



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**FACULTAD DE INGENIERÍA CIVIL
FACULTAD DE BIOLOGÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Estudio de las características morfológicas de los flóculos y de
las poblaciones de microfauna, durante la adaptación de la
biomasa, en un biorreactor con membranas sumergidas**

TESIS

que para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

presenta el

***Ingeniero Bioquímico
Aniceto Basalenque Rueda Rocha***

Director de Tesis:

***Doctor en Ingeniería de Procesos
Julio César Orantes Ávalos***

Codirector de Tesis

***Doctor en Ciencias en Recursos Bióticos
Ricardo Miguel Pérez Munguía***

Morelia, Michoacán, febrero de 2014

ÍNDICE

ÍNDICE.....	I
LISTA DE FIGURAS	IV
LISTA DE TABLAS.....	VI
NOMENCLATURA Y ABREVIACIONES	VII
RESUMEN.....	IX
1 INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 OBJETIVOS	4
1.1.1 Objetivo General.....	4
1.1.2 Objetivos Particulares.....	4
1.2 Hipótesis.....	5
1.3 Justificación	6
2 MARCO TEÓRICO.....	7
2.1 Reactores biológicos de membrana	7
2.1.1 Introducción.....	7
2.1.2 Proceso de separación por membranas.....	10
2.1.2.1 Membranas	10
2.1.2.2 Filtración	14
2.1.3 Proceso biológico de degradación.....	19

2.1.3.1	Degradación Biológica	19
2.1.3.2	Requerimiento de nutrientes	20
2.2	Suspensión biológica.....	21
2.2.1	Características y composición de la suspensión biológica	21
2.2.1.1	Floculación.....	23
2.2.1.2	EPS y SMP	27
2.2.2	Organismos filamentosos	28
2.2.3	Microfauna de la suspensión biológica: Protozoarios y Metazoarios.....	29
2.2.3.1	Sucesión ecológica	31
2.2.3.2	Métodos para el análisis de diversidad ecológica	34
2.3	Antecedentes.....	40
3	MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
3.1	Reactor biológico de membranas sumergidas.....	44
3.1.1	Descripción del reactor piloto	44
3.1.2	Inóculo.....	47
3.1.3	Módulo de membranas.....	48
3.2	Condiciones de operación	49
3.2.1	Condiciones de filtración	49
3.2.1.1	Condiciones hidráulicas	49
3.2.1.2	Flujo crítico de la membrana.....	49
3.2.1.3	Protocolo de lavado de la membrana.....	50
3.2.2	Condiciones fisicoquímicas	50
3.2.3	Condiciones biológicas.....	51
3.2.3.1	Carga orgánica de trabajo.....	51
3.2.3.2	Sustrato.....	51
3.3	Determinación de las características morfológicas de los flóculos	52
3.4	Determinación de la densidad de microorganismos filamentosos	53
3.5	Determinación de las poblaciones de microfauna	53

3.5.1	Abundancia relativa de microfauna	53
3.5.2	Análisis de la diversidad ecológica	54
4	RESULTADOS	55
4.1	Condiciones físico-químicas de operación del biorreactor.....	55
4.2	Eficiencia de filtración del biorreactor	56
4.3	Eficiencia de depuración.....	57
4.4	Evolución de la biomasa en el biorreactor	60
4.5	Tasas específicas de respiración de la biomasa en el reactor	62
4.6	Morfología de flóculos.....	64
4.7	Abundancia de bacterias filamentosas	67
4.8	Seguimiento de poblaciones de microfauna	69
4.8.1	Análisis de la diversidad	75
4.9	Balance de resultados	78
5	CONCLUSIONES	82
5.1	Validación de la Hipótesis.....	83
6	REFERENCIAS	84
	ANEXOS.....	i
	ANEXO A Determinación del flujo crítico de la membrana	i
	ANEXO B Tablas de abundancia de microfauna en el reactor	iii

LISTA DE FIGURAS

Fig. 2.1 Diagrama de tamaños de partículas y rangos de filtración(WEF, 2006).....	11
Fig. 2.2 Esquemas de las configuraciones de los módulos de membrana de acuerdo al tipo de material con el que son elaboradas (Vizcaya <i>et al.</i> , 2006).....	12
Fig. 2.3 Configuraciones de un biorreactor de acuerdo a la posición de los módulos de membranas(Judd, 2011).....	14
Fig. 2.4 Líneas de colmatación, presión vs tiempo.....	18
Fig. 2.5 Composición de la biomasa (Orantes, 2005)	22
Fig. 2.6 Esquema de estructura de un flóculo (Gerardi, 2002)	24
Fig. 2.7 Tipos comunes de flóculos	26
Fig. 2.8 Imágenes de suspensiones biológicas con altos índices de bacterias filamentosas (izq. 100X, der. 40X).....	29
Fig. 2.9 Gráfica de abundancia relativa de microorganismos en un reactor de lodos activados, trabajando con diferentes cargas orgánicas (Védry, 1987).	32
Fig. 2.10 Sucesión de clases de depredadores (Eikelboom, 2000).....	32
Fig. 3.1 Reactor experimental	44
Fig. 3.2 Equipos para registro de TMP	45
Fig. 3.3 Diagrama general de operación del BRM.....	45
Fig. 3.4 Reactor biológico de la PTAR “las Garzas”, en Pátzcuaro, Mich.	47
Fig. 3.5 Vista del BRM experimental recién inoculado	47
Fig. 3.6 Imagen del módulo de membranas instalado en el BRM	48
Fig. 3.7 Guía visual para la estimación del Índice de filamentos (Eikelboom, 2000)	53
Fig. 4.1 Condiciones físico-químicas de operación del biorreactor (pH y oxígeno disuelto).....	55
Fig. 4.2 Condiciones de filtración en el reactor: flujo membranal (J), resistencia membranal (R) y presión transmembranal (PTM).....	57
Fig. 4.3 Eficiencia de remoción de materia orgánica (DQO) en el biorreactor	59
Fig. 4.4. Evolución de la concentración sólidos en el reactor y carga orgánica másica en el reactor a lo largo del periodo experimental.....	60

