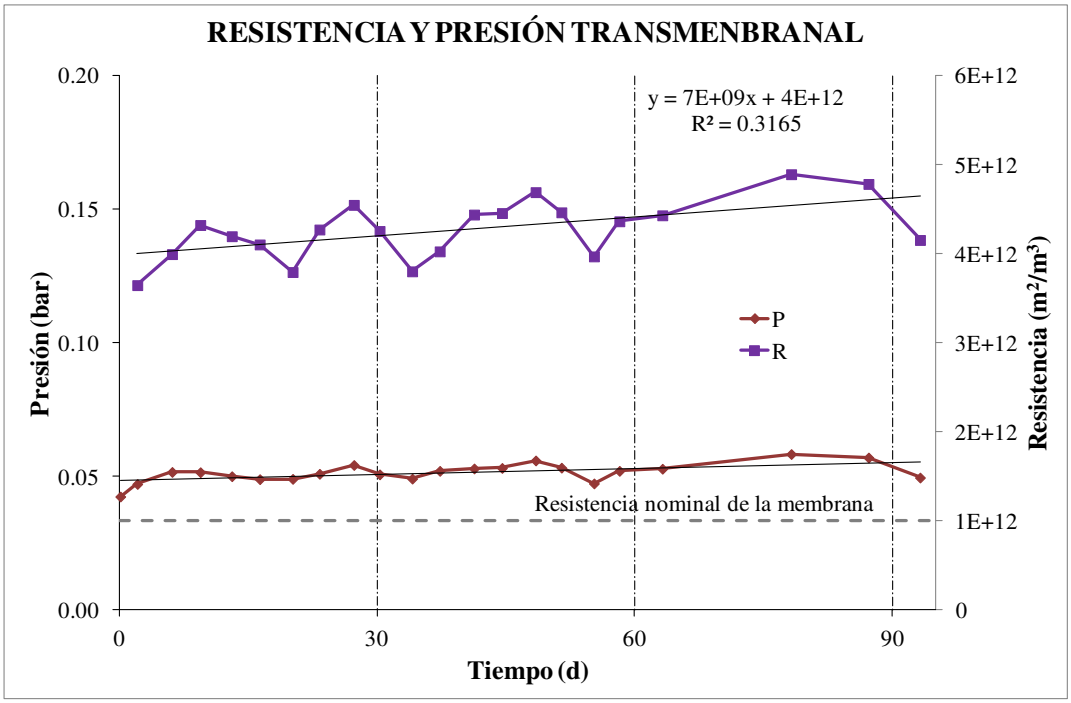


FIGURA 35 Gráfica comparativa de la presión en (bar) y la resistencia (m^2/m^3) a lo largo del periodo experimental.

Este comportamiento nos sugiere que de seguir operando el reactor esperamos observar las dos fases descritas por (Ognier *et al.*, 2004), sin embargo hasta los 90 días de operación sólo se aprecia estar en la primera fase donde hay un incremento débil en la PTM por lo que la resistencia se mantiene fluctuando entre los 0.03 y 0.04 bar, e inversamente la R se mantendrá entre 3E+12 y 4E+12 de forma continua hasta que se presente la segunda fase con un incremento repentino de la PTM un $J_{crítico}$ y una disminución en la R debido principalmente a los términos de resistencia son todos función del tiempo y todos están relacionados de manera compleja con las características hidrodinámicas del BRM, del sistema del módulo de membranas empleado y de la calidad del agua que empleamos como sustrato

(AWWA, 1998). Es por esto que la resistencia de la membrana puede cambiar de comportamiento debido al tipo de ensuciamiento.

En este estudio tenemos un sustrato totalmente soluble y biodegradable a base de acetato esto aunado a la configuración del reactor con el dispositivo de aireación (fuerzas de cizallamiento sobre la torta formada en la pared de la membrana), y la composición molecular de las membranas de (PVDF) ya que se genera un rechazo de materiales por la membrana este rechazo es unversamente proporcional al peso molecular de las especies rechazadas (Wiesner M. 1998). Podemos inferir que por el comportamiento de las gráficas (Figura 5), que se presentará un tiempo más prologados de operación antes de que se presente un incremento de la R al flujo.

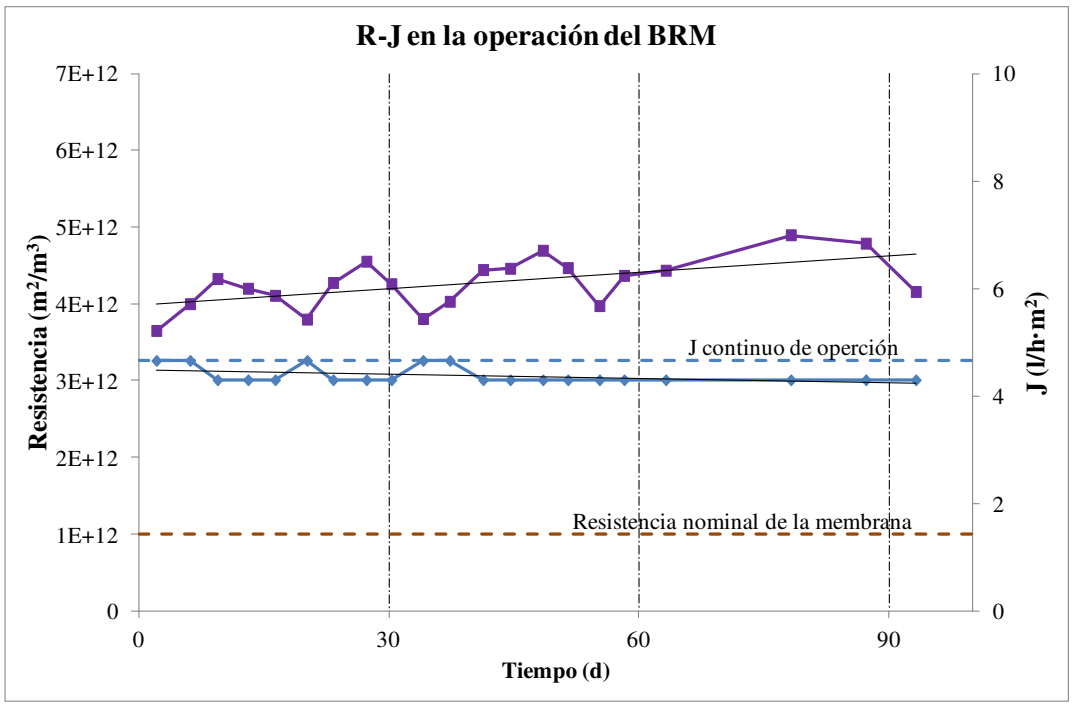


FIGURA 36 R (m^2/m^3) y el J ($l/h \cdot m^2$) contra el tiempo para evaluar los efectos del J en la Rt.

En la (Figura 36) podemos ver que en los primeros 40 días de operación podríamos inferir una variación en la R correspondiente al principio de Darcy, que nos dice que debe de existir una correspondencia inversamente proporcional al comportamiento del J, pero a partir del día 41 al 90 de operación se presenta incremento ligero en la R; también se presenta un pico que no excede la mínima R de operación en el día 55 de operación del BRM lo que nos indica que pese a la relación implícita del J y R hay parámetros que nos pueden ayudar a correlacionar mejor los efectos en la Rt.

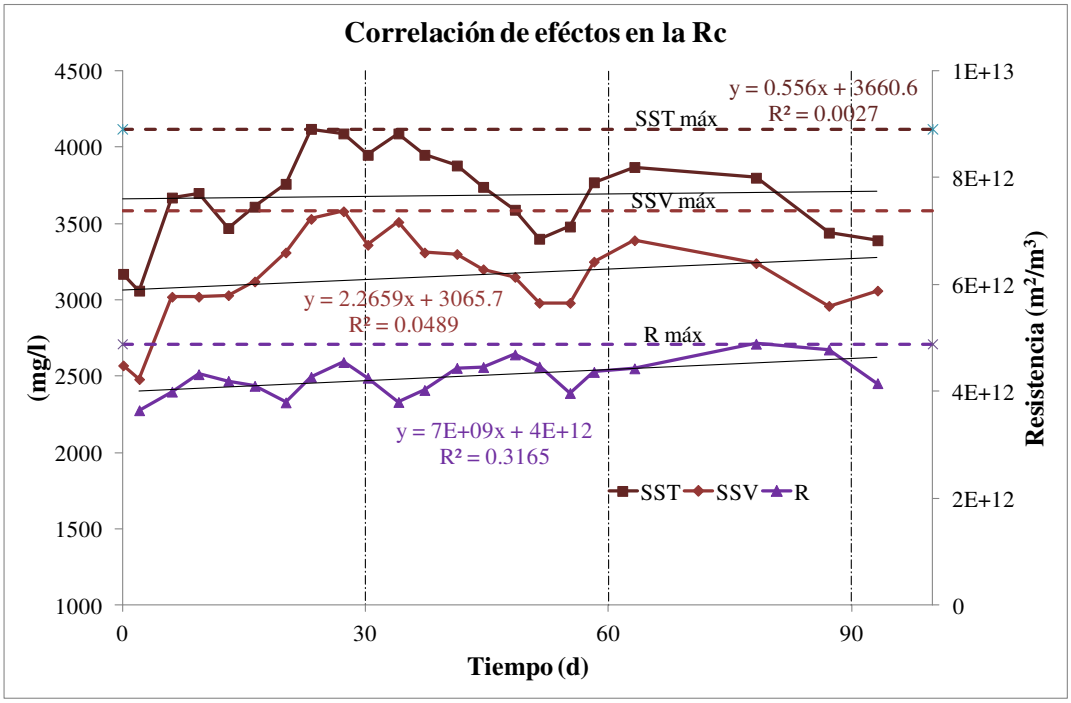


FIGURA 37 Efectos de los SST y SSV en la resistencia por acumulación externa (Rc).

Con la presencia de sólidos en el BRM los materiales se acumulan cerca, sobre y en el interior de la membrana, esto puede reducir la permeabilidad al bloquear los poros y al formar una capa de resistencia adicional al flujo a través de las membranas, en (Figura 37) se presenta un modelo de gradiente de flujo utilizado en el módulo de operación de membranas planas del experimento en el cual nos apoyaremos para explicar que pasa en el módulo. Con un área de membrana instalada, basada en la permeabilidad inicial de estas se podría llegar a producir sólo 1/3 del caudal de diseño inicial después de tan solo las dos horas de haber iniciado el trabajo. Sin embargo pese a la concentración de sólidos la forma que diseñamos el reactor pudo haber ayudado mucho a evitar que se acumulara el material biológico, e incluso lograr en gran medida que se limpiaran las paredes membranales con el efecto de ascensión de las burbujas finas por lo que la variación en el flujo es casi despreciable con respecto a la resistencia al flujo.

Aún con el mejor diseño no se puede evitar la formación de la torta en las paredes de la membrana, lo anterior se aprecia mejor en la (Figura 37), donde se aprecia claramente el efecto de la producción de lodos respecto a la Rc, principalmente por la determinación de SST. Se aprecia que durante los primeros 30 días de operación se alcanza la máxima producción de lodos aumentándose en un 95% pero la R sigue fluctuando en un rango continuo y correspondiente a la cinética de producción de lodos; en los siguientes 30 días a

partir del día 60 de operación, se aprecia una disminución un poco mayor en magnitud al crecimiento que se presentó en el primer mes debido a perdidas de SST y a las características metabólicas de la suspensión biológica, que si bien tiene un comportamiento muy similar al de los SST tuvieron un efecto muy distinto en la R_t, ya que aunque disminuyeron los SST se puede notar claramente en la R que las membranas comienzan su proceso de ensuciamiento por material coloidal, lo anterior sustentado por la gráfica que apunta a un ligero pero constante incremento de la R pese a la crecimiento de la biomasa, sin perder de vista que en global la R sique estando fuertemente influenciada por los SST al final de la corrida experimental.

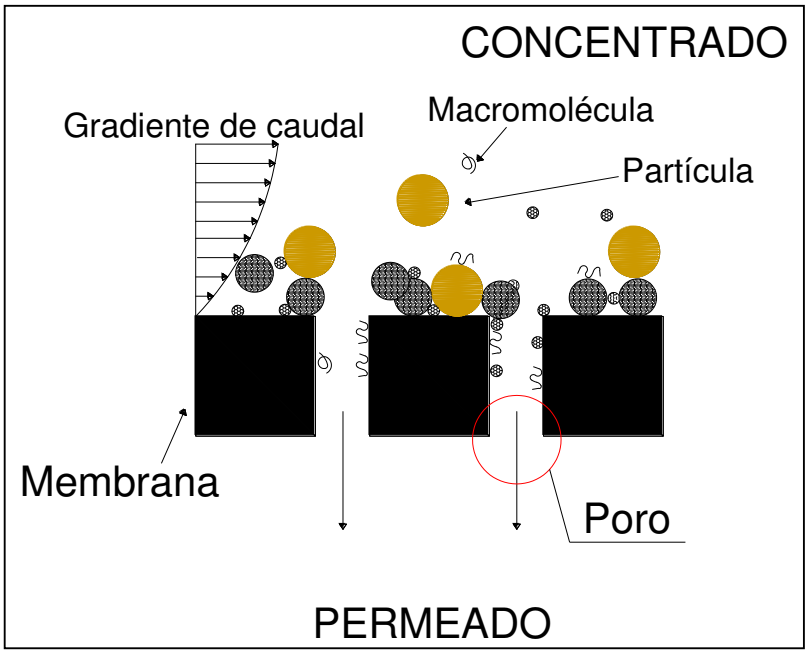


FIGURA 38 Modelo del gradiente velocidades del J. Presencia de materiales coloidales que son lo bastante pequeños para entrar en el poro de la membrana donde pueden depositarse reduciendo aún más la tasa de permeado y aumentar la resistencia al flujo.

El aumento en la R_t al flujo también se presenta por el ensuciamiento a partir de EPS, adheridos a la biomasa.

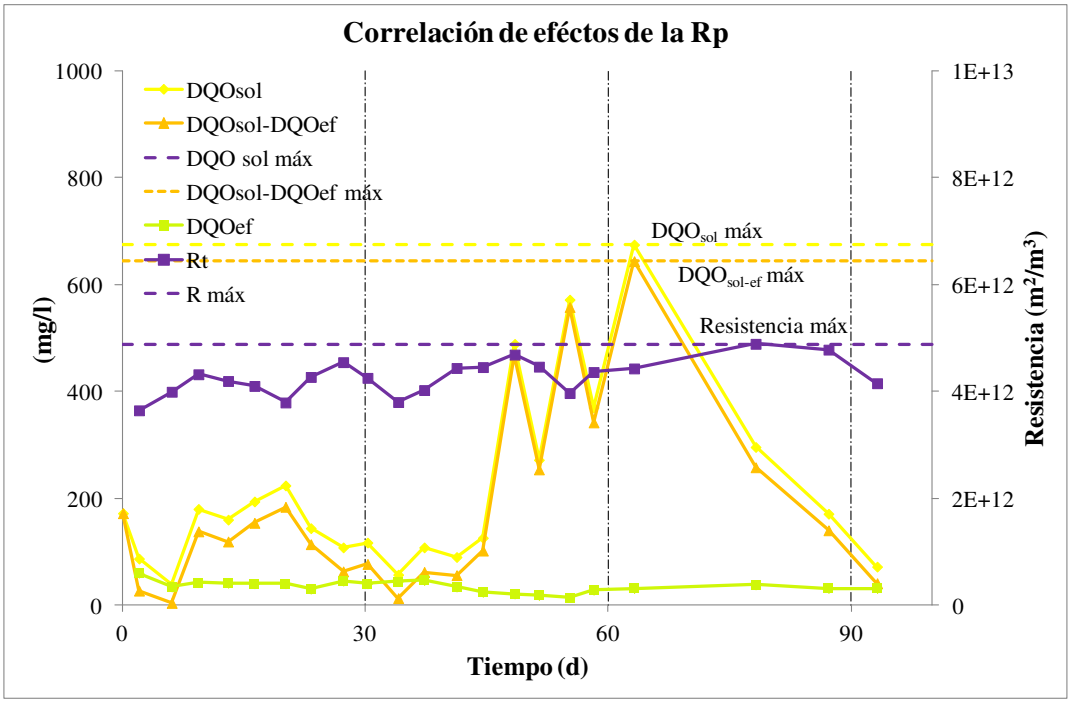


FIGURA 39 Efectos de los DQO_{sol} y EPS en la resistencia por acumulación externa (R_c).

Lo que observamos en esta (Figura 39) es, que el efecto en el aumento de la resistencia por ensuciamiento biológico no son significativos en los primeros 40 días de operación sin embargo de acuerdo al principio de ensuciamiento de la membrana y la pérdida de caudales por la R_c, nos indica que este parámetro tiene un tiempo de respuesta que va en función de el metabolismo microbiano, fenómenos de lisis bacteriana y condiciones de sustrato, por tal motivo si observamos la gráfica de manera global podemos deducir que el crecimiento de la R_t se debe al taponamiento del poro al final de la corrida experimental, sin embargo la aparente disminución al final se entiende por una baja de SST que es el factor predominante en la R_t. Teóricamente la DQO_{sol-ef} representa la formación de sub-productos o excretas microbianas (SMP y EPS), que representarían un efecto directo en la obstrucción al poro de las membranas sin embargo debido a la naturaleza hidrofóbica de las membranas de (PVDF) hace que sus cargas repelen estos subproductos teniendo un menor efecto de subproductos en la R_t, por polarización en el gradiente sobre la membrana. No obstante estudios de Lacoste, Drakidés y Rumeau (1993). Indican que la resistencia hidráulica específica de la torta de filtración, básicamente compuesta de microorganismos, depende parcialmente del estado

superficial de los EPS bacteriana, por tanto es dependiente de los parámetros de entorno como (TRC, carga másica, OD, OUR y CV).

Desde un punto de vista práctico y de acuerdo a lo reportado por otros autores o en este como en otros estudios en los cuales el BRM se opera en condiciones aeróbicas, presentan mínimos efectos de ensuciamiento cuando la biomasa está bien aereada y la concentración de DQO_{sol} en el reactor es baja. Ambos criterios según (Ishii, 1991), se cumplen cuando se mantienen de manera consistente un potencial redox por encima de los 300 mV, y para este estudio este estuvo oscilando entre los 259 y 320 mV.

Por su parte la DQO_{sol} representa la materia orgánica susceptible de ser biodegradada, que se encuentra soluble en el líquido esta concentración representa tan solo el 0.35% de mayor concentración con referencia a la DQO_{sol} como materia disponible de manera soluble.