Fig. 4.5. Relación de sólidos volátiles y fijos (SSV/SST y SSF/SST)	62
Fig. 4.6. Tasas específicas de respiración de la biomasa (SOUR)	63
Fig. 4.7 Tamaño promedio de los flóculos y su desviación estándar a lo largo de la corrida experimental	64
Fig. 4.8 Evolución de (a) la forma, (b) la estructura y (c) la firmeza de los flóculos en la biomasa del BRM	66
Fig. 4.9 Imágenes de flóculos con Bacterias filamentosas a 19 y 96 días (10x)	67
Fig. 4.10 Abundancia de bacterias filamentosas	68
Fig. 4.11 Abundancia relativa de las clases de microfauna.....	70
Fig. 4.12 Dendograma de agrupación de poblaciones microfauna en el reactor	71
Fig. 4.13 Etapas de sucesión de poblaciones de microfauna en el reactor.....	72
Fig. 4.14. DQO soluble y Abundancia relativa de rotíferos en la biomasa del BRM.....	74
Fig. 4.15 Índice de diversidad (Shannon) e índice de dominancia (Simpson) de las poblaciones de microfauna por género.....	76
Fig. 4.16 Índice de diversidad (Shannon) e índice de dominancia (Simpson) de las poblaciones de microfauna por grupo.....	77
Fig. 4.17 Imágenes de flóculos a 33, 54 y 110	80
Fig. A.1 Curvas de resistencia y presión transmembranal, durante la determinación del flujo crítico de la membrana.....	i

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1 Parámetros monitoreados, métodos utilizados, equipo de medición y frecuencia de muestreo del reactor durante el periodo experimental.	46
Tabla 3.2 Características del lodo para inóculo.....	47
Tabla 3.3 Características de la membrana.....	48
Tabla 3.4 Etapas de lavado químico de las membranas.....	50
Tabla 4.1 Comparación de condiciones de filtración de este estudio con otros autores(Orantes <i>et al.</i> , 2006).....	56
Tabla. B.1 Tabla de abundancia relativa de poblaciones de microfauna durante la evolución del biorreactor.....	iii
Tabla. B.2 Tabla de frecuencia de individuos(ind/ml) de las poblaciones de microfauna durante la evolución del biorreactor.....	iv

NOMENCLATURA Y ABREVIACIONES

Abreviatura:	Significado:	Unidades:
a	Número de especies en el sitio A	
AR	Aguas residuales	
b	Número de especies en el sitio B	
BRM	Biorreactor de membranas sumergidas	
c_c	Concentración de soluto en el concentrado	
c_f	Concentración de soluto en la alimentación	
C_j	Índice cualitativo de similitud de Jaccard	
CO	Carga orgánica másica	$\text{kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}} \cdot \text{d}$
c_p	Concentración de soluto en el permeado	
C_s	Índice cualitativo de similitud de Sorenson	
CV	Carga orgánica volumétrica	$\text{kg}_{\text{DQO}}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$
D	Índice de dominancia de Simpson	
DQO	Demanda química de oxígeno	mg/l
DQO_{part}	DQO particulada en el reactor	
DQO_{perm}	DQO de permeado (efluente)	mg/l
DQO_{sol}	DQO soluble en el reactor	mg/l
$\text{DQO}_{\text{sustrato}}$	DQO de sustrato (influyente)	mg/l
$\text{DQO}_{\text{Total}}$	DQO total en el reactor	mg/l
EPS	Sustancias poliméricas extracelulares	
H	Índice de diversidad de Shannon	bits/ind
IF	Índice de filamentos	
IVL	índice volumétrico de lodos	$\text{ml}/\text{g}_{\text{SST}}$
J	Flujo membranar	$\text{l}/\text{h} \cdot \text{m}^2$
j	Número de especies encontrados en los dos sitios de comparación	
j_N	Sumatoria de la abundancia más baja de cada una de las especies compartidas entre sitios	
k	Permeabilidad de la membrana	$\text{l}/\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{bar}$
MF	Microfiltración	
η	Viscosidad	$\text{kg}/\text{m} \cdot \text{s}$
N_a	Número total de individuos en A	
N_b	Número total de individuos en B	
NF	Nanofiltración	
OD	Oxígeno disuelto	mg/l
OI	Ósmosis Inversa	
OUR	Velocidad de consumo de oxígeno	$\text{mgO}_2/\text{l} \cdot \text{min}$
PAN	Poliacrinitrilo	
PE	Polietileno	
PES	Polietilil sulfona	

p_i	Proporción de la i-esima especie	
P_{max}	Presión máxima de filtración	bar
PP	Polipropileno	
PVDF	Difloruro polivideno	
Q_c	Gasto de concentrado	
Q_f	Gasto de solución de alimentación de filtración	
Q_p	Gasto de permeado	
R	Resistencia membranal	m^2/m^3
R_c	Resistencia de filtración de la torta	m^2/m^3
rDNA	DNA ribosomal	
R_F	Rechazo de filtración	
R_f	Resistencia de filtración por colmatación o fouling	m^2/m^3
R_m	Resistencia de filtración de la membrana	m^2/m^3
R_t	Resistencia total de filtración	m^2/m^3
SMP	Productos microbianos solubles	
SOUR	Velocidad de consumo específica de oxígeno	$kgO_2/kg_{SSV} \cdot min$
SSF	Sólidos suspendidos fijos en el licor mezcla	mg/l
SST	Sólidos suspendidos totales en el licor mezcla	mg/l
SSV	Sólidos suspendidos volátiles en el licor mezcla	mg/l
SSVLM	Sólidos suspendidos volátiles en el licor mezcla	mg/l
t_{chem}	Duración de ciclos de limpieza química	
TMP	Presión transmembranal	bar
t_{phys}	Duración de ciclos de limpieza física	
TRC	Tiempo de residencia celular	d
TRH	Tiempo de residencia hidráulica	h
U_F	Ultrafiltración	
Y_F	Eficiencia de filtración	
ΔP	Diferencia de presión	bar
C_N	Índice cuantitativo de similitud de Bray-Curtis	
C_{MH}	Índice cuantitativo de similitud de Morisita-Horns	

RESUMEN

La adopción de tecnologías para el tratamiento de aguas residuales que permitan alcanzar efluentes de mayor calidad y con más opciones de reutilización será determinante para la sustentabilidad de las sociedades contemporáneas. Los reactores biológicos con membranas sumergidas (BRM) han mostrado ser una alternativa a los sistemas tradicionales de tratamiento por ser altamente eficientes para la depuración de aguas residuales. Gran cantidad de estudios se han enfocado al proceso de filtración de un BRM, sin embargo, aún es necesario profundizar en el estudio del proceso biológico. El presente trabajo estudia la morfología de los flóculos y la evolución de las poblaciones de microfauna de la biomasa durante el proceso de adaptación a condiciones de operación de un BRM. Para la experimentación se utilizó un BRM a escala laboratorio con un módulo de membranas planas sumergidas alimentado con un sustrato sintético fácilmente biodegradable. Se monitorearon los parámetros de operación (e.g. carga orgánica, DQO, oxígeno disuelto, eficiencia de remoción, velocidad de consumo de oxígeno, sólidos suspendidos); se determinó el tamaño promedio, forma, estructura y firmeza de los flóculos y se realizaron conteos de los diferentes grupos de microfauna presentes en la biomasa. Los resultados muestran que la adaptación de la biomasa podría estar dividida en dos fases: fase de adaptación donde los parámetros de operación tuvieron variaciones significativas y fase de estabilización donde mostraron variaciones poco significativas. La morfología de los flóculos está influenciada por las fases de adaptación y estabilización tendiendo a generar un mejor proceso de floculación en la etapa de estabilización. Se identificaron seis poblaciones de microfauna correspondientes a las etapas sucesionales en la adaptación de la biomasa, estas poblaciones pudieron ser relacionadas con las fases de adaptación y estabilización y por consiguiente parámetros como la eficiencia de depuración y la estabilización de la carga orgánica

Palabras Clave: BRM, microfauna, floculación, adaptación, estabilización

ABSTRACT

The adoption of technologies for wastewater treatment that achieve high quality and more reuse options effluent will be decisive for sustainability of contemporary societies. The submerged membrane bioreactors (MBR) have shown to be an alternative to traditional wastewater treatment process due to its high efficiency. Large number of studies had been carried out, focused on the filtration process performances of a MBR, however, further studies are needed concerning the biological process conditions. The aim of this work was to study the morphology of the flocs and the evolution of the microfauna populations during the adaptation process to the MBR operating conditions of the biomas. For experimentation we used a laboratory scale BRM. with a flat submerged membrane module. It was fed with easily biodegradable synthetic substrate. Operating parameters (*e.g.* organic load, COD, dissolved oxygen, removal efficiency, oxygen uptake rate, suspended solids) were monitored; the average size, shape, structure and strength of the flocs was determined. We counted the number of individuals of the different microfauna groups presents in the biomass. The results show that the adaptation of the biomass could be divided into two phases: adaptation phase, where the operating parameters had significant variations; and stabilization phase, where showed insignificant variations. The morphology of the flocs was influenced by the adaptation and stabilization phases showing a better flocculation process in the stabilization phase. Six populations of microfauna corresponding to the successive stages in the adaptation of biomass were identified. These populations could be related to the adaptation and stabilization phases and therefore with operational parameters like biodegradation efficiency and stabilization of the organic load.

Keywords: BRM, microfauna, flocculation, adaptation, stabilization.

1 INTRODUCCIÓN

En la problemática ambiental actual, resalta la descarga de aguas residuales a los cauces naturales, ya que estos vertidos pueden tener un alto impacto en los ecosistemas acuáticos debido a la gran cantidad de materia orgánica y nutrientes, además de la presencia de microcontaminantes y sustancias tóxicas. La contaminación provoca que se reduzca la calidad del agua de los cauces haciéndola inutilizable para usos productivos, tales como la potabilización para zonas urbanas a costos razonables, usos industriales o inclusive agropecuarios. Por otro lado, el aumento de la población y los hábitos de consumo, generan cada vez mayor presión hídrica sobre los cuerpos de agua. De manera conjunta, el consumo desmedido y la contaminación de las potenciales fuentes de abastecimiento, ha hecho que algunas sociedades actuales hallan llegando al punto de necesitar la reutilización del agua residual tratada, para abastecer a la población de este importante recurso. Por ello es importante trabajar en el desarrollo de procesos de tratamiento de agua residual que permitan el reuso del agua. Se estima que actualmente el reuso para usos productivos del agua tratada podría alcanzar aproximadamente el 80% del agua suministrada (Damiá, 2008; Zarragoitia-Gonzalez, 2009).

Los procesos de tratamiento de aguas residuales más empleados para tratar el agua residual urbana son los basados en reactores biológicos, por ser los de mayor eficiencia de remoción, rentabilidad y manejo ecológico sustentable. Entre los procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales el biorreactor con membranas (BRM) es el que ha mostrado alcanzar mayores eficiencias de remoción de contaminantes y una alta calidad del agua tratada. Estos reactores combinan la degradación de una suspensión biológica completamente mezclada, con un proceso de separación por medio de ultrafiltración. El uso de los BRM genera varias ventajas con respecto a los procesos de tratamiento tradicionales utilizados en México, ya que mejora el proceso de degradación de la materia orgánica, así como la retención de contaminantes complejos o de lenta degradación (Radjenovic *et al.*, 2008), además de que gracias a la ultrafiltración se logra un efluente completamente libre de sólidos y de bacterias

facilitando así la utilización de otros tratamientos avanzados para su reutilización para fines productivos. No obstante que los BRM ofrecen estas ventajas, en México no han tenido una amplia aceptación ni el uso generalizado que han tenido los sistemas tradicionales. Para lograr una mayor aceptación e implementación es importante generar información técnica y científica sobre el proceso que ponga de manifiesto las ventajas que ofrece y la reducción que se ha logrado en sus costos de inversión (Yang *et al.*, 2006). Bajo este contexto es necesario seguir estudiando y desarrollando estos sistemas a fin de generar mayor información científica y tecnológica que logre hacer más atractivos, rentables y con mayor capacidad de operación e implementación los biorreactores con membranas

La mayor parte de la investigación realizada sobre los BRM ha sido enfocada al proceso de filtración, colmatación de membranas y mejora de materiales para la elaboración de membranas, dejando de lado la parte biológica. Consideramos que es necesario generar, paralelamente, más conocimiento con respecto al proceso y a la suspensión biológica de los BRM; aún existen aspectos que no se han estudiado a fondo en los BRM, particularmente: (i) la evolución morfológica de los flóculos de la suspensión biológica, aspecto directamente relacionado con las condiciones de filtración en la membrana, por el tipo de agregados que van a saturar la membrana durante la filtración (Orantes *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2007), (ii) la presencia y proliferación de bacterias filamentosas, que van a determinar la morfología de los flóculos en la suspensión biológica y afectar el proceso filtración (Li *et al.*, 2008), y (iii) la presencia y sucesión de poblaciones de microfauna (protozoarios y metazoarios), que intervienen de manera importante en la morfología de los flóculos (Puigagut *et al.*, 2007), funciones de depredación (Madoni, 2011), el “decaimiento externo” de la biomasa (Pauli *et al.*, 2001) que permite reducir cantidad de lodos residuales y como indicadores del funcionamiento biológico del proceso (Madoni, 1994).