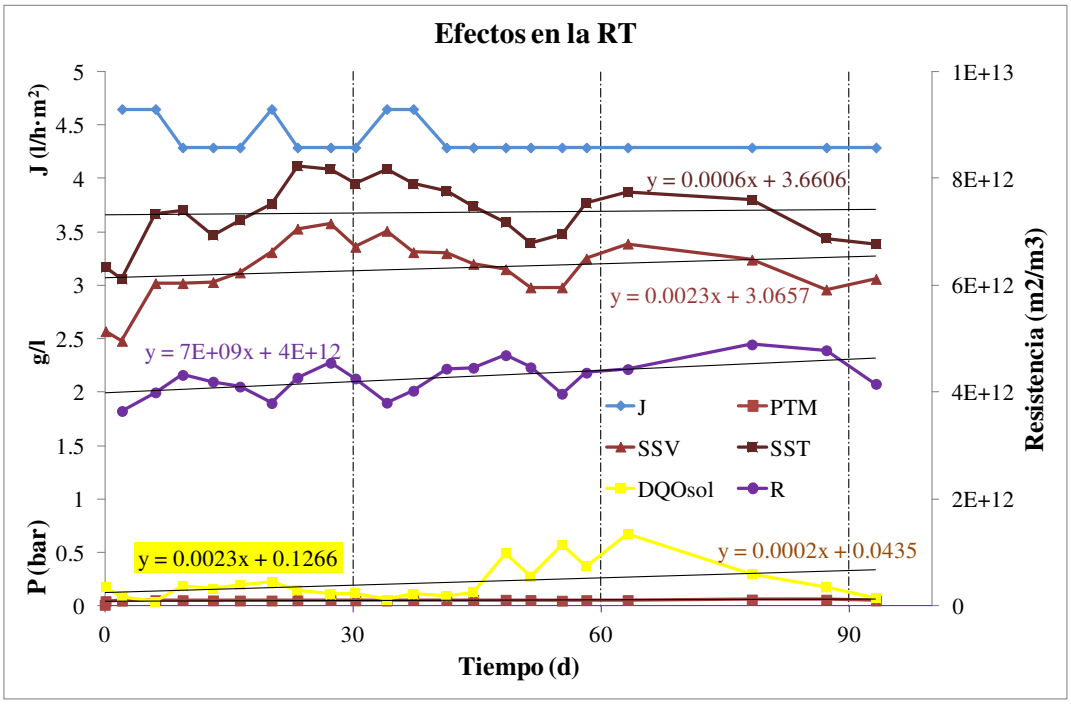


FIGURA 40 Efectos del J, PTM y sólidos en la resistencia total de la membrana.

La (Figura 40) permite hacer un análisis del comportamiento R_t al flujo de la membrana y podríamos evaluar el J_{real} operativo en un punto determinado si añadimos la serie de datos de la R_m y teóricamente podríamos definir parámetros óptimos para la operación de este módulo de membranas.

Se puede evaluar que en realidad el J y PTM se mantienen prácticamente constante, sin embargo en el J existe una pérdida de Q, justo al iniciar a crecer la DQO_{sol} esta pérdida atiende a que empieza a haber un ensuciamiento de las membranas y a que a flujos bajos la PTM se comporta prácticamente proporcional al J. Es imposible saber si este ensuciamiento es irreversible pese a que por la poca variación en el flujo y los límites en la PTM aparentemente no vamos a tener la saturación de la que habla Oliver en su estudio, donde esperaremos un incremento repentino que apunte a una limpieza del módulo. Por lo que concluimos que la R_t se vio influenciada directamente por la retención y SST dentro del reactor.

El BRM sufrió una pérdida de SST al día 55 de operación del orden de 1 g/l esto aunado a que se trato de recuperar estos sólidos para ser vertidos nuevamente en el rector, provocó un incremento sustancial de la DQO_{sol}, mismo que fue amortiguado sobre el final del la Ce a una velocidad de 22.28 ($mg_{DQO}/l \cdot d$), hasta estabilizarse nuevamente. Lo anterior es el elemento clave de la tecnología del BRM en su capacidad de absorber variaciones y fluctuaciones de la carga hidráulica y orgánica del sistema.

4.2. EFICIENCIA DE REMOCIÓN DEL SISTEMA BRM

En el tratamiento de AR las membranas de UF y MF han demostrado en diversos estudios que tienen altos rendimientos de en la remoción de MO debido al TRH y el TRS, por tal motivo este sistema permite un amplio control en la reacciones biológicas, altas eficiencias y flexibilidad de uso entre otras ventajas.

Varios estudios presentan que los BRM presentan altos rendimientos en la remoción de MO (Tabla 10).

TABLA 10 Ejemplos del proceso del rendimiento de los BRM para el tratamiento de aguas urbanas y de un sustrato completamente soluble y degradable a base de Acetato para este estudio.

Influente (mg/l)	*Efluente (mg/l)*	*Membrana*	*Referencia*
DQO	*DQO*		
620	*11*	*MF*	*Manem et al., 1993*
79	*6*	*MF*	*Ishida et al., 1993*
2724	*35*	*MF*	*Este estudio 2012*

En la (Figura 41) se evalúa la eficiencia del sistema con un sustrato conocido, completamente soluble y biodegradable a base de acetato y otras sales descritas en la sección de Materiales y métodos. En general apreciamos que al aumentar la DQO aumenta la eficiencia de remoción.

La (Figura 41) es la base de sistema con lo que a profundidad podemos explicar los principios del funcionamiento de este sistema y los principios que se generan por la mecánica del sistema. De manera que podemos correlacionar la actividad metabólica dentro del sistema con la producción de sub-productos.

Se aprecia que el sistema en general tiene una eficiencia en la remoción del 99% lo que es un porcentaje alto debido principalmente al sistema a base de una separación de fases líquido-sólido. Ahora bien debemos tomar en cuenta que la carga de sólidos es todavía muy baja respecto a la carga de sólidos que figuran en este tipo de reactores; otro factor es que el módulo de membranas está prácticamente nuevo.

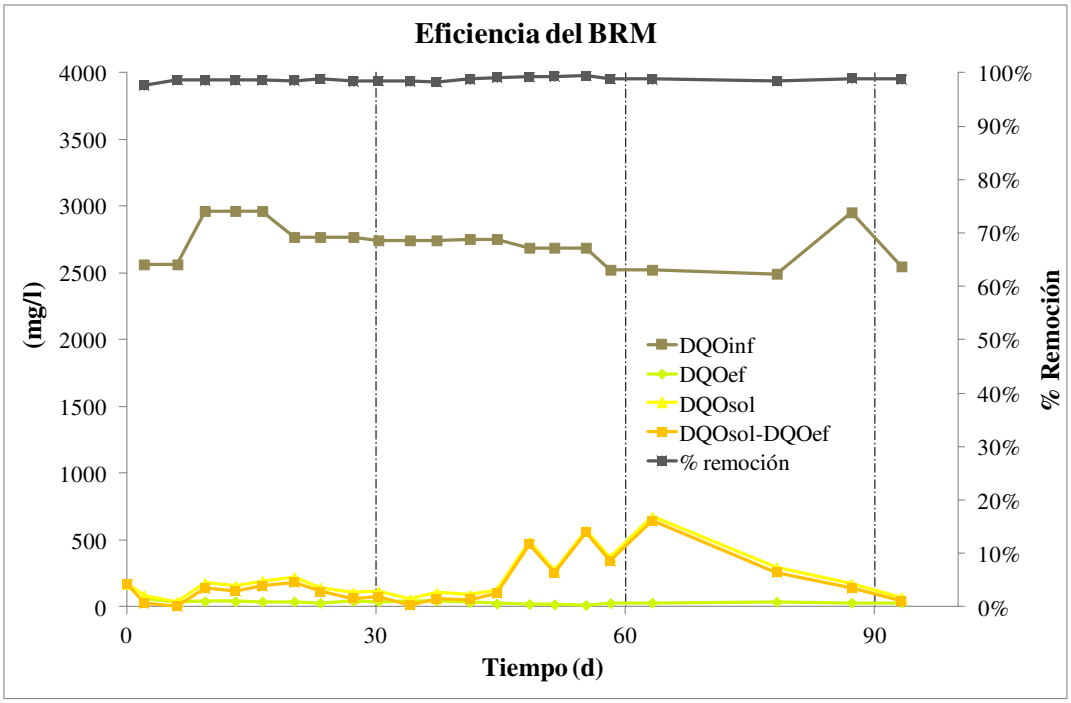


FIGURA 41 Eficiencia global del sistema del 98.6%, en la remoción de MO.

Podemos acertar en decir que la mayor eficiencia se alcanza a los 55 días de operación cuando la DQO tiene un incremento importante debido a una pérdida de SST al día 48 de operación, debido a las condiciones dinámicas del reactor, sin embargo se incorporaron los sólidos perdidos y lo que se está presentando es un aumento debido a el metabolismo, lisis y

crecimientos crípticos a parte de la DQO disponible en el sistema susceptible de ser degradada en ese punto de evaluación. Sin embargo se aprecia que el sistema apunta nuevamente a su estabilización al final de la corrida experimental, tendiendo a bajos niveles de DQO y altos porcentajes de eficiencia en el sistema.

Esta alta eficiencia en el BRM puede estar con las bajas producciones de lodos en el BRM, así como las mayores velocidades de transferencia másica debido a los tamaños de floculo de los lodos (Wisnewski y Grasmick, 1995; Bailey, Hansford y Dold, 1994).

Por otro lado, experimentos previos (Orantes, 2005), han mostrado que el acetato normalmente es completamente oxidado en un reactor biológico operado en estas condiciones (i.e. $CO_{volumétrica}$, condiciones fisicoquímicas, retención total de sólidos), lo cual se explica por las características del sustrato seleccionado (i.e. compuesto orgánico completamente soluble, fácilmente biodegradable, sin limitaciones de nutrientes), por lo que se asume que en este caso el acetato que se utilizó como fuente de carbono en el sustrato, también fue completamente biodegradado, sin embargo los resultados muestran una DQO residual en el efluente (Figura 41). Esta DQO corresponde, por lo tanto, a SMP liberados en el medio, como producto residual de la actividad metabólica de los microorganismos.

También se puede observar que la DQO_{sol} en el reactor es mayor que la DQO del efluente, lo cual implica que en realidad los SMP producidos en el BRM corresponden a las concentraciones de DQO_{sol} y la diferencia entre estas fracciones solubles, globalmente de 45 mg_{DQO}/l, se puede explicar tanto i) por la diferencia en el tamaño de poro de la filtración realizada para determinar la DQO_{sol}, (i.e. 1.2 μm) y el tamaño de poro de las membranas (0.14 μm), lo cual implicaría que la hay una fracción de los SMP compuesta por macromoléculas y supra coloides que es retenida por la membrana de separación, mostrando la relevancia de la presencia de las membranas en la eficiencia de remoción en el BRM, como (ii) por la degradación de estos compuestos, que no se acumulan, por el rol de filtro dinámico que juega la biomasa (i.e biopelícula) sobre la membrana del BRM, esto en congruencia con el comportamiento observado en los resultados de flujo y resistencia membranal discutido previamente en el subcapítulo 4.1.3.

Algunos autores reportan que se han alcanzado eficiencias de remoción de prácticamente 100% de la materia orgánica, medida como DQO, como se puede observar en la Tabla 11.

TABLA 11 Porcentajes de eficiencia reportados en algunos estudios.

Influente (mg_{DQO}/l)	*Efluente (mg_{DQO}/l)*	*Rango de filtración*	*Eficiencia global*
2724	*35*	*MF (Este estudio)*	*98.7%*
2865	*<170*	*MF (Valle et al., 2011)*	*98.6%*
13,514	*5*	*MF (Kim et al., 2005)*	*99.9%*
3650	*<4*	*MF (Molina et al., 2007)*	*99.89%*
350	*7*	*MF (Guo et al., 2008)*	*98%*

No obstante para el tipo de sustrato utilizado, la eficiencia global de degradación del BRM es ligeramente menor que en otros estudios (Tabla 11), esta diferencia podría explicarse por el proceso de adaptación que está sufriendo la biomasa en la transición de LA a las condiciones en las que se está operando el BRM.

Al final de la experimentación se alcanzan eficiencias prácticamente de 99 %, sin embargo sería importante trabajar con periodos experimentales más largos que permitieran estudiar el comportamiento de la biomasa con concentraciones de sólidos en suspensión y TRC constantes.

4.3. SUSPENSIÓN BIOLÓGICA DEL SISTEMA

Tanto en los procesos biológicos convencionales como en los BRM, con biomasa en suspensión, en principio se tiende a favorecer a la formación de floculos de bacterias, y en ambos casos, los organismos se mantienen juntos por una mezcla compleja de EPS (Jordan *et al*., 1995) que impide la difusión del sustrato y por tanto, la velocidad de degradación.

En los procesos biológicos convencionales, la presión en la selección sobre la biomasa en la que se tiende a favorecer a la formación de flóculos bacterianos o biopelículas. Sin embargo en los BRM esta presión de selección disminuye, ya que la acumulación de EPS al floculo es mucho menor hay una mayor transferencia másica y las velocidades de consumo son mayores en un BRM con respecto a los sistemas convencionales. Estos factores más la

baja producción de lodos tal como resultó en este estudio puede ser relacionado con los altos rendimientos específicos como se muestra en varios estudios.

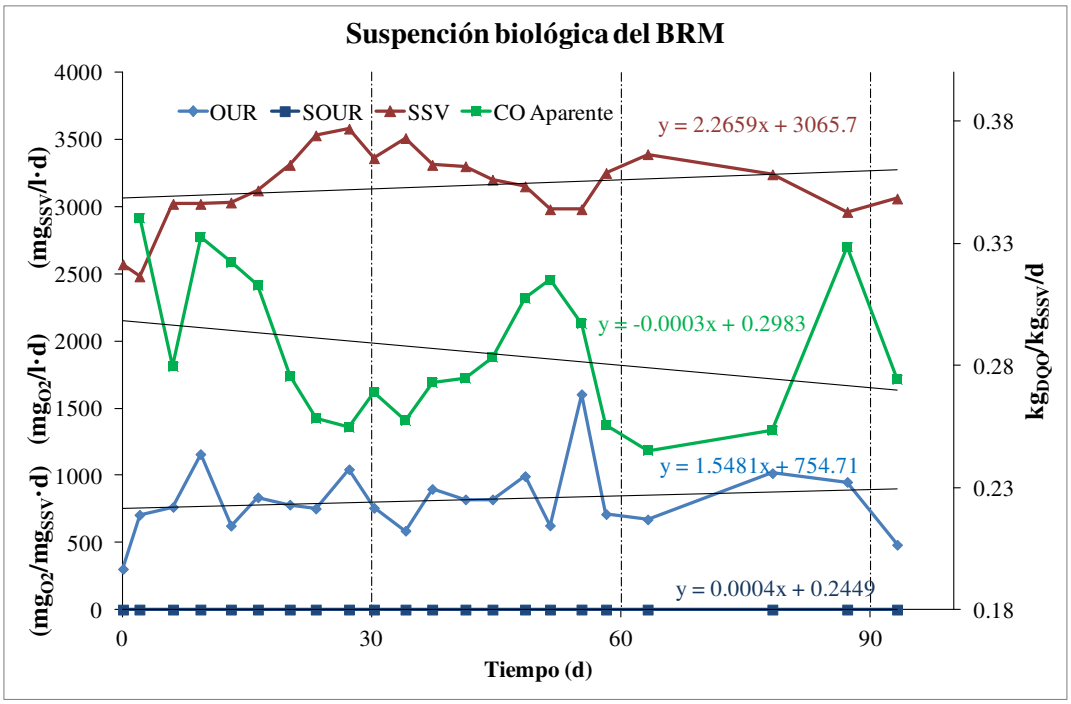


FIGURA 42 Suspención biológica

En la (Figura 42) de la suspensión biológica se marca una tendencia de la velocidad de crecimiento de 2.26 $mg_{SSV}/l \cdot d$ que aunado a disminución en la acumulación de EPS, se favorece la transferencia de masa y a los procesos biológicos termófilos (Magara e Itoh, 1991; Ross *et al*., 1990) para procesos como este con biomasa > 20 g/l a 20ºC (Krauth y Staab, 1994) esta última, una variable de operación controlada.

La $CO_{Aparente}$ es constante durante los 90 días de operación, lo cual es comprensible debido a la operatividad del sistema, sin embargo en los requerimientos de oxígeno se nota que hay una ligera tendencia de crecimiento la OUR y SOUR sobre todo en el último tercio de la experimentación. Para correlacionar lo anterior debemos recalcar que el objetivo principal de estudio es poder recalcular las CO con la fracción activa lo que nos explicará mejor este incremento de los SSV en los últimos 30 días de operación.

4.3.1. CARGA ORGÁNICA

Se determinó que la $CO_{volimética}$ teórica de 0.8 $kg_{DQO}/m^3 \cdot d$ (Orantes 2006), controlando principalmente el Q y el Vop dentro del BRM, sin embargo debido a las variantes en el

control de Vop, la $CO_{volumétrica}$ experimental oscilo entre los 0.8 y 1 $kg_{DQO}/m^3 \cdot d$ (Figura). En comparación con los sistemas de LA convencionales donde la $CO_{volumétrica}$ oscila entre 0.32 y 0.64 $kg_{DQO}/m^3 \cdot d$ (Medcalf 1996) y el BRM con valores de 1.1 y 1.7 $kg_{DQO}/m^3 \cdot d$ (Rosenberg *et al.,* 2001), 1.19 y 0.31 $kg_{DQO}/m^3 \cdot d$ (Kim *et al.,*2005); estas ligeras variaciones se deben principalmente a las variaciones en la alimentación, ajustes necesarios para el control del Vop, por tal motivo se puede considerar que la $CO_{volumetriva}$ se mantuvo constante (Valle *et al.*, 2011).

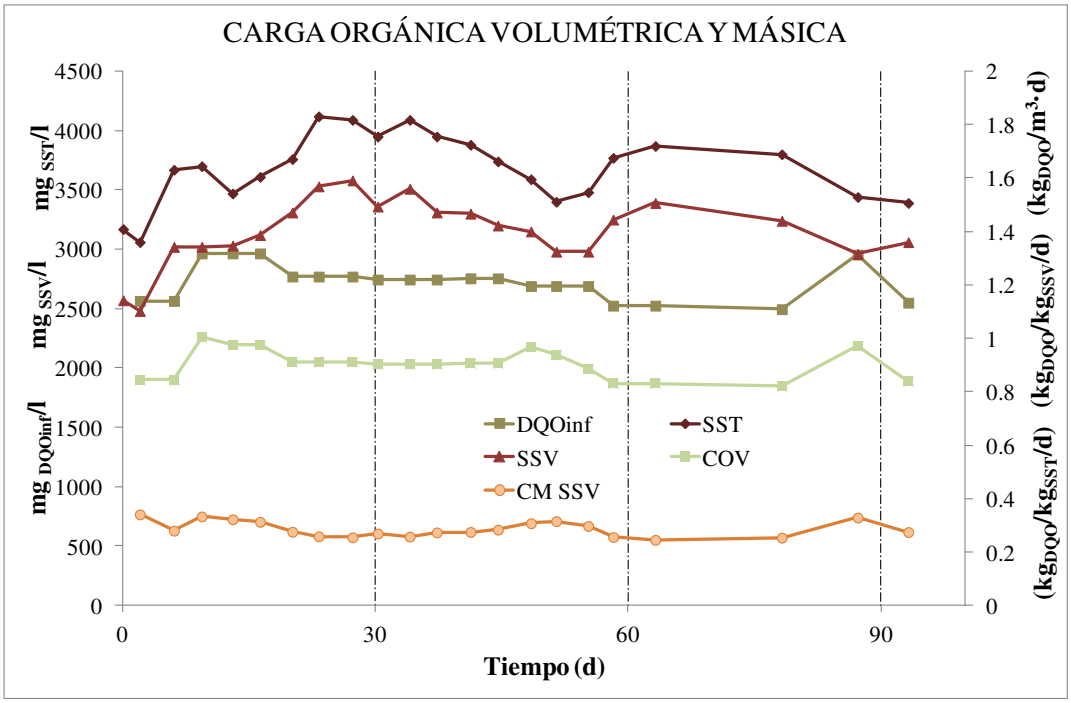


FIGURA 43 Carga volumétrica y carga másica.