En este trabajo se realiza (i) un análisis de las propiedades morfológicas de la suspensión biológica utilizando como base los procedimientos utilizados para la valoración en sistemas de lodos activados (Eikelboom, 2000; Jenkins *et al.*, 2004;

Védry, 1987) ya que en la revisión bibliográfica no se encontró literatura específica para sistemas BRM; (ii) el análisis de la microfauna; (iii) se determinan las características de los flóculos (i.e. tamaño, forma, estructura y firmeza); (iv) se determinan índices de densidad de bacterias filamentosas en la suspensión biológica (Jenkins, et al., 1993; Eikelboom, 2000); y (v) se hace un análisis de la microfauna en la suspensión a través de la búsqueda, conteo y clasificación de los diferentes taxas encontradas en la suspensión biológica, determinando asimismo índices de diversidad ecológica para medir la estructura y su variación de estas comunidades.

Todos estos aspectos están íntimamente ligados entre sí y a las condiciones de operación del reactor. Este análisis se realizó inoculando en reactor con una biomasa típica de un sistema de lodos activados, hasta llegar a una biomasa ya adaptada a las condiciones de operación de un BRM; se fue dando seguimiento a la evolución de las características de la biomasa y al proceso de adaptación y estabilización, ya que estos procesos que han sido poco estudiados en los BRM (Arévalo *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2006). Los aspectos analizados en este trabajo de tesis contribuyen de manera importante al conocimiento de las etapas de, arranque y operación, particularmente de los fenómenos relacionados con la suspensión y los procesos biológicos ocurridos en un BRM,

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo General

Analizar la evolución de las características morfológicas de la biomasa y las poblaciones de microfauna, durante la etapa de arranque y estabilización de un biorreactor con membranas sumergidas, operado con retención total de sólidos.

1.1.2 Objetivos Particulares

- Evaluar eficiencia global de operación de un biorreactor con membranas sumergidas
- Analizar las características morfológicas de los flóculos de la suspensión biológica
- Evaluar la evolución de la densidad y abundancia de bacterias filamentosas en la suspensión biológica
- Estudiar la estructura, diversidad ecológica y sucesión de poblaciones de microfauna en la suspensión biológica
- Determinar la relación que existe entre las características morfológicas de la biomasa, la abundancia de bacterias filamentosas, las poblaciones de microfauna en la suspensión biológica y la estabilización de la carga orgánica de un biorreactor con membranas sumergidas

1.2 Hipótesis

Las características morfológicas de la biomasa y las poblaciones de microfauna, podrán ser relacionadas con la estabilización de la carga orgánica de un biorreactor con membranas sumergidas

1.3 Justificación

El desarrollo y la utilización de nuevas tecnologías para el tratamiento de aguas residuales, con el fin de generar efluentes de mejor calidad y con mayor posibilidad de reutilización, serán determinantes para alcanzar la sostenibilidad de las sociedades modernas. Los reactores biológicos con membranas sumergidas destacan por su gran capacidad de remoción de materia orgánica y la óptima calidad que se puede lograr en un efluente tratado, y se muestran como una alternativa a los sistemas tradicionales de tratamiento de aguas residuales urbanas. Sin embargo, para abrir su campo de aplicación y facilitar su operación, es importante generar conocimiento en aquellas áreas que no han sido estudiadas completamente, tal es el caso de las características morfológicas de la biomasa, su adaptación a sistemas BRM y la sucesión de sus poblaciones de protozoarios y metazoarios.

Éstas características y su relación con parámetros de operación de un BRM (e.g. la carga orgánica) servirán para tener una mejor comprensión de la actividad de la biomasa en el reactor y pueden constituir una herramienta muy útil para mejorar el diseño de un BRM. También permitirán planear y mejorar los procesos de arranque y estabilización, así como también adaptar y mejorar las estrategias de operación. El conocimiento científico y tecnológico podría hacer más atractiva la elección y viable la implementación de BRM para la depuración de aguas residuales generando mayores beneficios ambientales y socioeconómicos.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Reactores biológicos de membrana

2.1.1 Introducción

En el tratamiento de las aguas residuales, una de las innovaciones más importantes ha sido la filtración por membranas, como un proceso de mayor eficiencia para la separación de las fracciones líquida y sólida de la suspensión biológica. Este desarrollo tecnológico dio paso a la creación de los biorreactores con membranas sumergidas (BRM). Un biorreactor de membranas está constituido por un reactor biológico de biomasa en suspensión tipo “lodos activados”, acoplado a un proceso de separación de la fracción sólida, por medio de una micro o ultrafiltración a través de membranas porosas semipermeables, que sustituyen el proceso de sedimentación. Esta combinación supone una interacción entre los parámetros de operación asociados a la suspensión biológica y los parámetros de operación más directamente relacionados con el proceso de filtración, generando así un proceso diferente y más complejo que el sistema tradicional de lodos activados.

Las primeras investigaciones donde se reportó el uso de lodos activados con separación por membranas fue llevada a cabo en el Rensselaer Polytechnic Institute, New York y en Dorr-Oliver, Inc. Milford, Connecticut. La primera instalación de un BRM fue hecha por Dorr-Oliver Inc. en 1970, aunque no tuvo mucho interés en Norteamérica, en Japón creció su interés considerablemente en las décadas de los 70's y 80's. Antes de los 90's la mayoría de los BRM fueron utilizados para tratar aguas residuales industriales. Con el desarrollo de las membranas sumergidas, el número de BRM para tratar aguas residuales municipales se incrementó en prácticamente todos los países desarrollados (Radjenovic *et al.*, 2008).

La operación de los BRM tiene ciertas características particulares (L. K. Wang y Menon, 2009):

- Operación a altas concentraciones de SSVLM (5,000 mg/l a 20,000 mg/l)
- Operación a altas cargas orgánicas volumétricas ($2 - 4 \text{ Kg}_{\text{DQO}}/\text{m}^3 \cdot \text{d}$)
- Operación a elevadas edades de lodo (30 a 100 d)

Estas características en la operación de BRM generan ventajas con respecto a los tratamientos de lodos convencionales (Radjenovic *et al.*, 2008; Visvanathan *et al.*, 2010):

- i) Debido a la operación con altas concentración de biomasa y al remplazo del sedimentador tradicional, un BRM requiere menos espacio.
- ii) La filtración genera un efluente completamente libre de sólidos suspendidos, mejorando la remoción de virus, bacterias y microorganismos patógenos, que supera las normatividades más estrictas a nivel internacional y le confiere un gran potencial de reuso y facilitando la aplicación de tratamientos avanzados. El efluente queda acondicionado para procesos avanzados que conduzcan a la potabilización o incluso la purificación (e.g. la ósmosis inversa).
- iii) La membrana permite tener un mejor control sobre la separación y consecuentemente la concentración de la biomasa en el reactor, por lo que se pueden lograr edades de lodos biológicos mayores, que favorecen el desarrollo de microorganismos de crecimiento lento (e.g. bacterias nitrificantes, bacterias degradadoras de compuestos difíciles o lentamente biodegradables como los microcontaminantes).
- iv) Una alta concentración de biomasa en el reactor llevara a condiciones endógenas prolongadas lo que provoca una menor generación de lodos de

desecho (de 30% a 80% menos que en sistemas de lodos activados tradicionales)

- v) Al no tener un decantador se evitan problemas de baja sedimentabilidad, de abultamiento de lodos y de generación de espuma; situaciones comunes en los sistemas tradicionales con procesos de separación por sedimentación.

Todas las ventajas anteriores muestran la viabilidad del empleo de los BRM para el tratamiento y reutilización de aguas residuales tratadas, así como para la remoción y degradación de contaminantes persistentes en los sistemas tradicionales. Por otro lado, también hay que señalar que tienen ciertas desventajas:

- a) La rápida colmatación o ensuciamiento de las membranas (*fouling*) por los sólidos suspendidos, lo que conlleva a una disminución del efluente permeado, haciendo necesario implementar estrategias de prevención de la colmatación de membranas, realizar ciclos de lavado químico y finalmente remplazo de las membranas.
- b) Un alto consumo de energía con respecto a los sistemas tradicionales, utilizada para la filtración y la aireación.
- c) Una mayor inversión inicial debido al costo de las membranas y a su vez, los costos de remplazamiento de éstas.

La falta de información científica y tecnológica con respecto al proceso, así como las mejoras al proceso y reducción de costos particularmente de inversión (Yang *et al.*, 2006), además de la falta de regulación en algunos países o las regulaciones ya obsoletas, que permiten la descarga de aguas residuales crudas o tratadas con altos contenidos de contaminantes, potencialmente peligrosos al ambiente y a la salud humana, han frenado la implementación de estos procesos, particularmente en países subdesarrollados o emergentes.

Actualmente la investigación científica y el avance tecnológico ha logrado disminuir el costo de inversión de los sistemas BRM, al reducir los costos de las membranas con el desarrollo de nuevos materiales para su fabricación y al mejorar la comprensión y optimizar el procesos de filtración para reducir la colmatación de la membrana y mejorar la eficiencia de los BRM, en entre otros avances. De ahí la importancia de seguir estudiando y comprendiendo el proceso, para generar conocimientos y tecnología que puedan hacer más viable la implementación y sobre todo reducir los costos de operación de estos sistemas de tratamiento de agua residual.

2.1.2 Proceso de separación por membranas

2.1.2.1 Membranas

La membrana se puede definir como un material de dos dimensiones usado para separar componentes de un fluido, usualmente esta separación está basada en el tamaño de estos componentes o las interacciones fisicoquímicas con los materiales. Es un proceso físico donde los componentes separados permanecen sin cambios químicos. La capacidad de una membrana de permitir el transporte de un componente específico se le conoce como permeabilidad.

Las membranas utilizadas dentro de los BRM están dentro del rango de microfiltración (i.e. con diámetro de poro de 0.1 a 10 μm) a ultrafiltración (i.e. con diámetro de poro entre 0.01 y 0.4 μm) (Adriannus y Jeroen Van der, 2007)(Fig. 2.1). El proceso de filtrado permite retener todos los sólidos suspendidos, inclusive los no sedimentables, macromoléculas y supracoloides, así como parásitos, bacterias y algunos virus, dependiendo del tamaño de poro (Wang y Menon, 2009).

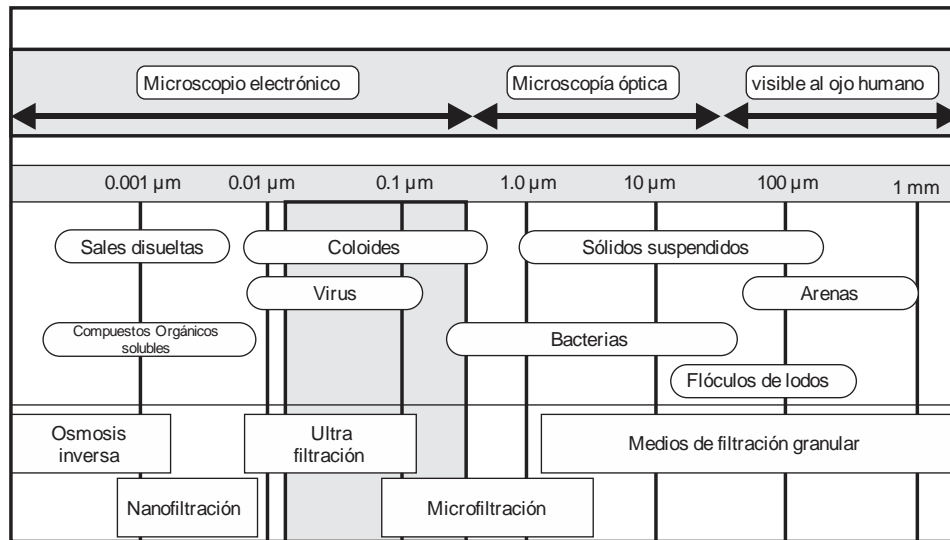


Fig. 2.1 Diagrama de tamaños de partículas y rangos de filtración(WEF, 2006)

Generalmente, existen dos tipos de membranas: las inorgánicas o cerámicas que incluyen las metálicas y las membranas orgánicas. Las membranas inorgánicas puede ser de vidrios porosos, membranas metálicas a partir de pequeñas partículas sintetizadas y cerámicas que se fabrican a partir de materiales como el óxido de zirconio, óxido de titanio, mezclas de ambos o alúmina; son más caras, pero poseen mayores resistencias (Vizcaya *et al.*, 2006).

Las membranas orgánicas, por otro lado, se obtienen a partir de diferentes polímeros homogéneos, como el polietileno, el polipropileno o las poliamidas; son membranas económicas, pero tienen poca resistencia mecánica, térmica y química (Zarragoitia-Gonzalez, 2009). Los compuestos más ampliamente usados para su fabricación son celulosas, poliamidas, polisulfonas y otros materiales poliméricos como el poliacrinitrilo (PAN), difloruro polivideno (PVDF), polietinil sulfona (PES), polietileno (PE) y polipropileno (PP). Todos estos materiales tienen resistencias química y física, pero son hidrofóbicos, por lo tanto son modificadas por oxidación química, reacciones químicas orgánicas, tratamientos de plasma o por inserción para lograr una superficie más hidrofílica que es menos propensa a la colmatación (Radjenovic *et al.*, 2008).

En general los criterios para la selección de membranas son los siguientes:

- no biodegradabilidad e inercia a agentes microbiológicos,
- bajo coste,
- fácil limpieza,
- robustez,
- buena resistencia química y mecánica,
- hidrofiliicidad y
- uniformidad en tamaño y distribución de poros.