La $CO_{másica}$ experimental al inicio de la Ce fue determinada a 0.34 $kg_{DQO}/ kg_{SSV} \cdot d$, y esta se mantuvo prácticamente constante con una ligera oscilación entre 0.25 y 0.35 $kg_{DQO}/ kg_{SSV} \cdot d$, en contraste con los LA convencionales donde la $CO_{másica}$ oscila entre los 0.2 y 0.4 $kg_{DQO}/ kg_{SSV} \cdot d$ (Metcalf, 2006) y otros estudios encontrados de BRM donde los valores oscilan entre 0.07 (Rosemberg *et al.,* 2001) y 0.135 y 0.051 $kg_{DQO}/ kg_{SSV} \cdot d$ (Kim *et al.,*2005). Esta tendencia a la disminución de la $CO_{másica}$ se explica i) por la retención total de los SST al interior del reactor; ii) por la aparente reorientación metabólica; y iii) las mayores velocidades de consumo y de transferencia másica debido a los tamaños de floculos, que podemos encontrar en un LA y un BRM. y se puede observar que las cargas se mantuvieron

controlados con la cantidad de sustrato adicionado cuidando guardar la $CO_{volimética}$ teórica de 0.8 $kg_{DQO}/m^3 \cdot d$.

La mayoría de los estudios marca que para los BRM la relación de SSV/SST igual a 0.8 corresponde una correlación de la $DQO_{particulada}$/SSV igual a 1.42 (Figura 44); en este estudio se marcan relaciones máximas de 1.34, esto se debe principalmente a los cambión de concentraciones de los SS (Metcalf & Eddy 2002).

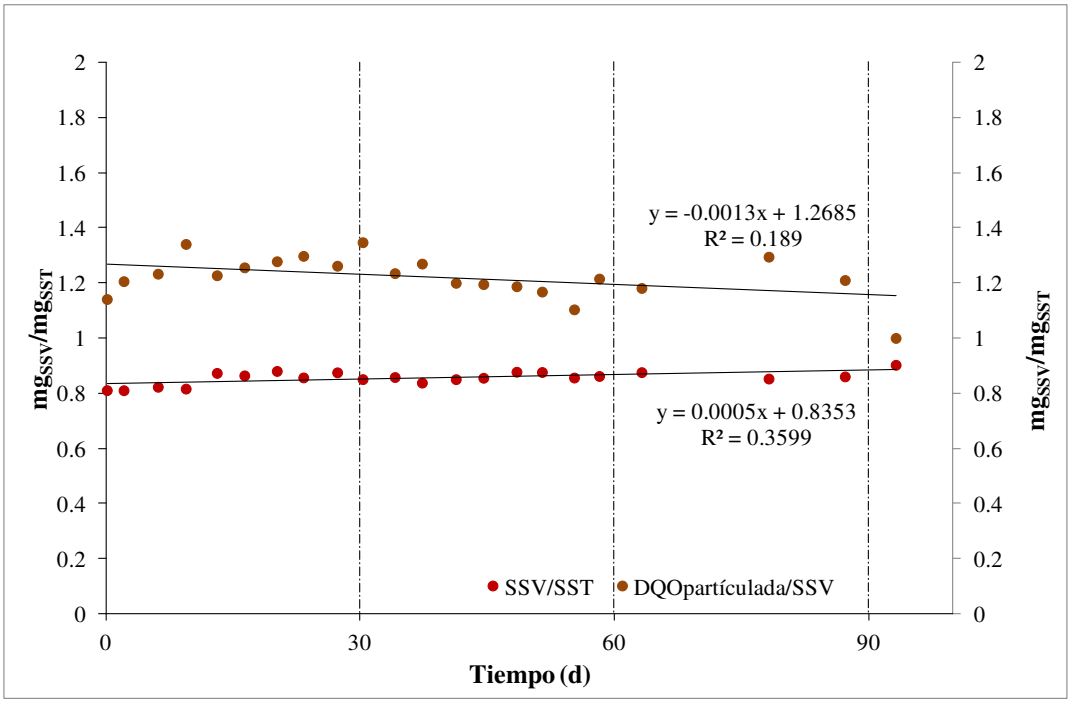


FIGURA 44 SST/SST Y $DQO_{particulada}$/SSV **.**

4.3.2. BIOMASA

Se trabajó con retención total de biomasa, la edad teórica del lodo se considera igual al tiempo de duración de la Ce, la extracción de biomasa del sistema se realizó únicamente para realizar los análisis de la misma, dando como resultado un $TRC_{experimental}$=30 d, por lo que la edad de los lodos es mayor a la que se utiliza en un sistema convencional de LA de los 20 días, como máximo.

La biomasa tuvo una concentración inicial de 2570 mg_{SSV}/l, y al término de la Ce apuntado a los 90 días de operación se alcanzó una concentración del orden de los 3360 mg_{SSV}/l, lo que nos arroja que hubo un incremento del orden de los 2.67 $mg_{SSV}/l \cdot d$. este

comportamiento (Figura) y atípico de la gráfica atiende principalmente a una pérdida de SST que se dio a partir del día 51 de operación, e inmediatamente se amortigua este pico y se estabiliza el BRM y se marcan dos incrementos importantes y muy parecidos durante la Ce, el primero va de el día 0 al 27 de operación, donde se marca un incremento de 32.26 $mg_{SSV}/l \cdot d$ y del día 51 al 63 de operación con un incremento 49.04 $mg_{SSV}/l \cdot d$, lo que nos indica las r_x y la forma de restablecerse en un tiempo tan corto en el segundo caso quizá nos esté hablando de que la curva tendría que ser igual a una típica en estado estacionario durante la Ce. Por otro lado, si consideramos la $DQO_{particulada}$, el experimento inició con 2,933 $mg_{DQOpart}/l$ y se incrementó hasta alcanzar los 3,060 $mg_{DQOpart}/l$ a una tasa de 1.2 $mg_{DQOpart}/l \cdot d$. Este incremento en la concentración de sólidos en suspensión se observa debido a la no extracción de sólidos y a la síntesis celular dentro del sistema, a partir de la asimilación del sustrato, sin embargo también se ve afectado por las pérdidas de SS por cuestiones de operación del sistema (Figura 45).

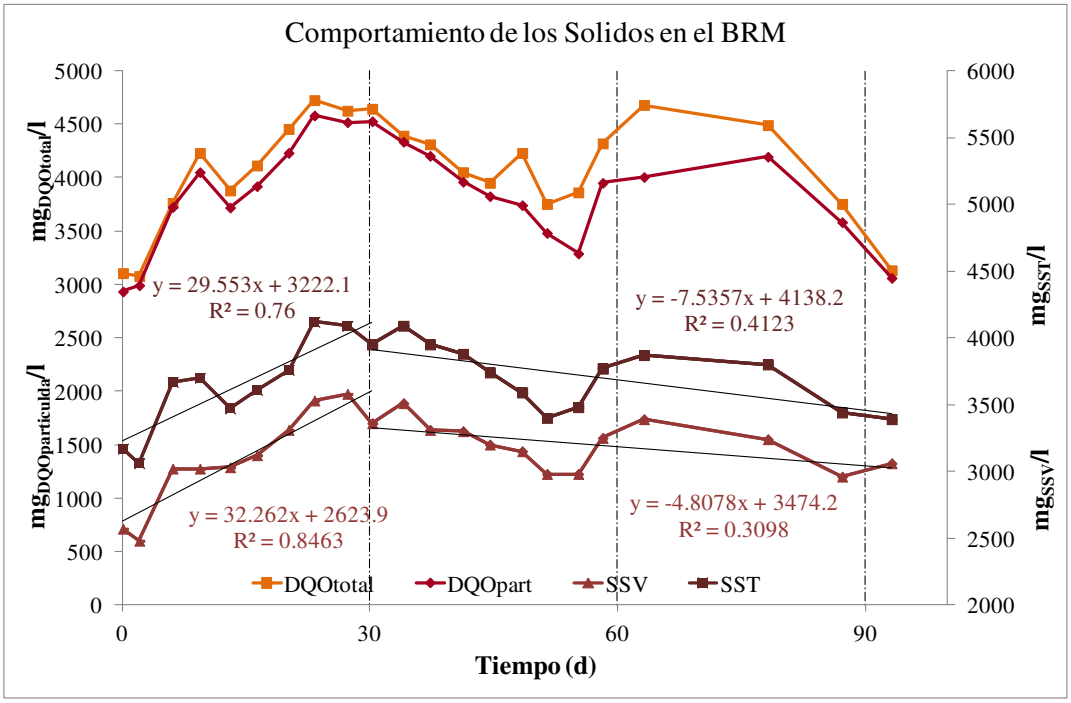


FIGURA 45 Comportamiento de los sólidos del **BRM.**

De lo anterior lo podemos asociar a que pese al máximo que se presenta en la DQO_{part} de 4.5$g_{DQOpart}/l$ las condiciones iniciales y finales de la Ce son de 2.9 y 3.0 $g_{DQOpart}/l$ respectivamente y las tasas de crecimiento son muy pequeñas a pesar de la retención total de

sólidos, no se presenta una síntesis celular dentro del sistema es decir, el metabolismo asociado no está orientado a la síntesis de nueva biomasa.

Paralelamente se fue determinando la velocidad de consumo de oxígeno (OUR) de la suspensión biológica del BRM. No obstante que hay un incremento en la concentración de la biomasa en la suspensión biológica, medido a través de los SSV y la $DQO_{particulada}$, los resultados muestran que la OUR presentó un incremento, pero muy inferior al observado a la concentración de biomasa (Figura 46). Estos resultados, implicarían que solo una parte de la biomasa en el BRM se encuentra activa, y que la otra parte de la biomasa, podría (i) haber un incremento de biomasa, pero ésta de manera global habría disminuido su consumo de oxígeno y estar realizando sólo funciones de mantenimiento, (ii) encontrarse inactiva, en estado de latencia, (iii) también podría corresponder a un incremento de masa debido a la síntesis y acumulación de productos de reserva de energía o incluso (iv) tener una acumulación de detritos de bacterias lisadas que son retenidos por las membranas, de carácter inorgánico o prácticamente no biodegradables (Orantes., 2005; Low y Chase, 1999; van Loosdrecht *et al.*, 1999).

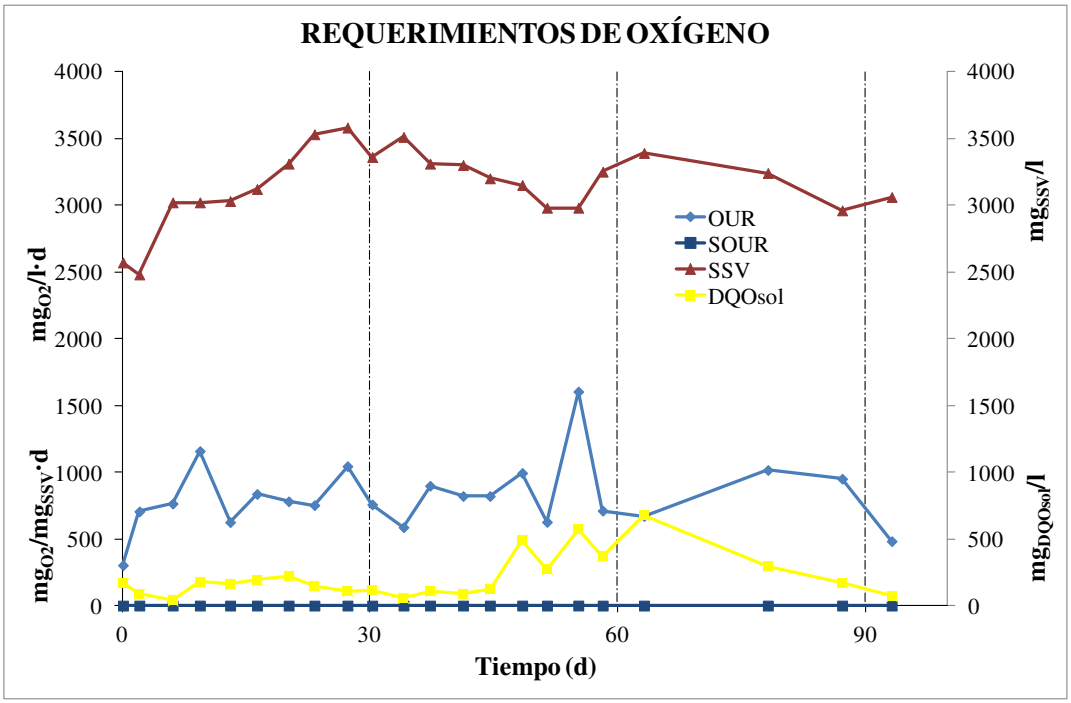


FIGURA 46 Requerimiento de O_2 en el **BRM.**

La (Figura 46) en contraste con la cinética de los SST, podemos puntualizar el crecimiento bacteriano con la velocidad de consumo de oxígeno por mes, sin embargo para relacionar el comportamiento o evolución de las bacterias activas tendríamos que contrastarla con la velocidad específica de consumo de oxígeno. Por otra parte agregar la velocidad de consumo entre el día 55 y 68 de la corrida experimental para poder relacionar el incremento en la velocidad de consumo del oxígeno con la velocidad de crecimiento. Circunstancia que ya hemos definido con lo que se vio en bitácora.

Otra parte interesante es poder definir que para poder inferir que tipo de curva se nos podría estar presentando en el sistema de no haber tenido esta pérdida de sólidos en el sistema y declarar si podríamos hablar de tener una fase estacionaria en el sistema o un crecimiento logarítmico.

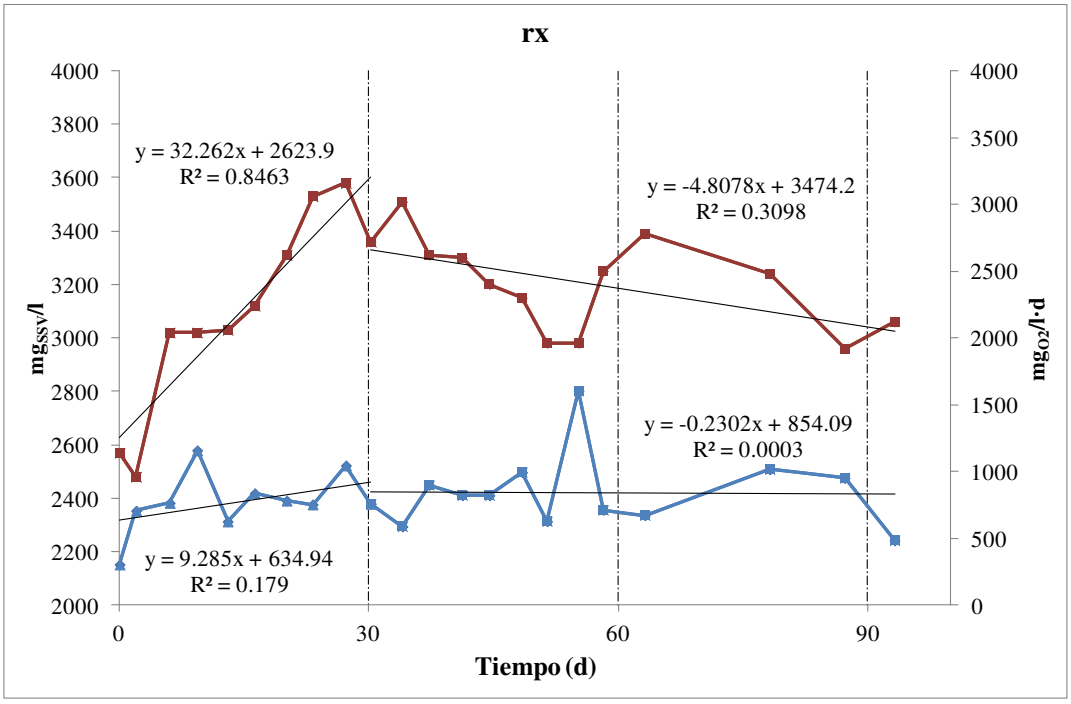
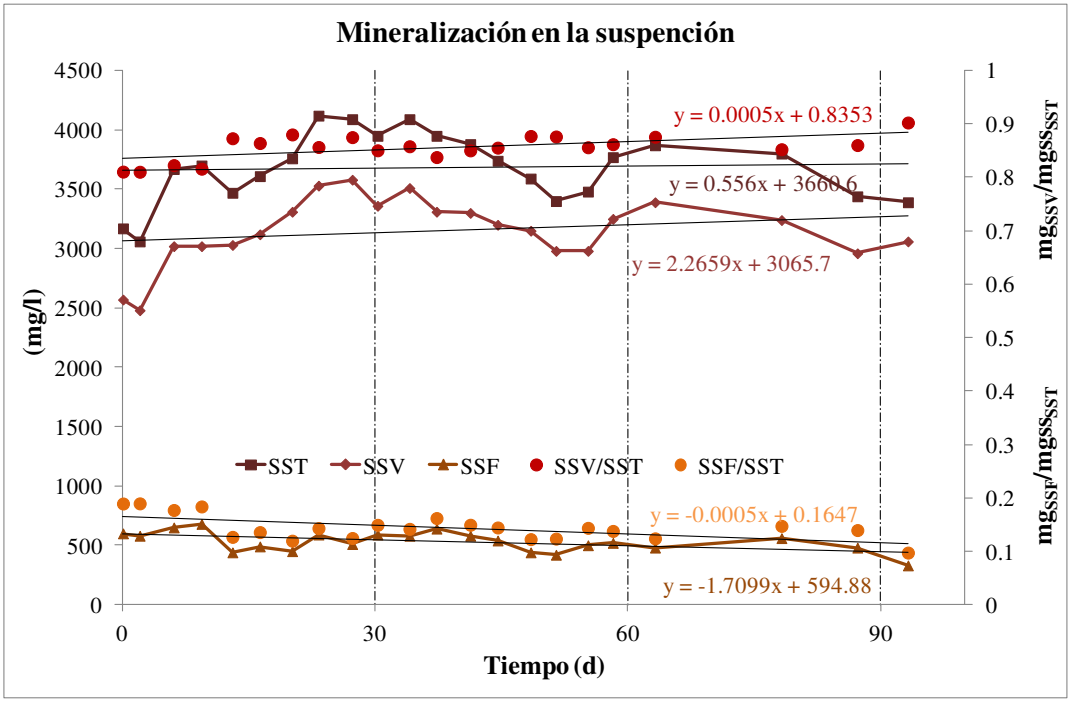


FIGURA 47 Velocidades de consumo de oxígeno con respecto a r_x.

Las gráficas de estas relaciones muestran que hay un ligero incremento en la proporción de la fracción orgánica con respecto a la fracción inorgánica, tomando como referencia los valores teóricos de estas relaciones (Metcalf, 1996). Esto muestra que el incremento de la concentración de sólidos en suspensión no obedece, en este caso, a una acumulación de detritos inorgánicos de bacterias lisadas y retenidas por las membranas. A pesar de que hay un incremento de la concentración de SSF en el BRM (Figura 48), este



resulta proporcionalmente menor que el incremento de los SSV, por lo que se asume que no hay una mineralización en la suspensión biológica dentro del reactor (Orantes 2005).

FIGURA 48 Mineralización del sistema

También es importante observar que no obstante el ligero incremento en la relación SSV/SST los valores de la misma se mantienen cerca, pero ligeramente superiores al valor teórico de la composición de la biomasa (Metcalf 1996). Los valores de esta relación indican que sí hay una ligera acumulación de productos de acumulación de reservas de energía (i.e. PHA), equivalente a de acumulación de reservas de energía (i.e. PHA), equivalente a incrementan el valor de la relación SSV/SST en la composición de la suspensión biológica (Orantes 2005)

4.4. ANÁLISIS EN EL BATCH

A la par con la CE del BRM donde se determina principalmente la fracción orgánica que está activa dentro del reactor por medio de la fluorescencia. Se planeo realizar el análisis en los reactores *batch* para hacer un análisis más completo tanto de las interacciones en la variables de operación como el comportamiento de las poblaciones al interior del BRM, con la presencia de un sustrato exógeno completamente biodegradable y estimar la velocidades de

consumo de sustrato y crecimiento de la biomasa después de la adición del sustrato carbonoso.

Se ha observado que las poblaciones bacterianas orientan su metabolismo hacia la multiplicación celular cuando $S_0/X_0 > 1$; por el contrario, tienden a acumular productos de reserva de energía cuando $S_0/X_0 < 1$ (Pitter y Chudoba, 1990). Para efectos de este estudio se hace una radiografía de las condiciones de la biomasa al interior del BRM en el reactor *batch* a cada 30 d (Tabla 12), en condiciones de baja CO, So/Xo < 1, de esta forma estamos replicando la formas de operación del BRM y podremos evaluar cómo se activa la fracción orgánica en presencia de un sustrato completamente biodegradable a base de acetato.

TABLA 12 Condiciones iniciales de la biomasa en la radiografía del sistema.

Tiempo en el BRM (d)	*S_0/X_0 (mg_{DQO}/mg_{SSV})*	*CO_0 (mg_{DQO}/l)*	*X_0 (mg_{SSV}/l)*	*S_0 (mg_{DQO}/l)*	*OUR_0 ($mg_{O2}/l \cdot h$)*
0	*<1*	*1074*	*1360*	*40*	*2.66*
30	*<1*	*1053*	*2630*	*1038*	*2.90*
60	*<1*	*972*	*2560*	*1253*	*3.63*

Los resultados de cada corrida son presentados a continuación mostrando primeramente los resultados obtenidos en la relación $S_0/X_0 < 1$ mostrando la fase exógena y posteriormente la fase endógena. Todas las corridas experimentales se mantuvieron durante al menos 20 h posteriores a la adición del sustrato exógeno. Previo a cada experimento, se mantuvo la biomasa tomada del BRM en condiciones de aireación, pero sin adición de sustrato durante un periodo mínimo de 12 h, para asegurar que no existiera dentro del *batch* remanente de sustrato exógeno ya fuera de la PTAR o en su caso del BRM.

4.4.1. Relación S0/X0 < 1

En el caso de los experimentos en *batch*, la fase exógena normalmente tuvo una duración de 6 h. Estos resultados muestran que hubo un aumento en la velocidad de degradación de materia orgánica, (Figura 49), conforme se fue incrementando el tiempo de experimentación en el BRM. Esto implica que la capacidad de degradación de un BRM es mayor, con un mismo volumen de reactor, que un sistema de lodos activados.

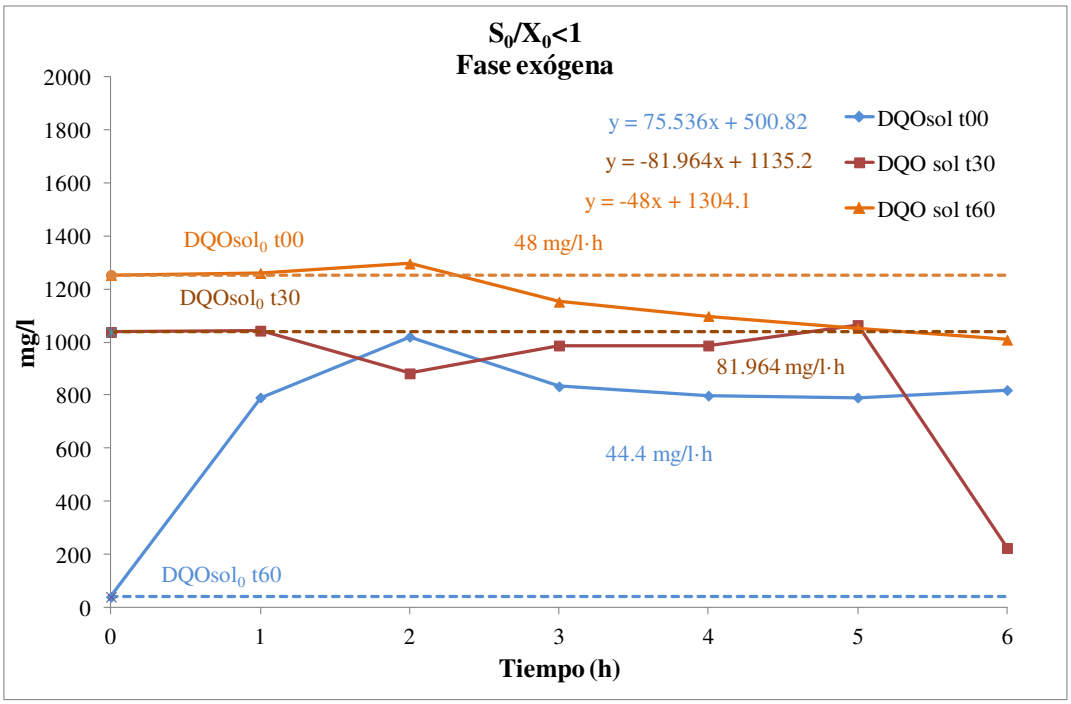


FIGURA 49 Velocidades de consumo de sustrato en los *batch*.

Se estimaron también las velocidades de consumo de oxígeno, por medio de una serie de respirometrías que se realizaron a lo largo de cada uno de los experimentos *batch*. Estas velocidades se graficaron (Figura 50) y con base en estas gráficas, se estimaron también las cantidades de oxígeno consumido por las bacterias durante la fase exógena.

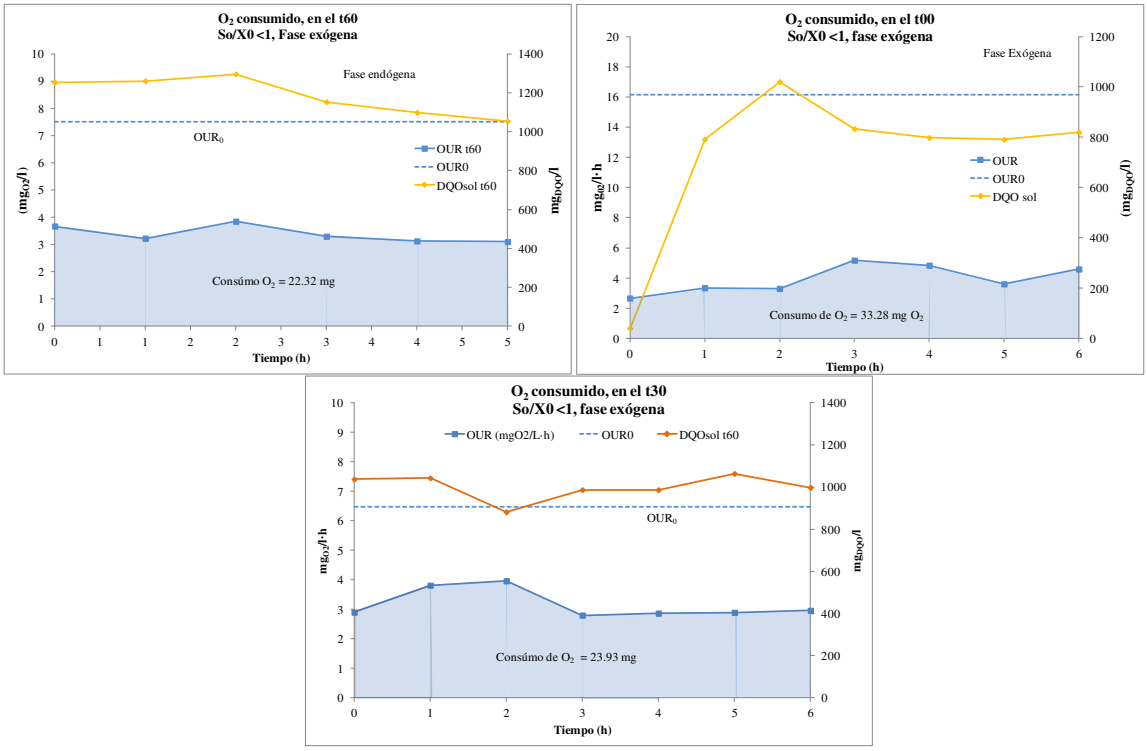


FIGURA 50 Consumo de O2 a los diferentes TRC: t00, t30, t60.

En las gráficas de la (Figura 50) se observa una tendencia global de incremento en el consumo de oxígeno ($O_{2\ consumido}$). La tasa de respiración antes de la adición de sustrato cambia en respuesta a la adición de sustrato sin embargo en los tres tiempos se observa que los valores de consumo de O_2, está muy por debajo del OUR_0 lo que nos indica i) que podemos tener bajas concentraciones de SSV, ii) bajas cantidades de lodos activos iii) una capacidad de respuesta al consumo de la r_s más lenta debido a las condiciones metabólica del metabolismo bacteriano.

En la (Tabla 13) se presentan, a manera de síntesis, los resultados de los parámetros asociados a la degradación del sustrato, obtenidos de los experimentos realizados en los reactores *batch* en $S_0/X_0 < 1$. En estos resultados se observa que la velocidad de degradación de sustrato (r_s) se incrementa conforme aumentan S_0 y X_0, sin embargo no se observa una relación específica Por otro lado, tampoco se observa ninguna relación entre la velocidad de degradación de sustrato y el oxígeno total consumido durante la fase exógena.

TABLA 13 Parámetros asociados a la degradación del sustrato en los *batch*.

Tiempo en el BRM (d)	S_0 (mg_{DQO}/l)	X_0 (mg_{SSV}/l)	S_0/X_0 (mg_{DQO}/mg_{SSV})	$S_{adicionado}$ (mg_{DQO})	r_s $(mg_{DQO}/l \cdot h)$	$O_{2consumido}$ (mg_{O2})
0	*40*	*1360*	*0.03*	*758.1*	*48.00*	*33.28*
30	*1038*	*2630*	*0.39*	*737.1*	*10.60*	*23.93*
60	*1253*	*2560*	*0.48*	*680.4*	*44.40*	*22.32*

Por otro lado, se siguió la evolución de la biomasa en los reactores *batch*. En este caso se presentan los resultados de la biomasa, estimada como $DQO_{particulada}$ (Figura 51). Estas curvas muestran que en los reactores *batch* hubo una disminución de la concentración de biomasa, aún durante la fase exógena. Este comportamiento implica que hubo un consumo de reservas de energía (Sudesh *et al.*, 2000) acumulado como PHA (Brook y Madigan, 1993) en el BRM. Este consumo de reserva de energía se presenta cuando la suspensión se encuentra en estado de carencia de sustrato (Hejzlar y Chudoba, 1986) y en este caso las CO bajas (S0/X0 < 1) en los *batch*, que operaron de 0.03 a 0.48 mg_{DQO}/mg_{SSV}, resultan inferiores a las cargas orgánicas aplicadas en el BRM que operó con $CO_{másica}$ de 0.34 a 0.25 $mg_{DQO}/mg_{SSV} \cdot d$.

La disminución de la biomasa en la fase exógena de los experimentos en $S_0/X_0 < 1$ también podría explicarse por el hecho de que la duración de la fase exógena resulta muy corta, (6 h) (Figura 51), en comparación con el TRC experimental estimado para el BRM (40 d), por lo que seguramente una parte importante de los microorganismos presentes en la suspensión tienen tiempos de duplicación celular mayores que la duración de la fase exógena.

Otra posible explicación a esta disminución se podría encontrar en el hecho de que, dadas las condiciones de retención total de biomasa y de CO de trabajo en el BRM, se estuviera presentando un fenómeno de lisis (Low y Chase, 1999) y crecimiento críptico (van Loosdtrecht *et al*., 1997) y, al pasar la biomasa al reactor *batch* se observara una degradación de los compuestos celulares fácilmente biodegradables en forma conjunta con el sustrato exógeno.

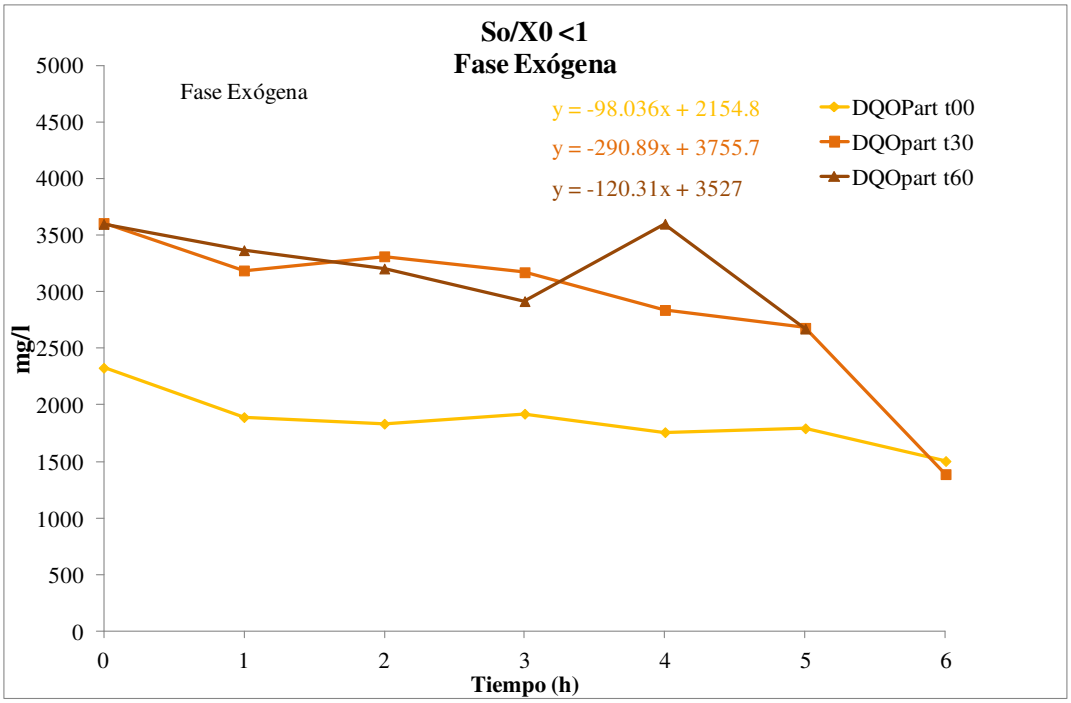


FIGURA 51 DQO disponible en los *batch* a diferentes TRC.

- **Productos microbianos solubles**

En la gráfica de la (Figura 52) se presentan las concentraciones de DQO_{sol} en diversas etapas, desde la biomasa extraída del reactor de lodos activados en el tiempo t0, o del BRM en el caso de los otros tiempos experimentales, pasando por las etapas de inanición, adición de sustrato, fin de la fase exógena y fin de la fase endógena. Con excepción de la concentración

en la columna correspondiente a la adición de sustrato, en el resto de las columnas, la DQOsol, corresponde a la concentración de SMP.

En los resultados relativos a los SMP en los experimentos en los reactores *batch* en $S_0/X_0 < 1$ (Figura 52), se puede observar la evolución de la adaptación de la biomasa de LA a BRM; para t0 en la toma de muestra la cantidad de DQO_{sol} es mucho mayor que en la toma de muestra del BRM.

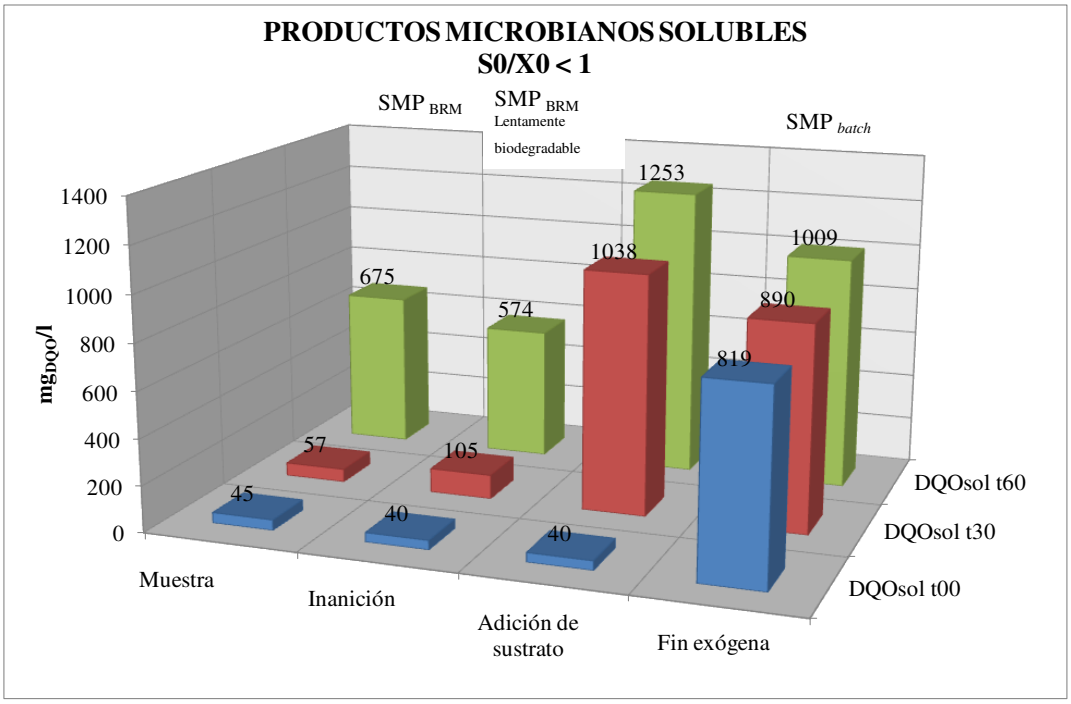


FIGURA 52 SPM en los batch a los diferentes TRC.

También se puede observar en estos resultados que el BRM presenta una mayor capacidad de degradación de los SMP, ya que conforme va aumentando el tiempo de operación, la concentración de SMP en el BRM tiende a disminuir. Por otro lado, también se puede apreciar que de manera global la producción de SMP se incrementa conforme incrementa la concentración de biomasa en el BRM y la cantidad de sustrato adicionado en los *batch*, como podemos apreciar en las concentraciones de SMP al final de las fases tanto exógena como endógena, sin embargo esto no implica que estos SMP se acumulen en el BRM, ya que las concentraciones en las muestras iniciales tienden a ser menores, conforme pasa el tiempo de operación del BRM, que las concentraciones al final de la fase exógena de los *batch* (Orantes 2005).

4.5. Comparación de los resultados del BRM y *batch*

Los resultados obtenidos en los experimentos en los reactores *batch* se compararon con respecto a los obtenidos en el BRM, esto con la finalidad de analizar y comprender mejor el comportamiento y evolución de la biomasa. Primeramente se analiza la velocidad de consumo de sustrato (r_S) en los reactores *batch*, en comparación con la concentración de biomasa en el BRM (Figura 53).