Un módulo de membranas es una unidad que consta de las membranas, la estructura de soporte de presión para las membranas y puertos de entrada y salida para el filtrado y retenido. Existen cuatro tipos de módulos principales de membranas (Fig. 2.2):

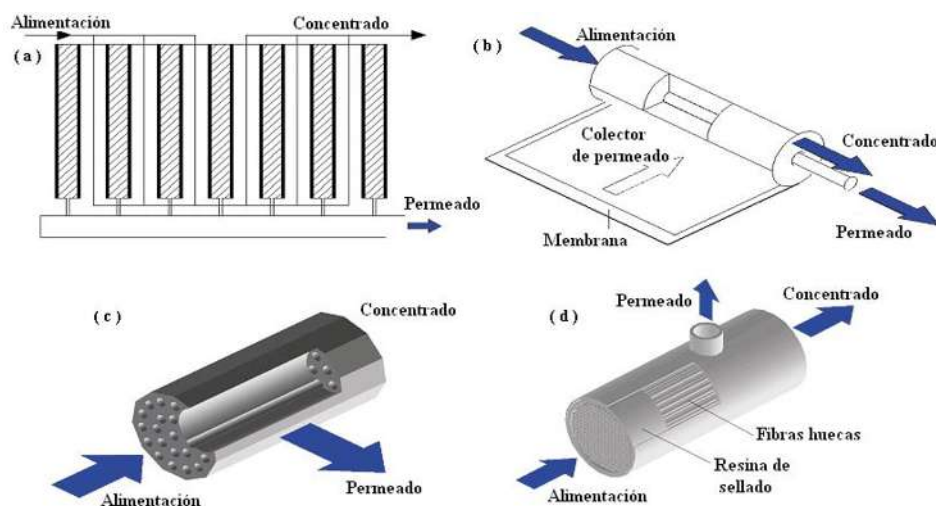


Fig. 2.2 Esquemas de las configuraciones de los módulos de membrana de acuerdo al tipo de material con el que son elaboradas (Vizcaya *et al.*, 2006)

- a) De placa y bastidor.- Se basan en un conjunto de membranas planas situadas sobre unas placas de soporte dispuestas una al lado de otra en unidades individuales. Son fácilmente desmontables, pero disponen de una baja densidad

de compactado ($100 - 400 \text{ m}^2/\text{m}^3$). Estos se elaboran con membranas de tipo orgánico.

- b) De enrollamiento en espiral. Se basan en un envoltorio de dos membranas enrolladas en cilindros separados entre sí por el colector de permeado. Varios de estos cilindros se disponen de esta manera separados por un espaciador. Son módulos muy compactos ($700 - 1.000 \text{ m}^2/\text{m}^3$), pero el espaciador provoca que sea más susceptible a la obstrucción. Estos módulos son elaborados con membranas orgánicas.
- c) Tubulares. Son cilindros en cuyo interior se disponen las membranas, también en forma cilíndrica. Son muy poco compactos pero muy robustos y pueden soportar flujos de gran velocidad, por lo que generalmente se utilizan en configuraciones externas y son de tipo inorgánico.
- d) De fibra hueca. Están formados por fibras que se reúnen en conjuntos de miles hasta de millones dentro de unos cilindros de resina endurecida. Es el módulo más compacto ($1.000 - 10.000 \text{ m}^2/\text{m}^3$), pero la presencia de tal cantidad de fibras hace que sean más propensas al ensuciamiento. Son membranas de tipo orgánico.

En la actualidad, los módulos más empleados son los de fibra hueca, por su gran densidad de compactado, y los de placa y bastidor, por su facilidad de manejo y limpieza. Existen dos configuraciones principales de los BRM, los reactores con membrana externa y los reactores de membrana sumergida (Fig. 2.3):

- A. Los reactores con membrana externa consisten en un módulo de membranas que se encuentra fuera del reactor, el licor mezcla del reactor se lleva al módulo mediante un sistema de bombeo donde la suspensión es filtrada tangencialmente y los lodos retenidos son recirculados al reactor, la filtración en la membrana es inducida por el bombeo hacia la membrana y una succión del lado del permeado.

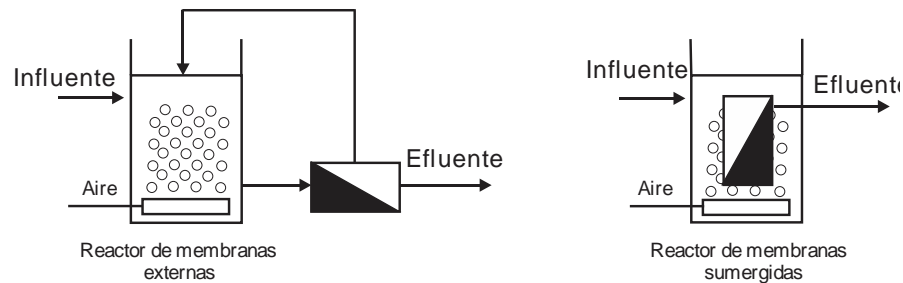


Fig. 2.3 Configuraciones de un biorreactor de acuerdo a la posición de los módulos de membranas(Judd, 2011)

B. Los reactores de membrana sumergida contienen un módulo de membrana inmerso en el reactor biológico, la filtración, generalmente frontal o semifrontal es inducida solo por una succión del lado del permeado.

La cantidad de energía necesaria para la filtración, en las membranas sumergidas es menor. Ambas configuraciones necesitan una fuerza cortante sobre la superficie de las membranas para evitar la colmatación (Field, 2010). Los módulos de membranas externas proveen esta fuerza a través del bombeo, mientras que las membranas sumergidas aprovechan la aireación del reactor para provocar este efecto. Las fuerzas cortantes son importantes para mantener el flujo de permeado y reducir lo más posible la colmatación, sin embargo este proceso requiere energía. El bombeo de los lodos activados también produce una fuerza cortante sobre los flóculos microbianos, causando una reducción del diámetro de partículas y liberando material colmatante de los flóculos (i.e. Sustancias Poliméricas Extracelulares; EPS por sus siglas en inglés: Extracelular Polymeric Substances) (Orantes, 2005); es por eso que los módulos de membranas externas tienden a tener mayores problemas de colmatación(Field, 2010).

2.1.2.2 Filtración

El principio básico en operación de filtración dentro de un BRM es la filtración de la suspensión biológica a través de la superficie de la membrana, donde el producto de

la filtración es llamado permeado y mientras que el rechazo se le llama concentrado o retenido. Esto se puede presentar por el siguiente balance:

$$Q_f c_f = Q_p c_p + Q_c c_c \quad (2.1)$$

Dónde:

- Q_f : Gasto de alimentación de filtración
- c_f : Concentración de soluto en la alimentación
- Q_p : Gasto de permeado
- c_p : Concentración de soluto en el permeado
- Q_c : Gasto de concentrado
- c_c : Concentración de soluto en el concentrado

El rechazo de soluto R_F y el rendimiento Y_F del proceso se pueden representar por:

$$R_F = \frac{c_f - c_p}{c_f} \quad (2.2)$$

$$Y_F = \frac{Q_p}{Q_f} \quad (2.3)$$

El flujo de permeado J es el volumen de agua que pasa por unidad de área de la membrana y generalmente es normalizado a una temperatura estándar, las unidades comunes para J son $l/m^2 \cdot d$. Este flujo es relacionado con la fuerza motriz de filtración (ΔP_{resion}) mientras que el despeno de la membrana es estimado por su permeabilidad K , la cual se calcula como el flujo de permeado por unidad de presión transmembranal ($l/m^2 \cdot h \cdot bar$).

Durante el proceso de filtración de la suspensión biológica, ocurre una reducción del flujo a través de la membrana y aumenta la energía requerida para la succión, llamada también presión trasmembranal (TMP), la cual debe incrementarse durante la operación si se pretende mantener un flujo constante. Este fenómeno de ensuciamiento

de la membrana es conocido como “*fouling*” o colmatación. Este es un fenómeno complejo que entre sus principales causas esta i) la acumulación de materia coloidal, ii) El crecimiento de “*biofilms*” o biopelículas en la superficie de la membrana, iii) la incrustación de materia inorgánica y iv) el deterioro de la membrana (Judd, 2011; Radjenovic *et al.*, 2008). Usualmente para medir la colmatación en la membrana se utiliza la resistencia (R), la cual es inversamente a la permeabilidad:

$$R = \frac{\Delta P}{\eta \cdot J} \quad (2.4)$$

Donde η es la viscosidad en kg/m.s

La resistencia total de filtración R_t está integrada por tres componentes: R_m es la resistencia de la membrana, que está en función de las características propias del material tales como espesor y tamaño de poro, y determina el flujo para un líquido de un solo componente; R_c que la resistencia de la torta, donde la torta de filtración está formada por las partículas con tamaño más grande que el tamaño de poro de la membrana y que se depositan en la superficie de ésta; R_f es la resistencia por colmatación o “*fouling*”, donde se asume que esta resistencia está formada por las partículas coloidales y materia soluble acumulada en los poros y en la superficie de la membrana, y en los poros de la biopelícula formada sobre la membrana (Orantes, 2006).

$$R_t = R_m + R_c + R_f \quad (2.5)$$

Para reducir la colmatación de las membranas en los BRM generalmente se operan con flujos membranal por debajo del flujo crítico (Field, 2010), este concepto asume que para la microfiltración y la ultrafiltración existe un flujo por debajo del cual la caída de la permeabilidad con respecto del tiempo es muy lenta y por encima de éste la

colmatación se acelera (Field, 2010). El flujo crítico puede ser determinado por el método “flux-step” o de incremento gradual del flujo (Field, 2010; Ognier *et al.*, 2004; Radjenovic *et al.*, 2008), en el cual el flujo es incrementado a intervalos con una duración fija de cada incremento, mientras el incremento de TMP es registrado; de esta forma es posible determinar en qué flujo ocurre la colmatación, observando un incremento significativo de la TMP o una desviación en la linealidad de la permeabilidad K. Este método asume que la permeabilidad obtenida durante la filtración a condiciones de flujo sub-crítico es igual a la permeabilidad obtenida durante la filtración de agua pura.

Aun inclusive con la operación a flujo sub-crítico hay colmatación de la membrana. Este fenómeno está formado por dos etapas, la primera en la cual ocurre un lento incremento en la TMP en un largo periodo de tiempo, seguido de un rápido incremento en forma exponencial. En algunos trabajos (Ognier *et al.*; 2004, Pollice *et al.*, 2005) este patrón es extendido con un periodo inicial colmatación, quedando de la siguiente forma:

1.- Colmatación de acondicionamiento inicial. Este proceso se da por la interacción entre los componentes solubles y la superficie de la membrana membrana, es muy rápido e irreversible, y se da aun en condiciones de flujo cero.

2.- Colmatación lenta. Ocurre cuando gradualmente se depositan en la superficie de la membrana biopolímeros tales como EPS, formando una torta y permitiendo el la fijación de flóculos lo que conduce eventualmente a la formación de *biofilms*.

3.- Salto repentino de la TMP. Producido por el bloqueo de los poros de la membrana provocando un aumento en flujo de los que aún se encuentran libres y elevando la TMP.

La colmatación de la membrana puede ser dividida desde el punto práctico en:

- Colmatación reversible que puede ser removida mediante una limpieza física.
- Colmatación irreversible que es removida a través de un lavado químico.
- Colmatación irrecuperable que no puede ser removida por limpieza alguna.

La figura siguiente muestra el desarrollo de los diferentes tipos de colmatación con respecto a la presión, donde t_{phys} es la duración del ciclo de limpieza física y t_{chem} es la duración del ciclo de limpieza química (Judd, 2011; Radjenovic *et al.*, 2008).