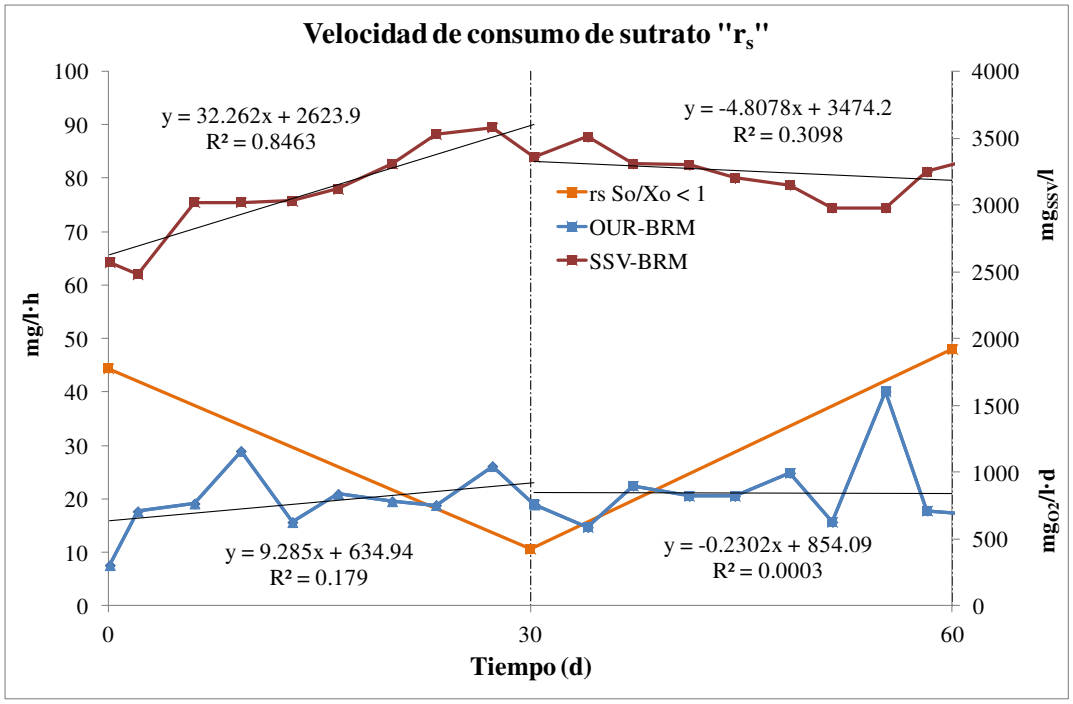


FIGURA 53 Velocidad de consumo de sustrato *batch*-BRM.

Estas gráficas en conjunto mostrarían que la biomasa en el BRM tiene un comportamiento que corresponde a una condición de carencia de sustrato en la que según Pitter y Chudoba (1990) la biomasa tiende a sintetizar productos de reserva de energía, sin embargo, se observa que al someter la misma biomasa a un impulso más alto de sustrato exógeno muestra una respuesta favorable durante los primeros 30 días de operación. En contraparte la velocidad de consumo de sustrato disminuye casi en la misma proporción que en los primeros días lo que nos está indicando una aparente fase estacionaria en la biomasa del reactor que atiende al cambio metabólico que se presenta en el segundo tercio de la experimentación.

En la (Figura 54) se presentan los requerimientos de oxígeno comparados con la curva de crecimiento biológico, con lo que corroboramos que los requerimientos de oxígeno se presento durante los primeros 30 días en donde se presentó un crecimiento a partir de la síntesis celular. La disminución de consumo el segundo tercio atiende a un aparente cambio metabólico y la inactividad de 70% de la población total de bacterias aparentemente. Cabe recalcar que se replicaron las condiciones de trabajo del BRM en los en el estudio por lotes para observar la activación de la fracción biológica. Que además apunta a tener una tercera etapa con mayores porcentajes de eficiencia y mayor actividad bacteriana con una menor carga de células activas.

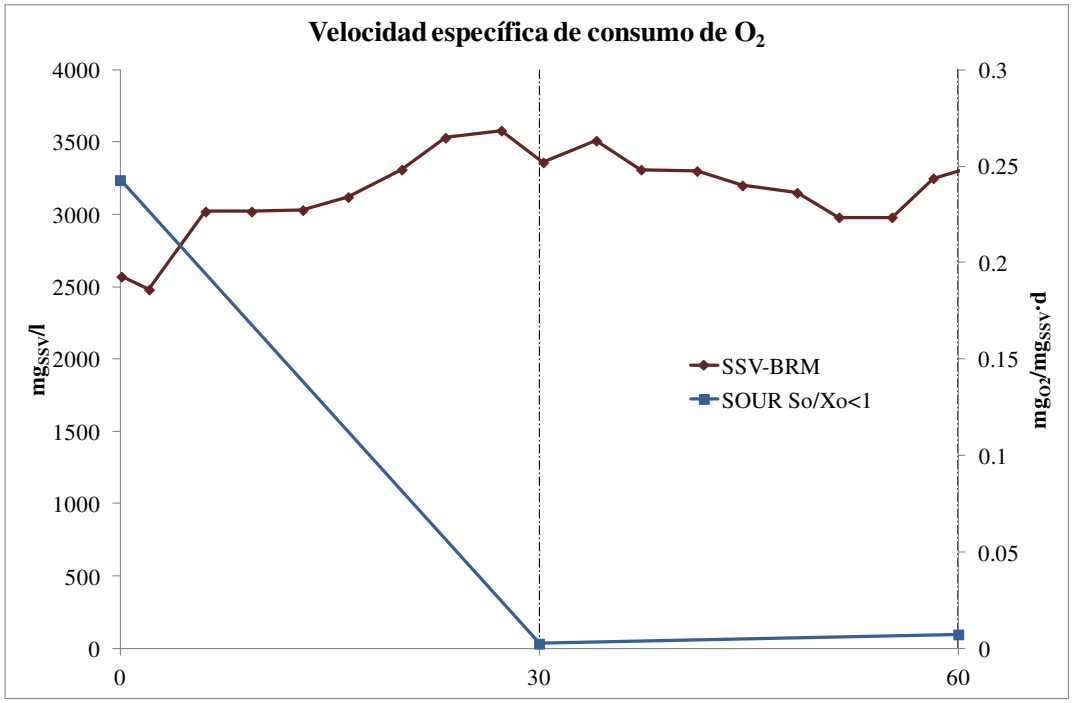


FIGURA 54 Consumo de O_2 en el batch-BRM.

4.6. FRACCIÓN DE LA BIOMASA ACTIVA

4.6.1. MICROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

La detección de la actividad bacteriana se basa en la reducción de sales incoloras solubles en agua, a la reducción de productos cromogenicos insolubles en agua, en forma de cristales de color rojo los cuales pueden ser extraídos de las células u cuantificados colorimétricamente; esto también es empleado para la medición de la actividad acumulativa de los lodos activados. Los productos cromogeneticos fluorecentes del CTC y la alta sensibilidad a la tinción en la reducción redox hacen que sea muy fácil de detectar por

microscopía de epifluorecsencia. Las bacterias fisiológicamente activas son fáciles de reconocer entre otras partículas en los lodos activados por su brillo color rojo fluorescente. Además los depósitos de los productos del CTC se pueden extraer mediante centrifugación con etanol para su cuantificación espectrofotométrica.

4.6.2. Actividad bacteriana

El CTC es rápidamente oxidado y es reducido por medio de la actividad de transporte de electrones este componenete insoluble y puede ser observado en la microscopia de epifluorescencia, el cual se acumula intracelularmente. Las bacterias que tienen estos productos cromogenéticos artificiales conocidos como CTC-*Formazan,* pueden ser visualizados en preparaciones de medios acuosos, en la superficie de filtros de membranas de policarbonato, o en *biofilms* asiciados a superficies obscuras.

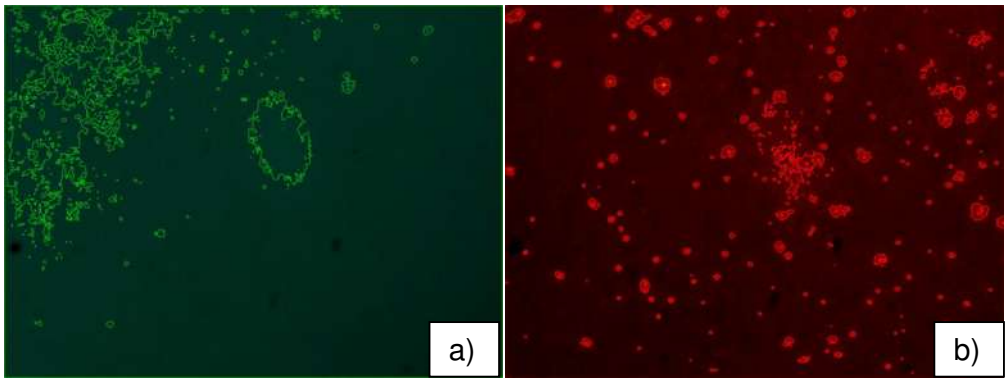
La actividad de la deshidrogenasa es determinada directamente de la microscopía de epifluorescencia (T. Griebe, 1997). La adición de nutrientes no permite un incremento en el 5-Cyano-2,3-ditolyltetrazolium cloride (CTC), de las células activas (T. Griebe, 1997). El almacenamiento de las muestras en condiciones de baja temperatura o aireación insíden en una significante disminución en la actividad de la deshidrogenasa en un tiempo de 30 minutos (T. Griebe, 1997). Este método es los sufiecientemente rápido y sensitivo, idóneo para la detección y enumeración de microorganismos metabólicamente activos en los lodos activados (T. Griebe, 1997). En la (Tabla 14) se presentan los resultados del conteo realizado durante los 90 días de operación en el BRM que se operó en continuo. Después de haber obtenido las imágenes de DAPI y CTC por semarado (Figura 55).

TABLA 14 Fracción orgánica activa dentro de BRM.

Tiempo en el BRM (d)	*OUR* ($mg_{O2}/l \cdot d$)	*SOUR* ($mg_{O2}/mg_{SSV} \cdot l$)	*Biomasa total (mg/l)*	*Biomasa activa (mg/l)*	*Células activas (%)*
0	*302.69*	*0.12*	*1595.2*	*941.84*	*36.647*
2	*705.60*	*0.28*	*1539.3*	*908.85*	*36.647*
6	*764.06*	*0.25*	*1650.6*	*1084.28*	*35.903*
9	*1157.47*	*0.38*	*819.1*	*344.84*	*11.418*
13	*624.82*	*0.21*	*1117.7*	*330.21*	*10.898*
16	*835.92*	*0.27*	*1631.0*	*613.59*	*19.666*

20	*781.06*	*0.24*	*1367.7*	*376.68*	*11.380*
23	*752.26*	*0.21*	*1802.4*	*846.38*	*23.977*
27	*1044.29*	*0.29*	*1387.3*	*353.42*	*9.872*
30	*757.15*	*0.23*	*1207.7*	*487.81*	*14.518*
34	*587.09*	*0.17*	*1660.7*	*943.75*	*26.887*
37	*897.84*	*0.27*	*1366.2*	*442.08*	*13.356*
41	*820.66*	*0.25*	*998.9*	*538.22*	*16.310*
45	*820.37*	*0.26*	*1004.2*	*621.19*	*19.412*
48	*993.46*	*0.32*	*1034.7*	*405.68*	*12.879*
51	*626.40*	*0.21*	*916.0*	*158.41*	*5.316*
55	*1603.15*	*0.54*	*983.8*	*215.86*	*7.244*
58	*710.93*	*0.22*	*1050.7*	*354.53*	*10.909*
60	*671.33*	*0.20*	*1085.0*	*435.79*	*12.855*
78	*1015.49*	*0.31*	*1163.4*	*451.03*	*12.634*
87	*950.26*	*0.32*	*986.8*	*351.44*	*11.873*
90	*482.69*	*0.16*	*1169.1*	*446.78*	*14.601*

El día 0 son las condiciones iniciales de la muestra después de 24 de aereación para lograr la degradación del sustrato exógeno proveniente de la zanga de oxidación de donde se extrajo el lodo. En función a los TRC que en este caso son iguales a 30 días de experimentación, 10 días más que en un lodos activados convencionales también se presentan los campos que se obtuvieron para su conteo en la figura oyix.



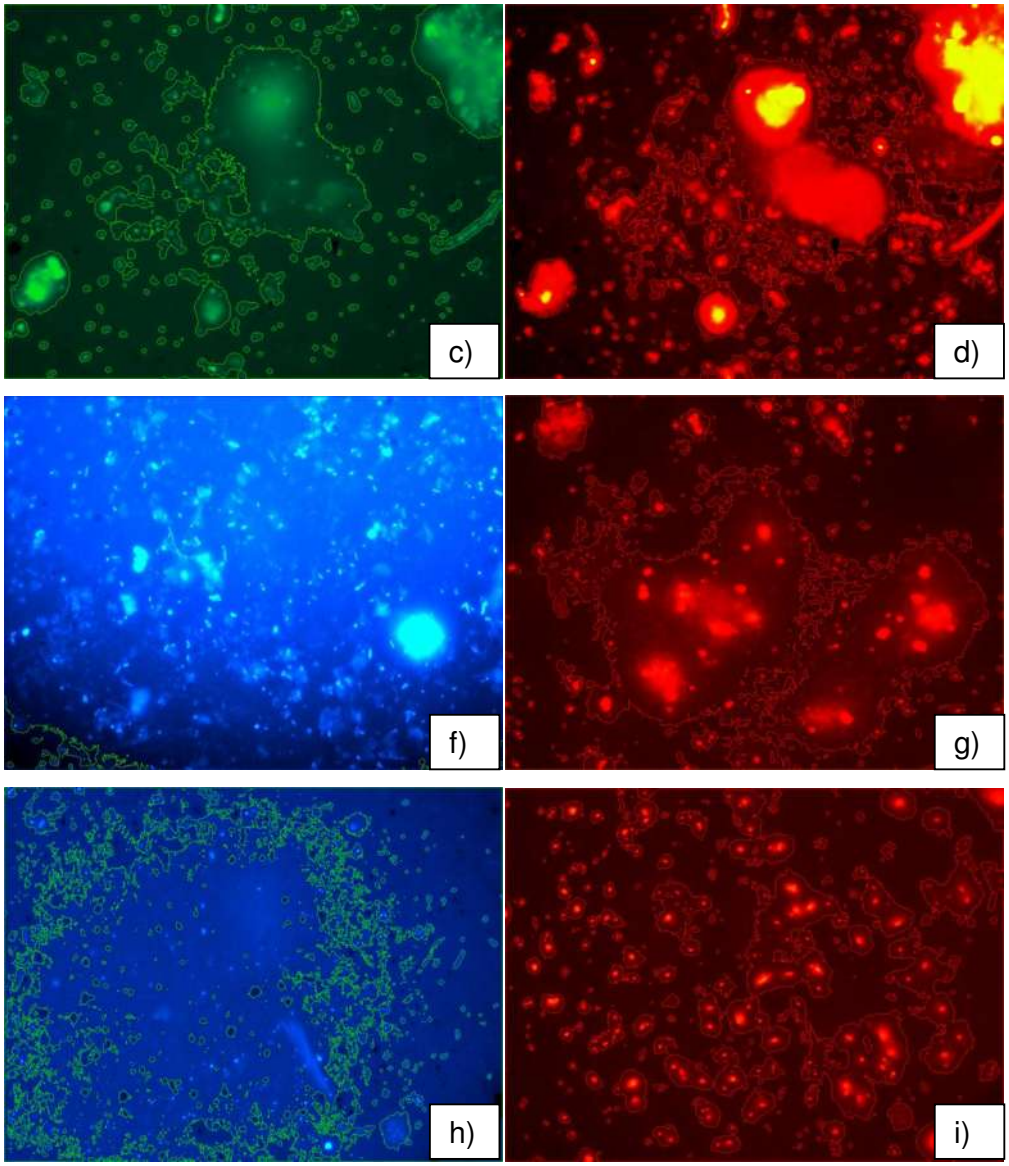


FIGURA 55 Conteos a partir de los campos obtenidos, a 100 X; con tamaño de partícula de las 2 a las 50 µm, por medio de microscopia de fluorescencia del DAPI y CTC respectivamente durante los 90 días experimentales: a) y b); t0, c) y d); t30, f) y g); t60, h) e i); t90.

4.6.3. CO REALES CALCULADAS CON LA FRACCIÓN ACTIVA

En la (Figura 56) observaremos que la $CO_{Aparente}$ se mantiene constante debido a las condiciones de operación del reactor, sin embargo cuando hacemos el contraste con las CO_{reales} con la $CO_{Bacterias\ Inactivas}$ y $CO_{Bacterias\ Activas}$ ambas se mantienen constantes y prácticamente iguales en el tiempo.

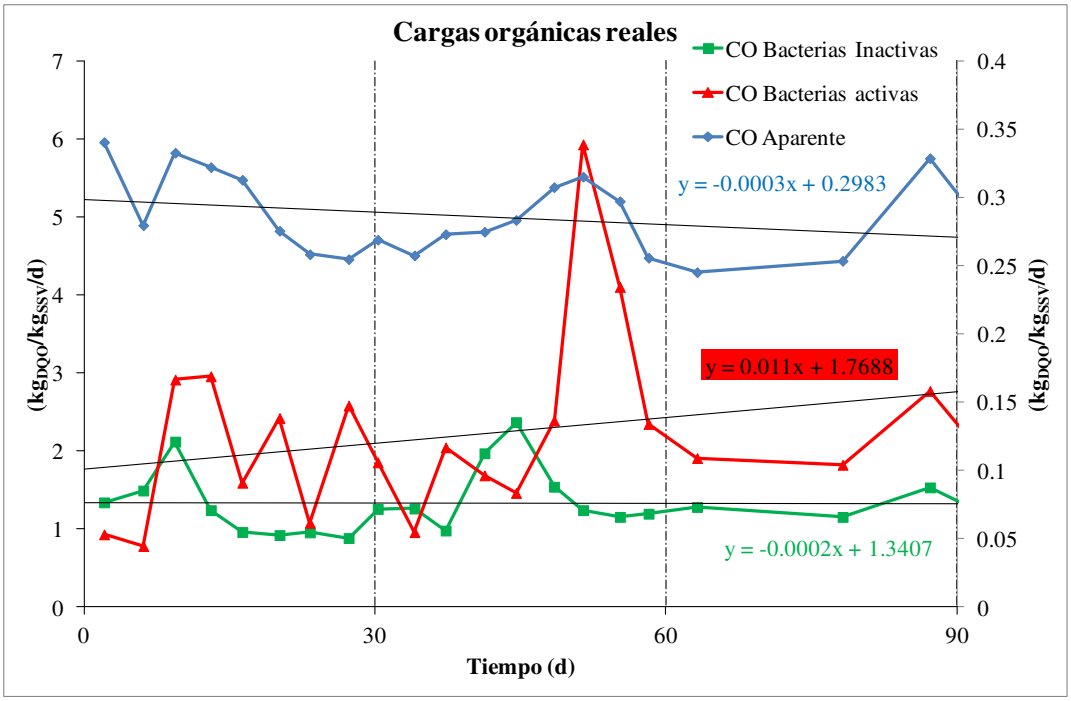


FIGURA 56 Cargas orgánicas reales.

En contraste a lo anterior y a lo reportado en el porcentaje de bacterias activas en el conteo y la (Figura 57) podemos observar que en realidad los SSV contabilizados como activos se encontraron en menor porcentaje respecto a la masa biológica total contabilizada por medio de la microscopía de fluorescencia.

Pese que no hay información disponible respecto a la actividad bacteriana dentro de los BRM podemos inferir que por el principio de retención total de sólidos tenemos SSV conformados mayormente por células y otros compuestos orgánicos que podrían estar representando una fracción mínima en los sólidos, pero sin embargo se calcinan en la prueba de determinación de sólidos.

Por otra parte podemos observar que de acuerdo a los cálculos tenemos sólidos en la fracción activa que al principio de la Ce son casi iguales a la fracción que no se encuentra activa y aparentemente sigue bajo esta cinética durante la primera mitad del tiempo de

experimentación. Es decir de acuerdo a los resultados de la $DQO_{particulada}$ y SSV/SST (Metcalf 1996), el metabolismo microbiano está operando como un LAC, pero cuando se apunta a el segundo tercio de la experimentación se aprecia un cambio paulatino en el metabolismo microbiano hacia lo que según algunos autores sería un BRM, expuesto por las baja producciones de lodos y la eficiencia en la remoción que presenta el sistema; sin embargo en el último tercio de la experimentación apuntando a los 90 días, se observa una correlación constante entre las bacterias activas y las inactivas acompañadas de una eficiencia global del sistema del 99% con una fracción activa menor pero mucho más eficiente.

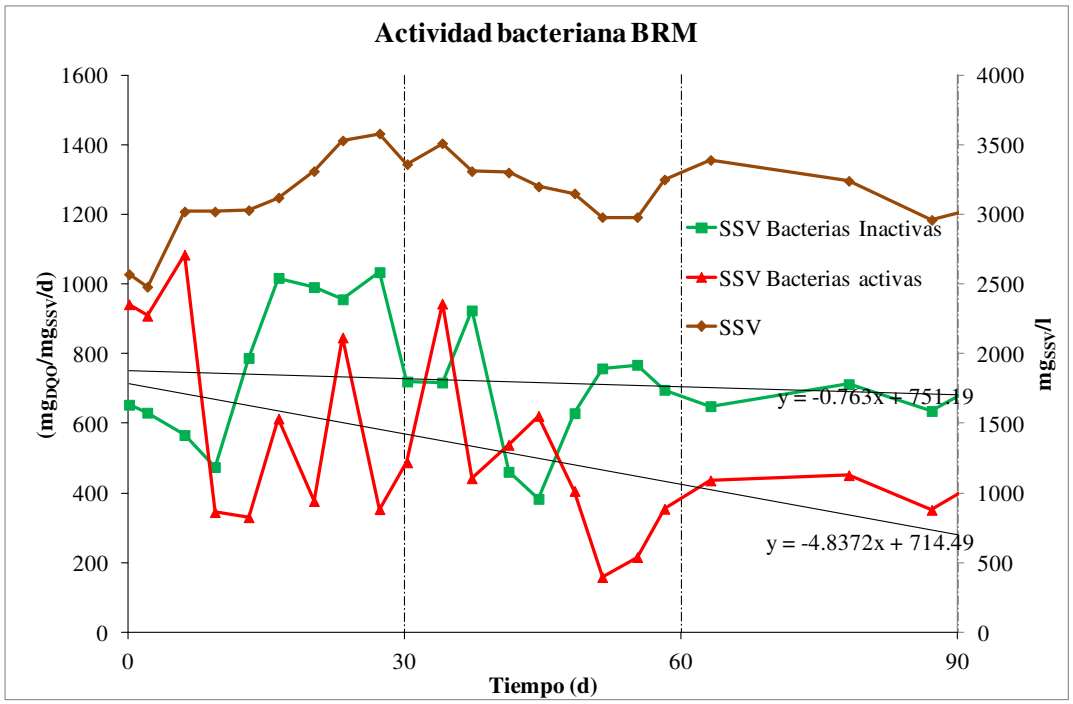


FIGURA 57 Fracción de la población bacteriana activa en el BRM

5. CONCLUSIONES

Analizar la actividad bacteriana en un biorreactor con membranas sumergidas operado bajo una CO constante a lo largo y durante la estabilización del reactor.

Con base en los resultados y bajo las condiciones de operación utilizadas se concluye que:

1.- En lo relativo a la eficiencia de filtración:

- el periodo de operación del BRM fue muy corto para presentar una colmatación que requiriera una regeneración de la membrana y por el contrario, la operación de la filtración se mantuvo sin cambio en la PTM a causa del bajo flujo membranal con el que se operó el reactor.
- en base a la conformación global de la suspensión biológica se presentan floculos con menores inclusiones de EPS al interior lo que influye directamente en la filtración y produce un ligero y constante incremento de la PTM al final de la corrida.

2.- Respecto a la eficiencia global del BRM:

- se mantuvo una alta eficiencia global de degradación de sustrato (98.6 %), con algunos eventos puntuales que reflejan el proceso de adaptación de la biomasa en la transición de un LA a un BRM que aparte de ven reflejados con la fracción de la biomasa activa que se aprecia con el cambio metabólico durante los 90 días de operación en el segundo tercio de la fase.

3.- Con base en los experimentos realizados en los reactores *batch*:

- La disminución de consumo el segundo tercio de la Ce atiende a un aparente cambio metabólico y la inactividad de 70% de la población total de bacterias aparentemente que además apunta a tener una tercera etapa en la Ce con mayores porcentajes de eficiencia y mayor actividad bacteriana y con una menor carga de células activas.

- existe una adaptación biocinética de la biomasa, derivada del incremento de biomasa en el BRM, que permite una mayor capacidad de degradación de contaminantes por unidad de volumen de reactor.

- del incremento de biomasa en el BRM, generado por la retención total de sólidos, hay una fracción que permanece en estado de latencia, condición que permite que este tipo de reactores sea capaz de degradar picos de carga orgánica.

4.- Respecto a proporción población bacteriana, que se encuentra activa por medio de técnicas de fluorescencia:

- hay un cambio en el metabolismo microbiano que se presenta de forma paulatina debido a las condiciones de retención total de sólidos, estos cambios son principalmente originados por las bajas inclusiones de EPS dentro de los floculos.
- hay un cambio a nivel biocinético en el BRM, con una disminución de las tasas de respiración específica de la biomasa, como medida global de operación, debido a la fracción de la biomasa activa que se determino en un 20% dentro del BRM.

- dados los ciclos de síntesis, acumulación y consumo de productos de reserva de energía y las bajas cargas orgánicas másicas con las que regularmente operan los BRM, sería importante estimar un coeficiente de decaimiento kd fraccionado, en función del tipo de sustrato.

5.- Respecto a lo posibles correlaciones entre los parámetros cinéticos con la fracción de la población bacteriana activa:

- dados los ciclos de síntesis, acumulación y consumo de productos de reserva de energía y las bajas cargas orgánicas másicas con las que regularmente operan los BRM, están directamente relacionados con las bajas concentraciones de células activas.

5.1.VALIDACIÓN DE OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Analizar la actividad bacteriana en un biorreactor con membranas sumergidas operado bajo diversas cargas orgánicas a lo largo y durante la estabilización del reactor.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar los parámetros cinéticos de la operación del BRM.

CUMPLIDO: mediante el análisis de los parámetros de operación con los que se le dio seguimiento al BRM durante toda la fase experimental, tanto en lo relativo a la filtración degradación de sustrato, crecimiento y actividad bacteriana.

2. Determinar la proporción población bacteriana, que se encuentra activa por medio de técnicas de fluorescencia.

CUMPLIDO: a través del montaje de las técnicas de fluorescencia y el análisis de imágenes para determinar la fracción de la población activa dentro del reactor.

3. Analizar posibles correlaciones entre los parámetros cinéticos con la fracción de la población bacteriana activa.

CUMPLIDO: mediante la comparación de los resultados obtenidos de las variables operativas del BRM y de los estudios por lotes en los *batch*.

5.2.VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS

La actividad de la biomasa en suspensión, medida en función de la degradación y remoción de contaminantes orgánicos, es mayor en los biorrectores con membranas con respecto a los sistemas convencionales, debido a una fracción de la población bacteriana que se encuentran activa dentro del biorreactor con membranas.

HIPÓTESIS VALIDADA ya que la actividad de la biomasa en suspensión, medida en función de la degradación y remoción de contaminantes orgánicos, es mayor en los biorrectores con membranas con respecto a los sistemas convencionales, debido a una fracción de la población bacteriana que se encuentra altamente activa, a causa de las mismas condiciones de retención total de sólidos, características de estos reactores.

6. BIBLIOGRAFÍA

ADHAM S. Y DECAROLIS J. (2004). “OPTIMIZATION OF VARIOUS MBR SYSTEMS FOR WÁTER RECLAMATION – PHASE III”. DESALINATION RESEARCH AND DEVELOPMENT PROGRAM REPORT NO 103, PROJECT N° 01-FC-81-0736, BUREAU OF RECLAMATION, DENVER COLORADO. 58 PP.

AMENEIROS J.A. Y GARCÍA O. (2003). "COMPOSTEO DE LODOS GENERADOS EN SISTEMAS DE TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES", CIMAB, LA HABANA, CUBA. 1-5 PP.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA), AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION (AWWA) Y WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION (WPCF) (1992). “MÉTODOS NORMALIZADOS, PARA EL ANÁLISIS DE AGUAS POTABLES Y RESIDUALES”, ED. DÍAZ DE SANTOS, S. A., ISBN 84-7978-031-2. 1715 PP.

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION RESEARCH FOUNDATION (AWWARF), LYONNAISE DES EAUX Y WATER RESEARCH COMMISSION OF SOUTH AFRICA (1998). “WATER TREATMENT MEMBRANE PROCESSES” MC. GRAW HILL INC., ISBN: 84-481-1206-7. 320 PP.

AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION RESEARCH FOUNDATION., LYONNAIS DOS EAUX. WATER RESEARCH COMMISSION OF SOUTH AFRICA. EDIT. (1998). MC GRAW HILL. ISBN: 0-07-001559-7

ARTIGA P., GARCÍA-TORIELLO G, GARRIDO J. M. Y MÉNDEZ R. (2006). “BIORREACTORES DE MEMBRANA: UNA TECNOLOGÍA AVANZADA PARA LA DEPURACIÓN Y REUTILIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES”. TECNOLOGÍA DEL AGUA. VOL. 269. 54-60 PP.

ASCE, W.-. (1998). "DESIGN OF MUNICIPAL WASTEWATER TREATMENT PLANTS, VOL. 2." USA.

ASCE, WEF (1998). “DESIGN OF MUNICIPAL WASTEWATER TREATMENT PLANTS”, ASCE MANUALS AND REPORTS FIFTH EDITION, MC. GRAW HILL INC. VOL. 2 LIQUID TREATMENT PROCESSES, USA, 11-19 PP.

AULENTA F., DIONISI D., MAJONE M., PARISI A., RAMADORI R. Y TANDOI V. (2003). “EFFECT OF PERIODIC FEEDING IN SEQUENCING BATCH REACTOR ON SUBSTRATE UPTAKE AND STORAGE RATES BY A PURE CULTURE OF AMARICOCCUS KAPLICENSIS”, WAT. RES. 37: 2764-2772 PP.

BARKIN, DAVID (2006). "LA GESTIÓN DEL AGUA URBANA EN MÉXICO: RETOS, DEBATES Y BIENESTAR". UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA, MÉXICO 336 PP.

BEUN J. J., DIRCKS K., VAN LOOSDRECHT M. C. M. Y HEIJNEN J. J. (2002). “POLY-BHYDROXYBUTYRATE METABOLISM IN DYNAMICALLY FED MIXED MICROBIAL CULTURES”, WAT. RES. 36: 1167-1180 PP.

BOLLER M., GUJER W. Y NYHUIS G. (1986) NITRIFICATION IN TERTIARY TRICKLING FILTERS FOLLOWED BY DEEP BED FILTERS. WAT RES. 20, 1363. (CITADO POR RUSTEN, 1995).

BRANNOCK, M.W.D., WANG, Y. Y LESLIE, G.(2010).“EVALUATION OF FULL-SCALE MEMBRANE BIOREACTOR MIXING PERFORMANCE AND THE EFFECT OF MEMBRANE CONFIGURATION“. J. MEMBR. SCI. 350: 101–108 PP.

BROCK T. D. Y MADIGAN M. T. (1993) MICROBIOLOGÍA ED. PRENTICE HALL HISPANOAMERICANA SEXTA EDICIÓN, PP. 100-130, 327-354, 775-781.

BROOK T. D. Y MADIGAN M. T. (1993). “MICROBIOLOGÍA”, NAUCALPAN DE JUÁREZ , MÉXICO, PRENTICE HALL. 1011 PP.

BURA R., CHEUNG M., LIAO B., FINLAYSON J., LEE B. C., DROPPO G., LEOPARD G. G. Y LISS S. N. (1998). “COMPOSITION OF EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES IN THE ACTIVATED SLUDGE FLOC MATRIX”. WAT. SCI. TECHNOL. 37(4-5): 325-333 PP.

CANALES A., PAREILLEUX A., ROLS J. L., GOMA G. Y HUYARD A. (1994). “DECREASED SLUDGE PRODUCTION FOR DOMESTIC WASTEWATER TREATMENT”, WAT. SCI. TECHNOL. 30(8): 97- 106 PP.

CHANG I.S., LE CLECH P., JEFFERSON, B., Y JUDD S. (2002). “MEMBRANE FOULING IN MEMBRANE BIOREACTORS FOR WASTEWATER TREATMENT”. JOURNAL OF ENVIRONMENTAL ENGINEERING. 128: 1018-1029 PP.

CHARACKLIS, W.G. ET MARSHALL, K.C. (1990). "BIOFILMS." NEW YORK, WILEY.

CHAUDHRY M. A. S. Y BEG S. A. (1998) A REVIEW ON THE MATHEMATICAL MODELING OF BIOFILM PROCESS: ADVANCES IN FUNDAMENTALS OF BIOFILM MODELING. CHEM. ENG. TECHNOL. 21-9, 701-710.

CHO B. D. Y FANE A. G. (2002) FOULING TRANSIENTS IN NOMINALLY SUB-CRITICAL FLUX OPERATION OF A MEMBRANE BIOREACTOR, J. MEMBR. SCI. 209: 391–403 PP.

CHOI E. H., KLAPWIJK B., MELS A. Y H. BROUWER H. (2006). “EVALUATION OF WASTEWATER CHARACTERIZATION METHODS”. WAT. SCI. TECHNOL. VOL 52 NO 10–11: 61–68 PP.

CHOI J.H. Y NG H. Y. (2008). “EFFECT OF MEMBRANE TYPE AND MATERIAL ON PERFORMANCE OF A SUBMERGED MEMBRANE BIOREACTOR”. J. MEMBR. SCI. 71: 853-859 PP.

CHUDOBA J. (1985). “INHIBITORY EFFECT OF REFRACTORY ORGANIC COMPOUNDS PRODUCED BY ACTIVATED SLUDGE MICROORGANISMS ON MICROBIAL ACTIVITY AND FLOCCULATION”. WAT. RES. 19(2): 197-200 PP.

CHUDOBA J. (1985A). “QUANTITATIVE ESTIMATION IN COD UNITS OF REFRACTORY ORGANIC COMPOUNDS PRODUCED BY ACTIVATED SLUDGE MICROORGANISMS”. WAT. RES. 19: 37-43 PP.

CHUDOBA, P., CHANG, J. ET CAPDEVILLE, B. (1991). “SYNCHRONIZED DIVISION OF ACTIVATED SLUDGE MICROORGANISMS.” WAT. RES. 25(7), 817-822.

CHUDOBA, P., CHEVALIER, J.-J., CHANG, J. ET CAPDEVILLE, B. (1990). "EFFECTS OF ANAEROBIC STABILIZATION OF ACTIVATED SLUDGE ON ITS PRODUCTION UNDER BATCH CONDITIONS AT VARIOUS SO/XO RATIO." 15TH IAWPRC BIENNAL CONF., THE 25TH ANIVERSARY CONF. AND EXHIB., KYOTO, JAPAN.

CICEK N., FRANCO J. P., SUIDAN M. T., URBAIN V., 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 ENVIRONMENT RESEARCH. 71: 64-70 PP.

CLARA M., STRENN B., GANS O., MARTINEZ E., KREUZINGER N., KROISS H.(2005) “REMOVAL OF SELECTED PHARMACEUTICALS, FRAGRANCES AND ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS IN A MEMBRANE BIOREACTOR AND CONVENTIONAL WASTEWATER TREATMENT PLANTS”. WAT. RES. 39: 4797–4807 PP.

CLIFTON C. E. (1963). “INFLUENCE OF GROWTH MEDIUM IN ASSIMILATORY ACTIVITIES OF ESCHERICHIA COLI”. J. BACTERIA. 85: 1371-1377 PP.

CONFER D. R. Y LOGAN B. E. (1998). “LOCATION OF PROTEIN AND POLYSACCHARIDE HYDROLYTIC ACTIVITY IN SUSPENDED AND BIOFILM WASTEWATER CULTURES”. WAT. RES. 32(1): 31-38 PP.

CRITES R. Y TCHOBANOGLOUS G. (2004). “TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN PEQUEÑAS POBLACIONES”. ED. MC GRAW HILL, COLOMBIA. ISBN 9584100424, 776 PP.

CRITES R., TCHOBANOGLOUS G. (2000). TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN PEQUEÑAS POBLACIONES. ED MC GRAW HILL, IMPRESO EN, COLOMBIA, 2000. PP. 823-856

CRITES R., TCHOBANOGLOUS G. (2004). TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN PEQUEÑAS POBLACIONES. ED MC GRAW HILL, IMPRESO EN, COLOMBIA, 2004. PP. 345-358.

DAIGGER G. T. Y GRADY C. P. L. (1977). “A MODEL FOR THE BIO-OXYDATION PROCESS BASED ON PRODUCTS FORMATION CONCEPTS”. WAT. RES. 11: 1049-1057 PP.

DAIGGER G. T. Y GRADY C. P. L. (1982). “THE DYNAMICS OF MICROBIAL GROWTH ON SOLUBLE SUBSTRATES”. WAT. RES. 16: 365-382 PP.

DAIGGER T. D., RITTMANN B. E., ADHAM S. Y ANDREOTTOLA G. (2005) ARE MEMBRANE BIOREACTORS READY FOR WIDESPREAD APPLICATION?”. ENVIRON SCI. TECHNOL. 39 (18): 399A-406A PP.

DAIGGER, G.T. Y LESLIE GRADY JR., C.P. (1982). “THE DYNAMICS OF MICROBIAL GROWTH ON SOLUBLE SUBSTRATES.” WAT. RES. 16, 365-382.

DAIGGER, G.T. Y GRADY, C.P.L. (1977). “A MODEL FOR THE BIO-OXYDATION PROCESS BASED ON PRODUCTS FORMATION CONCEPTS.” WAT. RES. 11, 1049-1057.

DAWES E. A. Y RIBBONS D. W. (1962). “THE ENDOGENOUS METABOLISM OF MICRO-ORGANISMS”, ANN. REV. MICROBIOL. 16: 241-264 PP.

DECAROLIS F. J. JR Y ADHAM S. (2007). “PERFORMANCE INVESTIGATION OF MEMBRANE BIOREACTOR SYSTEMS DURING MUNICIPAL WASTEWATER RECLAMATION”. WAT. ENVIRON. RES. 79: 2536-2550 PP.

DELGADO S., DIAZ F., VERA L., DIAZ R., Y ELMALEH S. (2004) “MODELLING HOLLOW-FIBREULTRAFILTRATION OF BIOLOGICALLY TREATED WASTEWATER WITH AND WITHOUT GASSPARGING.” J. MEMBR. SCI. 228(1): 55-63 PP.

DIGNAC M. F., URBAIN V., RYBACKI D. Y BRUCHET R. K. (1998). “CHEMICAL DESCRIPTION OFEXTRACELLULAR POLYMERS: IMPLICATION ON ACTIVATED SLUDGE FLOC STRUCTURE”. WAT. SCI. TECHNOL. 38: 8-9 PP.

DIONISI, D., MAJONE, M., RAMADORI, R. ET BECCARI, M. (2001). “THE STORAGE OF ACETATE UNDER ANOXIC CONDITIONS.” WAT. RES. 35(11), 2661-2668.

DOI Y., KAWAGUCHI Y., KOYAMA N., NAKAMURA S., HIRAMITSU M. Y KIMURA H. (1992). “SYNTHESIS AND DEGRADATION OF POLYHYDROXYALKANOATES IN ALCALIGENES EUTROPHUS”. FEMS MICROBIOL. REV. 103: 103-108 PP.

DOUDOROFF M. Y STANIER R. Y. (1959). “ROLE OF POLY-B-HYDROXYBUTYRIC ACID IN THE ASSIMILATION OF ORGANIC CARBON BY BACTERIA”. NATURE 182: 1440-1442 PP.

DRICKS, K., HENZE, M. ET VAN LOOSDTRECHT, M.C.M. (2001). “STORAGE AND DEGRADATION OF PLOY-B-HYDROXYBUTIRATE IN ACTIVATED SLUDGE UNDER AEROBIC CONDITIONS.” WAT. RES. 35(9), 2277-2285.

ESPINOSA-BOUCHOT M. Y CABASSUD C. (2003). “GAS SPARGING IN A MEMBRANE BIOREACTOR FOR WASTEWATER TREATMENT”. IMSTEC'03, INTERNATIONAL MEMBRANE SCIENCE AND TECHNOLOGY CONFERENCE, SYDNEY-AUSTRALIA 2003.

ESPINOSA-BOUCHOT M., MASSE A., SPERANDIO M. Y CABASSUD C. (2003). “CARACTERISATION DU COLMATAGE ET DE L’ACTIVITE BIOLOGIQUE DANS UN BIOREACTEUR A MEMBRANES (BAM) EXTERNES EN FILTRATION FRONTALE“. COLLOQUE FRANCOPHONE MEMPRO, INTEGRATION DES MEMBRANES DANS LES PROCEDES, MONTPELLIER 2003.

EUROMBRA (2006). “D5 - LITERATURE REVIEW ON AERATION AND MAIN OPERATING CONDITIONS IN MEMBRANE BIOREACTORS” MEMBRANE BIOREACTOR TECHNOLOGY (MBR) WITH AN EU PERSPECTIVE FOR ADVANCED

MUNICIPAL WASTEWATER TREATMENT STRATEGIES FOR THE 21ST CENTURY INSA. TOULOUSE FRANCE 2006.

FANE A. (2002). “MEMBRANE BIOREACTORS: DESIGN & OPERATIONAL OPTIONS” FILTRATION & SEPARATION; 39(5): 26-29 PP.

FANE, A. Y LESLIE, G. (2004). "MEMBRANE TECHNOLOGY - THE KEY TO WATER REUSE." IWA SPECIALICED CONFERENCE ON WATER ENVIRONEMENT MEMBRANE TECHNOLOGY (WEMT2004), SEOUL, IWA, DEL 4 AL 7 DE MAYO DEL 2004.

FROLUND B., PALMGREN R., KEIDING K. Y NIELSEN P. H. (1996). “EXTRACTION OF EXTRACELLULAR POLYMERS FROM ACTIVATED SLUDGE USING A CATION EXCHANGE RESIN”. WAT. RES. 30(8): 1749-1758 PP.

FROLUND, B., PALMGREN, R., KEIDING, K. ET NIELSEN, P.H. (1996). “EXTRACTION OF EXTRACELLULAR POLYMERS FROM ACTIVATED SLUDGE USING A CATION EXCHANGE RESIN.” WAT. RES. 30(8), 1749-1758.

G. TAGUCHI Y S. KONISHI. (1988); ARREGLOS ORTOGONALES Y GRÁFICAS LINEALES.

GANDER M., JEFFERSON B. Y JUDD S. (2000). “AEROBIC MBRS FOR DOMESTIC WASTEWATER TREATMENT”. REVIEW WITH COST CONSIDERATIONS. SEPARATION AND PURIFICATION TECHNLOGY. 18: 119-130 PP.

GAUDY A. F., YANG P. Y. Y OBAYASHI A. W. (1971). “STUDIES ON THE TOTAL OXYDATION OF ACTIVATED SLUDGE WITH AND WITHOUT HYDRAULIC TREATMENT” JWPCF. 43: 471-483 PP.

GERMAIN E., STEPHENSON T. Y PEARCE P. (2005), “BIOMASS CHARACTERISTICS AND MEMBRANE AERATION: TOWARD A BETTER UNDERSTANDING OF MEMBRANE FOULING IN SUBMERGED MEMBRANE BIOREACTORS (MBRS)”, BIOTECHNOL. BIOENG. 90: 316–322 PP.

GERMAIN, E., STEPHENSON, T. ET PEARCE, P. (2004). "MBR BIOMASS CHARACTERISTICS AND MEMBRANE AERATION: THEIR INFLUENCE ON MEMBRANE FOULING." 9TH WORLD FILTRATION COGRESS, NEW ORLEANS, USA, ABRIL DEL 2004.

GIORDANO C., POLLICE A., LAERA G., SATURNO D. Y MININNI G. (2007). “INFLUENCE OF SOLID RETENTION TIME ON THE RHEOLOGY OF MBR SLUDGE”, WAT. SCI. TECHNOL. 56: 151-159 PP.

GONZÁLEZ-OLIVEROS J. M. (2000) LA PRECIPITACIÓN QUÍMICA COMO ALTERNATIVA O COMPLEMENTO AL TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE LAS AGUAS RESIDUALES. TERCER SEMINARIO EN TRATAMIENTO QUÍMICO DEL AGUA. TRATAMIENTO QUÍMICO DE AGUAS RESIDUALES INDUSTRIALES Y MUNICIPALES. KEMIRA IBÉRICA, S. A. COLEGIO DE INNGENIEROS AMBIENTALES DE MÉXICO, A. C., EMBAJADA DE SUECIA EN MÉXICO, INSTITUTO DE INGENIERÍA, KEMWATER DE MÉXICO Y STOCKHOLM VATTEN.

GRADY C. P. L. Y ROPER R. E. (1974). “A MODEL FOR THE BIO-OXIDATION PROCESS WHICH INCORPORATES THE VIABILITY CONCEPT”, WAT. RES. 8: 471-483 PP.

GREGOR, H. P. Y GREGOR C. D. (1978). “SYNTHETIC MEMBRANE TECHNOLOGY”, SCIENTIFIC AMERICAN, 239(1):112-128 PP.

GUO W. S., VIGNESWARAN S., NGO H. H. Y XING W. (2008). “COMPARISON OF MEMBRANE BIOREACTOR SYSTEMS IN WASTEWATER TREATMENT”, ELSEIVER DESALINATION, 231: 61- 70 PP.

HAI F. I., YAMAMOTO K., Y FUKUSHI K. (2005) “DIFFERENT FOULING MODES OF SUBMERGED HOLLOW-FIBER AND FLAT-SHEET MEMBRANES INDUCED BY HIGH STRENGTH WASTEWATER WITH CONCURRENT BIOFOULING”. ELSEIVER DESALINATION, 180: 89-97 PP.

HEJZLAR J. Y CHUDOBA J. (1986). “MICROBIAL POLYMERS IN THE AQUATIC ENVIRONMENT – I PRODUCTION BY ACTIVATED SLUDGE MICROORGANISMS UNDER DIFFERENT CONDITIONS”. WAT. RES. 20(10): 1209-1216 PP.

HELMER C. Y KUNST S. (1997) SIMULTANEOUS NITRIFICATION/DENITRIFICATION IN AN AEROBIC BIOFILM SYSTEM, SECOND INTERNATIONAL CONFERENCE ON MICROORGANISMS IN ACTIVATED SLUDGE AND BIOFILM PROCESS, BERKLEY, CALIF., ED. O. JENKNS Y S.W. HERMANOWICZ

HENRY G. (1999). “CONTAMINACIÓN DEL AGUA” HENRY, G. & G. HEINKE (EDS.), INGENIERÍA AMBIENTAL. ED. PEARSON, MÉXICO DF. 421-491 PP.

HIGGINS M. Y NOVAK J. T. (1997A). “DEWATTERING AND SETTLING OF ACTIVATED SLUDGES: THE USE FORUSING CATION ANALYSIS”. WAT. ENVIRON. RES. 69: 225-232 PP.

HIPPE H. Y SCHEGEL H. G. (1967). “HYDROLYSE VON PHB’S DURCH INTRAZELLUÄRE DEPOLYMERASE VON HYDROGENOMONAS H16”, ARCH. MICROBIOL. 56: 278-299PP.

HONG S. P., BAE T. H., TAK, T. M., HONG S. Y RANDALL, A. (2002) “FOULING CONTROL IN ACTIVATED SLUDGE SUBMERGED HOLLOW FIBER MEMBRANE BIOREACTORS.” ELSEIVER DESALINATION 143(3): 219-228 PP.

HUANG X., LIU R. Y QIAN Y. (2000) “BEHAVIOUR OF SOLUBLE MICROBIAL PRODUCTS IN A MEMBRANE BIOREACTOR”, PROCESS BIOCHEM. 36: 401–406 PP.

JIANG Y., HEBLY M., KLEEREBEZEM R., MUYZER G. Y VAN LOOSDRECHT M.C.M. (2011) “METABOLIC MODELING OF MIXED SUBSTRATE UPTAKE FOR OLYHYDROXYALKANOATE (PHA) PRODUCTION”, WAT. RES. 45: 1309-1321 PP.

JIN B., WILÉN B-M Y LANT P. (2004). “IMPACTS OF MORPHOLOGICAL, PHYSICALAND CHEMICAL PROPERTIES OF SLUDGE FLOCS ON DEWATERABILITY OF ACTIVATED SLUDGE”. CHEM. ENG. J. 98: 115-126 PP.

JORAND F. J., BOUE-BIGNE F. P., BLOCK J. C., Y URBAIN V. (1998). "HIDROPHOBIC/HYDROPHILIC PROPERTIES OF ACTIVATED SLUDGE EXOPOLYMERIC SUBSTANCES". WAT. SCI. TECHNOL. 37: 307-315 PP.

JORAND F. J., ZARTERIAN F., THOMAS F., BLOCK J. C., BOTTERO J. Y., VILLEMIN G., URBAIN V. Y MANEM J. (1995). "CHEMICAL AND STRUCTURAL (2D) LINKAGE BETWEEN BACTERIA WITHIN ACTIVATED SLUDGE FLOCS". WAT. RES. 29(7): 1639-1647 PP.

JOSS A., KELLER E., ALDER A. C., GOBEL A., MCARDELL C. S., TERNES T., SIEGRIST H. (2005) "REMOVAL OF PHARMACEUTICALS AND FRAGRANCES IN BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT". WATER RESEARCH, 39, 3139–3152 PP.

JUDD S. (2008). "THE STATUS OF MEMBRANE BIOREACTOR TECHNOLOGY", TRENDS IN BIOTECHNOLOGY. REV. 26: 109-116 PP.

JUDD, S. (2006). THE MBR BOOK: PRINCIPLES AND APPLICATIONS OF MEMBRANE BIOREACTORS IN WATER AND WASTEWATER TREATMENT, ELSEVIER LTD., LONDON, UK.

KAPRELYANTS A. S. Y KELL D. B. (1993). "DORMANCY IN NON SPORULATING BACTERIA", MICROBIOL. REV. 104: 271-286 PP.

KATSUKI K., HARA H., WATANABE Y. (2005) "REMOVAL OF PHARMACEUTICAL COMPOUNDS BY SUBMERGED MEMBRANE BIOREACTORS (MBRS)", ELSEIVER DESALINATION, 178: 135-140 PP.

KIM H., KIM H-S., YEOM I-T Y CHAE Y-B. (2005). "APPLICATION OF MEMBRANE BIOREACTOR SYSTEM WITH FULL SCALE PLANT ON LIVESTOCK WASTEWATER" WAT. SCI. TECHNOL. 51: 465-471 PP.

KIM J-Y., CHANG I-S., SHIN D-H. Y PARK H-H. (2008). "MEMBRANE FOULING CONTROL THROUGH THE CHANGE OF THE DEPTH OF A MEMBRANE MODULE IN A SUBMERGED MEMBRANE BIOREACTOR FOR ADVANCED WASTEWATER TREATMENT", J. MEMBR. SCI., 231: 35-43 PP.

LAERA, G., POLLICE, A., SATURNO, D., GIORDANO, C. & LOPEZ, A. 2005 ZERO NET GROWTH IN A MEMBRANE BIOREACTOR WITH COMPLETE SLUDGE RETENTION. WATER RES. 39, 5241–5249.

LASPIDOU C. S. Y RITTMAN B. E. (2002). "A UNIFIED THEORY FOR EXTRACELLULAR POLYMERIC SUBSTANCES, SOLUBLE MICROBIAL PRODUCTS, AND ACTIVE AND INERT BIOMASS". WAT. RES. 36: 2711-2720 PP.

LAW B. A. (1980). "TRANSPORT AND UTILIZATION OF PROTEINS BY BACTERIA IN MICROORGANISMS AND NITROGEN SOURCES", ED. WILEY, NEW YORK, 687 PP.

LE-CLECH P., JEFFERSON B. Y JUDD J. S. (2003), "IMPACT OF AERATION, SOLIDS CONCENTRATION AND MEMBRANE CHARACTERISTICS ON THE HYDRAULIC PERFORMANCE OF A MEMBRANE BIOREACTOR", J. MEMBR. SCI. 218: 117–129 PP.

LESJEAN, B., ROSENBERGER, S., LAABS, C., JEKEL, M., GNIRSS, R. ET AMY, G. (2004). "COORELATION BETWEEN MEMBRANE FOULING AND SOLUBLE/COLLOIDAL ORGANIC SUBSTANCES IN MEMBRANE BIOREACTORS FOR MUNICIPAL WASTEWATER TREATMENT." WATER ENVIRONMENT-MEMBRANE TECHNOLOGY (WEMT), SEOUL, IWA. DEL 4 AL 7 DE MAYO DEL 2004.

LIM A. L. Y BAI R. (2003) "MEMBRANE FOULING AND CLEANING IN MICROFILTRATION OF ACTIVATED SLUDGE WASTEWATER." J. MEMBR. SCI. 216(1-2): 279-290 PP.

LOBOS J., WISNIEWSKY C., HERAN M. Y GRASMICK A. (2007) "CONTINUOUS AND SEQUENCING MEMBRANE BIOREACTORS APPLIED TO FOOD INDUSTRY EFFLUENT TREATMENT". WAT. SCI. TECHNOL. 56: 71-77 PP.

LOBOS, J., WISNIEWSKI, C., HÉRAN, M. ET GRASMICK, A. (2004). "EFFECT OF STARVATION CONDITIONS ON BIOMASS BEHAVIOUR FOR MINIMIZATION OF SLUDGE PRODUCTION IN MEMBRANE BIOREACTORS." WATER ENVIRONMENT-MEMBRANE TECHNOLOGY (WEMT), IWA; SEOUL, COREA.

LOGAN B. E., (1999) "ENVIRONMENTAL TRANSPORT PROCESSES", ED. WILEY, NEW YORK, 672 PP.

LOW E. W. Y CHASE H. A. (1999). "REDUCING PRODUCTION OF EXCESS BIOMASS DURING WASTEWATER TREATMENT". WAT. RES. 33: 1119-1132 PP.

LURIE M. Y REBHUM M. (1997). "EFECT OF POLYELECTROLITES ON THEIR ACTION WITH PARTICULATES AND SOLUBLE ORGANICS". WAT. RES. 36: 93-101 PP.

MACKENZIE (2005). "INGENIERÍA Y CIENCIAS AMBIENTALES", ED. MC GRAW HILL, ISBN:9789701049785, 750 PP.

MAJONE, M., DRICKS, K. ET BEUN, J.J. (1999). "AEROBIC STORAGE UNDER DYNAMIC CONDITIONS IN ACTIVATED SLUDGE PROCESSES. THE STATE OF THE ART." WAT. SCI. TECH. 39(1), 61-73.

MANEM J., BEAUBIEN A., BATY M., JEANNOT F., FRANCOEUR E. (1996), "DESIGN AND OPERATION OF ANAEROBIC MEMBRANE BIOREACTORS: DEVELOPMENT OF A FILTRATION TESTING STRATEGY", J. MEMBR. SCI. 109: 173-184 PP.

MANZ W., WAGNER M., AMANN RUDOLF Y SCHLEIFER K-H. (1993). "IN SITU CHARACTERIZATION OF THE MICROBIAL CONSORTIA ACTIVE IN TWO WASTEWATER TREATMENT PLANTS". WAT. RES. 28: 1715-23 PP.

MATHEWS C. K., VAN HOLDE K. E. Y AHERN K. G. (2006). "BIOQUÍMICA", ED. PEARSON, ISBN 10: 84-7829-053-2, 1335 PP.

MENG F., CHAE S. R., DREWS A., KRAUME M., SHIN H. S. Y YANG F. (2009), "RECENT ADVANCES IN MEMBRANE BIOREACTORS (MBRS): MEMBRANE FOULING AND MEMBRANE MATERIAL", WAT. RES. 43: 1489–1512 PP.

METCALF Y EDDY, INC. “INGENIERÍA DE AGUAS RESIDUALES; TRATAMIENTO, VERTIDO Y REUTILIZACIÓN”. SEP. 1996, 3A ED, MC-GRAW HILL. MÉXICO. VOL 1, ISBN 0-07-041690-7, 1485 PP.

METCALF., EDDY. (1996). INGENIERÍA DE AGUAS RESIDUALES. TRATAMIENTO, VERTIDO Y REUTILIZACIÓN. EDIT. MC GRAW HILL. VERSIÓN EN ESPAÑOL TOMO I Y II. ISBN: 970-10-1005-1

METCALF., EDDY. (2003). WASTE WÁTER INGENIERING TREATMET AND REUSE. EDIT. MC GRAW HILL. 4TH EDICION. (2003)., ISBN: 0-07-041878-0

MOLINA-MUÑOZ M. L. (2007) “ESTUDIO DE LOS PROCESOS MICROBIANOS IMPLICADOS EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES URBANAS MEDIANTE BRMS”, ED. UNIVERSIDAD DE GRANADA, ISBN 978-84-338-4288-6, 239 PP.

NAPIER-REID, (2007) “BIO REACTOR DE MEMBRANA BRM”; BRM DE N-R, CANADA. ED MARKHAM, 4 PP.

NIELSEN P. H., FRONLUND B., SRING S. Y CACCAVO F. (1997). “MICROBIAL FE (III) REDUCTION ACTIVATED SLUDGE”. J. SYST. APPL. MICROBIOL. 20: 645 PP.

NOBLE R. D. Y TERRY P. A. (2004). “PRINCIPLES OF CHEMICAL SEPARATIONS WITH ENVIRONMENTAL APPLICATIONS”. CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, CAMBRIDGE, INGLATERRA, ISBN : 978-0521010146, 334 PP.

OGNIER S., WISNIEWSKI C. Y GRASMICK A. (2004). "MEMBRANE BIOREACTOR FOULING IN-SUBCRITICAL FILTRATION CONDITIONS: A LOCAL CRITICAL FLUX CONCEPT". J. MEMBR. SCI. 229: 171-177 PP.

ORANTES A., J. C. (2005). "CINETIQUES REACTIONNELLES ET PERFORMANCES DE FILTRATION EN BIOREACTEUR A MEMBRANES IMMERGES SOUS RETENTION TOTALE DE BIOMASSE". TESIS DE DOCTORADO EN INGENIERÍA DE PROCESOS, PRESENTADA EL 5 DE MAYO DEL 2005, UNIVERSITÉ MONTPELLIER II.

ORANTES A., J. C. Y ALFARO C.V.N., R. (2007). 3ER CONGRESO ESTATAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, COECYT OCTUBRE DEL 2007: 1-3 PP.

ORANTES A., J.C. MÁRQUEZ B., L., HERNÁNDEZ B., M.C., WISNIEWSKI, C., HÉRAN, M. Y GRASMICK, A. (2008). “LOS BIORREACTORES CON MEMBRANAS SUMERGIDAS, UNA ALTERNATIVA DE TRATAMIENTO DE AGUA RESIDUAL CON POSIBILIDAD DE REUSO“. XVI CONGRESO DE INGENIERÍA SANITARIA Y CIENCIAS AMBIENTALES; FEMISCA, AIDIS, MÉXICO, D.F. 2008.

ORANTES J., WISNIEWSKI C., HÉRAN M. Y GRASMICK A. (2006). “THE INFLUENCE OF OPERATING CONDITIONS ON PERMEABILITY CHANGES IN A SUBMERGED MEMBRANE BIOREACTOR”. SEP. PUR. TECHNOL. (52) 60-66 PP.

ORANTES, J. Y ALFARO, R. (2007). 3ER CONGRESO ESTATAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, COECYT. 1-3

PAINTER H. A. (1983). “METABOLISM AND PHYSIOLOGY OF AEROBIC BACTERIA AND FUNGI, IN ECOLOGICAL ASPECTS OF USED-WATER

TREATMENT: BIOLOGICAL ACTIVITIES AND TREATMENT PROCESSES", LONDON: ACADEMIC PRESS, VOL. 2, 11–75 PP.

PANKHANIA M, STEPHENSON T. Y SEMMENS M. J. (1994). "HOLLOW FIBRE BIOREACTOR FOR WASTEWATER TREATMENT USING BUBBLELESS MEMBRANE AERATION". WAT. RES. 28: 2233-2236 PP.

PELMONT J. (1993). "BACTERIES ET ENVIRONNEMENT, ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES". GRENOBLE, PRESSES UNIVERSITAIRES DE GRENOBLE, ISBN :978-2706105029, 899 PP.

PIRT S. J. (1965). "THE MAINTENANCE ENERGY OF BACTERIA IN GROWING CULTURES". PROC. ROY. SOC. LONDON 163(B): 224-231 PP.

PITTER P. Y CHUDOBA J. (1990). "BIODEGRADABILITY OF ORGANIC SUBSTANCES IN THE AQUATIC ENVIRONMENT". FLORIDA, USA, CRC PRESS, ISBN:978-3-527-61444-8, 579 PP.

POLLICE A., LAERA G., SATURNO D., GIORDANO C. AND SANDULLI R. (2008). "OPTIMAL SLUDGE RETENTION TIME FOR A BENCH SCALE MBR TREATING MUNICIPAL SEWAGE", WAT. SCI. TECHNOL., 57(3): 319-322 PP.

PRIESKE, H., TACKE, D., BAUMGARTEN, S., PINNEKAMP, J., DREWS, A. Y KRAUME, M. (2006). "AERATION OF A MEMBRANE BIO REACTOR IN AN AIRLIFT LOOP CONFIGURATION". 5TH EUROPEAN MEETING ON CHEMICAL INDUSTRY AND ENVIRONMENT (EMCHIE-2006), VIENNA, AUSTRIA, 219-226 PP.

PRODUCTION BY ACTIVATED SLUDGE MICROORGANISMS UNDER DIFFERENT CONDITIONS." WAT. RES. 20(10), 1209-1216.

R. S. RAMALHO., (2003). TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES. EDIT. REVERTÉ, S. A. CUARTA REIMPRESIÓN (1998). ISBN: 84-291-7975-5 PP.

RAMALHO R. S., JIMÉNEZ B. D. Y DE LORA F. (1996). "TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES" 1ª EDICIÓN, ED. REVERTÉ S.A. BARCELONA, ESPAÑA, ISBN 97-884-2917-9750, 716 PP.

ROBERTS J. A., SUTTON P. M., MISHRA P. N. (2000) "APPLICATION OF THE MEMBRANE BIOLOGICAL REACTOR SYSTEM FOR COMBINED SANITARY AND INDUSTRIAL WASTEWATER TREATMENT", INT. BIODETERIOR. BIODEGRAD. , 46 (1): 37-42 PP.

ROMERO ROJAS J. A. (2005). "LAGUNAS DE ESTABILIZACIÓN DE AGUAS RESIDUALES" ED. ESC. COLMB, ISBN: 10:9588060508, 300 PP.

RUSTEN B., DEGAARD H. Y LUNDAR A. (1992) TREATMENT OF DAIRY WASTEWATER IN A NOVEL MOVING BED BIOFILM REACTOR. WAT. SCI. TECH. 26-3/4, 703-711.

RUSTEN B., SILJUDALEN J.G. Y NORDEIDET B. (1994) UPGRADING TO NITROGEN REMOVAL WITH THE KMT MOVING BED BIOFILM PROCESS; WAT. SCI. TECH. 29-12, 185 195.

SPÉRANDIO, M. Y PAUL, E. (2000). “ESTIMATION OF WASTEWATER BIODEGRADABLE COD FRACTIONS BY COMBINING RESPIROMETRIC EXPERIMENTS IN VARIOUS SO/XO RATIOS.” WAT. RES. 34(4), 1233-1246.

SPONZA, D.T. (2002). “EXTRACELLULAR POLYMER SUBSTANCES AND PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF FLOCS IN STEADY- AND UNSTEADY-STATE ACTIVATED SLUDGE SYSTEMS.” PROCESS BIOCHEM. 37, 983-998.

SUDESH, K., ABE, H. ET DOI, Y. (2000). “SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES OF POLYHYDROXYALKANOATES: BIOLOGICAL POLYESTERS.” PROG. POLYM. SCI. 25, 1503-1555.

SURAMPALLI R. Y., TYAGI R. D., SCHEIBLE O.K. Y HEIDMAN J. A. (1997) NITRIFICATION, DENITRIFICATION AND PHOSPHORUS REMOVAL IN SEQUENTIAL BATCH REACTORS. BIORESOURCE TECHNOLOGY, ELSEVIER SCIENCE LIMITED, 67, 151-157.

URBAIN, V., BLOCK, J.C. ET MANEM, J. (1993). “BIOFLOCCULATION IN ACTIVATED SLUDGE: AN ANALYTICAL APPROACH.” WAT. RES. 5, 829-838.

VAN LOOSDRECHT, M.C.M. ET HENZE, M. (1999). “MAINTENANCE, ENDOGENOUS RESPITRATION, LYSIS, DECAY AND PREDATION.” WAT. SCI. TECH. 39(1), 107-117.

VAN LOOSDTRECHT, M.C.M., POT, M.A. ET HEIJNEN, J.J. (1997). “IMPORTANCE OF BACTERIAL STORAGE POLYMERS IN BIOPROCESSES.” WAT. SCI. TECHNOL. 35(1), 41-47.

VISVANATHAN, C., BEN AIM, R. AND PARMESHWARAN, K. (2000). MEMBRANE SEPARATION BIOREACTORS FOR WASTEWATER TREATMENT. CRITICAL REVIEWS IN ENVIRONMENTAL SCIENCE & TECHNOLOGY, 30(1), 1–48.

WANG B., LI JUN, WANG LIN, NIE M. Y LI JI (1998) MECHANISM OF PHOSPHORUS REMOVAL BY SBR SUBMERGED BIOFILM SYSTEM. WATER RES. 32-9, 2633-2638.

WANNER, J. (2003). "CONTROL OF ACTIVATED SLUDGE FILAMENTOUS BULKING." OPERATION AND CONTROL OF MODERN ACTIVATED SLUDGE PROCESSES BY MICROSCOPIC ANALYSIS, PERUGIA, ITALY, IWA.

WILÉN, B.M., JIN, B. Y LANT, P. (2003). “THE INFLUENCE OF KEY CHEMICAL CONSTITUENTS IN ACTIVATED SLUDGE ON SURFACE AND FLOCCULATING PROPERTIES.” WAT. RES. 37, 2127-2139.

WILKINSON, J.F. (1959). “THE PROBLEM OF ENERGY STORAGE COMPOUNDS IN BACTERIA.” EXP. CELL. RES. 7, 111-130.

WINKLER M. A. (1998) TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE AGUAS DE DESECHO. ED LIMUSA, QUINTA REIMPRESIÓN, MÉXICO, 1998. PP. 338.

WOOD, L.B., HURLEY, B.J. ET MATTHEWS, P.J. (1981). “SOME OBSERVATIONS ON THE BIOCHEMESTRY AND INHIBITION OF NITRIFICATION.” WAT. RES. 15, 543-55

RONZANO L. E. Y DAPENA B. J. L (2002). “TRATAMIENTO BIOLÓGICO DE LAS AGUAS RESIDUALES” ED. DIAZ DE SANTOS, ISBN: 84-7978-202-1, 511 PP.

ROSENBERGER S., KRÜGER U., U, WITZIG R, MANZ W, SZEWZYK U, KRAUME M. (2001). “PERFORMANCE OF A BIOREACTOR WITH SUBMERGED MEMBRANES FOR AEROBIC TREATMENT OF MUNICIPAL WASTE WATER”. WAT. RES. 36: 413–420 PP.

ROSENBERGER S., EVENBLIJ H., POELE S., WINTGENS T., LAABS C. (2005) “THE IMPORTANCE OF LIQUID PHASE ANALYSES TO UNDERSTAND FOULING IN MEMBRANE ASSISTED ACTIVATED SLUDGE PROCESSES – SIX CASE STUDIES OF DIFFERENT EUROPEAN RESEARCH GROUPS”, J. MEM. SCI. 263: 113-126 PP.

SCOTT J.A., NEILSON D.J., LIU W., BOON P.N. (1998) "A DUAL FUNCTION MEMBRANE BIOREACTOR SYSTEM FOR ENHANCED AEROBIC REMEDIATION OF HIGH-STRENGTH INDUSTRIAL WASTE", WAT. SCI. TECHNOL. 38: 413-420 PP.

SCHOLZ W., FUCHS W. (2000) “TREATMENT OF OIL CONTAMINATED WASTEWATER IN A MEMBRANE BIOREACTOR”, WAT. RES., 34(14): 3621-3629 PP.

SHIMIZU Y. , OKUNO Y.-I. ,URYU K. ,OHTSUBO S., WATANABE A. (1996) "FILTRATION CHARACTERISTICS OF HOLLOW FIBER MICROFILTRATION MEMBRANES USED IN MEMBRANE BIOREACTOR FOR DOMESTIC WASTEWATER TREATMENT", WAT. RES., 30, 2385-2392 PP.

SMITH S., JEFFERSON B., STEPHENSON T. Y JUDD S. (2004). “IMPACT OF MEMBRANE PROCESSES ON THE CHARACTERISTICS OF BIOREACTORS OF WASTEWATER TREATMENT”. 9TH WORLD FILTRATION COGRESS, NEW ORLEANS, USA, ABRIL DEL 2004.

SOFIA A., NG W. J., Y ONG S. L. (2004). “ENGINEERING DESIGN APPROACHES FOR MINIMUM FOULING IN SUBMERGED MBR”. ELSEIVER DESALINATION. 160(1): 67-74 PP.

SPONZA D. T. (2002). “EXTRACELLULAR POLYMER SUBSTANCES AND PHYSICOCHEMICAL

PROPERTIES OF FLOCS IN STEADY-AND UNSTEADY-STATE ACTIVATED SLUDGE SYSTEMS”. PROCESS BIOCHEM. 37: 983-998 PP.

STEPHENSON T., JUDD S., JEFFERSON B. Y BRINDLE K. (2000). “MEMBRANE BIOREACTORS FOR WASTEWATER TREATMENT”. IWA PUBLISHING, LONDON, UK, ISBN:1-900222-07-8, 187 PP.

SUDESH K., ABE H. Y DOI Y. (2000). “SYNTHESIS, STRUCTURE AND PROPERTIES OF POLYHYDROXYALKANOATES: BIOLOGICAL POLYESTERS”. PROG. POLYM. SCI. 25: 1503-1555 PP.

TACKE D, PINNEKAMP J., PRIESKE H. Y KRAUME M. (2008). “MEMBRANE BIOREACTOR AERATION: INVESTIGATION OF THE VELOCITY FLOW PATTERN”. WAT. SCI. TECHNOL. 57(4): 559-565 PP.

TAO G., KEKRE K., WEI Z., LEE T. C. , VISWANATH B. ; Y SEAH H.(2005). "MEMBRANE BIOREACTORS FOR WATER RECLAMATION". WAT. SCI. TECHNOL. 51: 431-440 PP.

TILL S. AND MALLIA H. (2001). "MEMBRANE BIOREACTORS: WASTEWATER TREATMENT APPLICATIONS TO ACHIEVE HIGH QUALITY EFFLUENT". 64TH ANNUAL WATER INDUSTRY ENGINEERS AND OPERATORS' CONFERENCE. 5 Y 6 SEPTIEMBRE 200,.57-65 PP

UEDA T., HATA K., KIKUOKA Y. Y SEINO O. (1997). "EFFECTS OF AERATION ON SUCTION PRESSURE IN A SUBMERGED MEMBRANE BIOREACTOR". WAT. RES. 31(3): 489-494 PP.

URASE T., KAGAWA C., T. KIKUTA. (2005) "FACTORS AFFECTING REMOVAL OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES AND ESTROGENS IN MEMBRANE SEPARATION BIOREACTORS", ELSEIVER DESALINATION, 178, 107-113 PP.

URBAIN V., BLOCK J. C. Y MANEM J. (1993). "BIOFLOCCULATION IN ACTVATED SLUDGE: AN ANALYTICAL APPROACH". WAT. RES. 5: 829-838 PP.

VAN KAAM R., HERNADEZ ROJAS M. E., SCHETRITES S., LORAIN O., Y ALBASI C. "INFLUENCE OF PROCESS PARAMETERS IN A SEQUENCED MEMBRANE BIOREACTOR TO PREVENT MEMBRANE FOULING IN WASTEWATER TREATMENT - INTEREST OF EXTERNAL TEST". 9TH WORLD FILTRATION CONGRESS, NEW ORLEANS-USA, ABRIL DEL 2004.

VAN LOOSDRECHT M. C. M. Y HENZE M. (1999). "MAINTENANCE, ENDOGENOUS RESPIRATION, LYSIS, DECAY AND PREDATION". WAT. SCI. TECHNOL. 39(1): 107-117 PP.

VAN LOOSDRECHT M. C. M. POT M. A. Y HEIJNEN J. J. (1997). "IMPORTANCE OF BACTERIAL STORAGE POLYMERS IN BIOPROCESSES". WAT. SCI. TECHNOL. 35(1): 41-47 PP.

WATER ENVIRONMENT FEDERATION (WEF). (2006). "MEMBRANE SYSTEMS FOR WASTEWATER TREATMENT". ED. MC GRAW HILL, ISBN 10:0-07-146419-0, 284 PP.

WANG Z., WU Z., YU G., LIU J. Y ZHOU Z. (2006). "RELATIONSHIP BETWEEN SLUDGE CHARACTERISTICS AND MEMBRANE FLUX DETERMINATION IN SUBMERGED MEMBRANE BIOREACTORS". J. MEM. SCI. 284: 87-94 PP.

WANKAT C. P. (2008). "INGENIERÍA DE PROCESOS DE SEPARACIÓN". ED. PEARSON, MÉXICO, ISBN 978-970-26-1281-0, 768 PP.

WANNER J. CHUDOBA J., KUCAM K. Y PROSKEL. (2003). "CONTROL OF ACTIVATED SLUDGE FILAMENTOUS BULKING", OPERATION AND CONTROL OF MODERN ACTIVATED SLUDGE PROCESSES BY MICROSCOPIC ANALYSIS, PERUGIA, ITALY, ED. IWA, 1447-1451 PP.

WEI Y., VEN HOUTEN R. T., BORGER A. R., EIKELBOOM D. H. Y FAN Y. (2003). "MINIMIZATION OF EXCESS SLUDGE PRODUCTION FOR BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT", WAT. RES. 37: 4453-4467 PP.

WILÉN B. M., JIN B. Y LANT P. (2003). "THE INFLUENCE OF KEY CHEMICAL CONSTITUENTS IN ACTIVATED SLUDGE ON SURFACE AND FLOCCULATING PROPERTIES", WAT. RES. 37: 2127– 2139 PP.

WILKINSON J. F. (1959). "THE PROBLEM OF ENERGY STORAGE COMPOUNDS IN BACTERIA", EXP. CELL. RES. 7: 111-130 PP.

WITZIG R., MANZ W., ROSENBERGER S., KRÜGER U., KRAUME M., SZEWZYK U. (2002). "MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF A BIOREACTOR WITH SUBMERGED MEMBRANES FOR AEROBIC TREATMENT OF MUNICIPAL WASTEWATER". WAT. RES. 36: 394–402 PP.

YANG W., CICEK N. Y ILG J. (2006). "STATE-OF-THE-ART OF MEMBRANE BIOREACTORS: WORLDWIDE RESEARCH AND COMMERCIAL APPLICATIONS IN NORTH AMERICA". J. MEMBR. SCI. 270: 201–211 PP.

YU K., WEN X., BU Q., AND XIA H. (2003). "CRITICAL FLUX ENHANCEMENTS WITH AIR SPARGING IN AXIAL HOLLOW FIBERS CROSS-FLOW MICROFILTRATION OF BIOLOGICALLY TREATED WASTEWATER". J. MEMBR. SCI. 224(1-2): 69-79 PP.

ZHANG B. Y YAMAMOTO K. (1996). "SEASONAL CHANGE OF MICROBIAL POPULATION AND ACTIVITIES IN A BUILDING WASTEWATER REUSE SYSTEM USING A MEMBRANE SEPARATION ACTIVATED SLUDGE PROCESS", WAT. SCI. TECHNOL. 34: 295–302 PP.