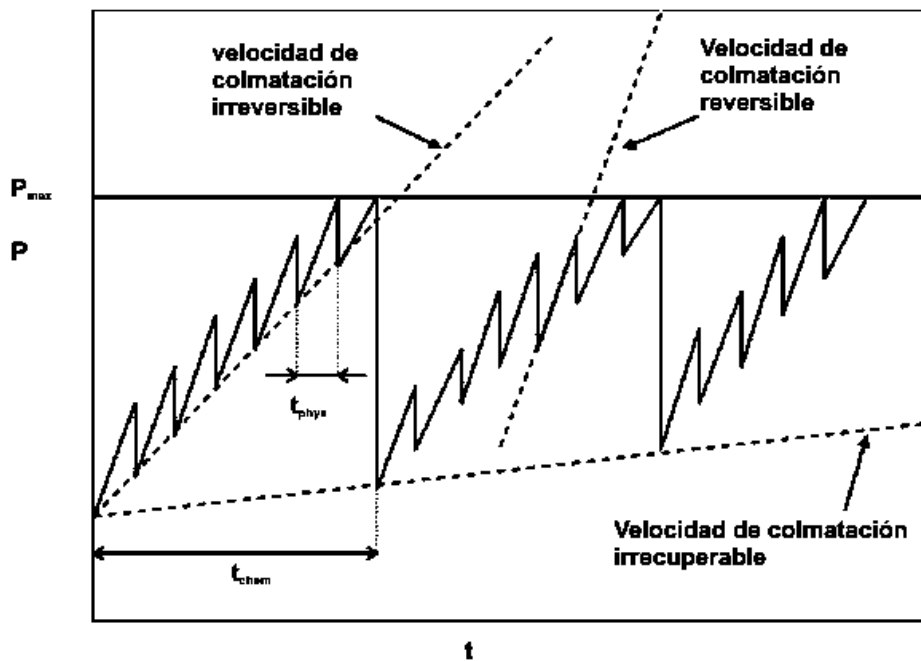


Fig. 2.4 Líneas de colmatación, presión vs tiempo

Las estrategias para evitar la colmatación de la membrana generalmente consisten en aplicar métodos físicos de limpieza, por ejemplo ciclos de retro-lavado con el agua permeada y aire o con la relajación de la membrana al cortar el flujo y dejar permitir que burbujas de aire recorran la membrana. Los lavados químicos, en cambio, tienen mayor capacidad de remover depósitos incrustados, se realizan con soluciones de hipoclorito de sodio e hidróxido de sodio para eliminar depósitos orgánicos y con una

solución ácida para remover depósitos inorgánicos. Los lavados pueden ser de tipo dinámico donde las soluciones se inyecta con el fluido del retro-lavado o estático donde solo se remoja la membrana en las soluciones. Los lavados químicos se realizan con las membranas fuera de operación. Los depósitos que no pueden ser removidos por ningún método disponible son los responsables de la colmatación irrecuperable.

Una práctica generalizada es la de colocar un difusor de aire justo debajo del módulo de la membrana que incrementa la turbulencia que dificulta la deposición de sólidos sobre la membrana y ayuda a reducir el ensuciamiento (Vizcaya *et al.*, 2006; Orantes, 2006; Witzig *et al.*, 2002).

2.1.3 Proceso biológico de degradación

2.1.3.1 Degradación Biológica

Los reactores biológicos de tratamiento de aguas residuales, incluyendo los BRM, se basan en la capacidad de degradación de la materia orgánica, por parte de los microorganismos, en compuestos más simples tales como anhídrido carbónico, metano y agua entre otros. Este proceso de degradación está completamente relacionado con los ciclos de crecimiento, desarrollo y duplicación de los microorganismos, por lo tanto existe conjuntamente una producción de nueva biomasa. Estos procesos pueden dividirse en dos etapas, catabolismo y anabolismo. El catabolismo es el proceso donde se degrada la materia orgánica, que es utilizada como sustrato, con una consecuente transformación de energía; mientras que el anabolismo es el proceso mediante el cual se sintetizan compuestos orgánicos útiles para la célula, a partir de compuestos simples y energía, ambos proporcionados por el proceso de catabolismo. Esta biomasa generada es separada posteriormente para lograr un efluente clarificado y con la menor cantidad de contaminantes posibles.

La suspensión biológica de un BRM está conformada en su mayoría por microorganismos aerobios 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, logrando de esta manera en el proceso la degradación y remoción de contaminantes que son utilizados como nutrientes para su crecimiento. Por lo tanto, es importante conocer y analizar la composición de la materia orgánica y los contaminantes de los influentes a tratar ya que el balance de los nutrientes, su disponibilidad, carga y características particulares de degradación son condiciones que dentro del reactor pueden afectar el desarrollo y funciones de los microorganismos presentes y por ende el desempeño en la remoción del reactor.

2.1.3.2 Requerimiento de nutrientes

La suspensión biológica necesita, para tener condiciones óptimas de crecimiento y degradación, una cantidad adecuada de ciertos nutrientes. Los nutrientes son divididos en macronutrientes y micronutrientes. Los macronutrientes son el carbono (C), el hidrógeno (H), el oxígeno (O), el nitrógeno (N), principal elemento de las proteínas y de los ácidos nucleicos, el fósforo (P), utilizado principalmente para la síntesis de ácidos nucleicos y de fosfolípidos. El azufre (S) el principal compuesto de algunos aminoácidos y de numerosas vitaminas; potasio (K), necesario para varias enzimas; magnesio (Mg), que participa en la actividad enzimática de transferencia de fósforo y a la estabilización de ribosomas de la membrana celular y de ácidos nucleicos; calcio (Ca), que permite la estabilización de la pared celular y el hierro (Fe), necesario para las enzimas necesarias para el proceso respiratorio. Son llamados macronutrientes por su mayor proporción dentro de los sustratos necesarios para los microorganismos de suspensión biológica, los más relevantes son C, N y P, y para sistemas de lodos activados se representan por DQO, $N-NH_4^+$, y $P-PO_4$ respectivamente, Para reactores biológicos se maneja una proporción que va de 100-150:5:1 a 150:10:5 para su óptimo funcionamiento (Metcalf *et al.*, 1996).

Dentro del grupo de micronutrientes, se encuentran: el cobalto (Co), el zinc (Zn), el molibdeno (Mo), el cobre (Cu), el manganeso (Mn), el níquel (Ni), el tungsteno (Tg) y el selenio (Se), que encontramos generalmente en la estructura de diversas enzimas. La mayoría de estos nutrientes, se encuentran normalmente presentes en las aguas residuales, de no ser así, se recomienda adicionarlos para un óptimo funcionamiento de un reactor biológico, ya que, aunque los microorganismos son capaces de adaptarse también a las condiciones de suministro de nutrientes por parte de los influentes a tratar, pueden llegar a perder eficiencia en la depuración bajo estas condiciones.

El suministro de oxígeno se debe mantener en una concentración mínima de oxígeno disuelto en el tanque de aeración entre 1 y 2 mg/l con el fin que las bacterias puedan realizar correctamente la degradación de la materia orgánica presente en el agua residual. Si la concentración de oxígeno es pequeña, entre 0 y 0.5 mg/l, los hongos pueden predominar sobre las bacterias; aunque son capaces de metabolizar casi todos los compuestos orgánicos conocidos, en condiciones ambientales óptimas no pueden competir con las bacterias.

2.2 Suspensión biológica

2.2.1 Características y composición de la suspensión biológica

Los sistemas de tratamiento biológico dependen de una gran variedad de microorganismos presentes en los biorreactores, principalmente bacterias, hongos, algas, protozoarios, metazoarios y algunos microinvertebrados. Las bacterias realizan la conversión de los compuestos orgánicos solubles en biomasa, energía y compuestos de desecho. Microorganismos más complejos, tales como protozoarios y metazoarios juegan un papel importante en la degradación de partículas orgánicas más grandes y en la depredación de las propias bacterias presentes en la suspensión, particularmente

las bacterias libres. La biomasa de un BRM es una suspensión biológica mixta aeróbica (Fig. 2.5), compuesta principalmente por organismos quimiorganoheterótrofos.

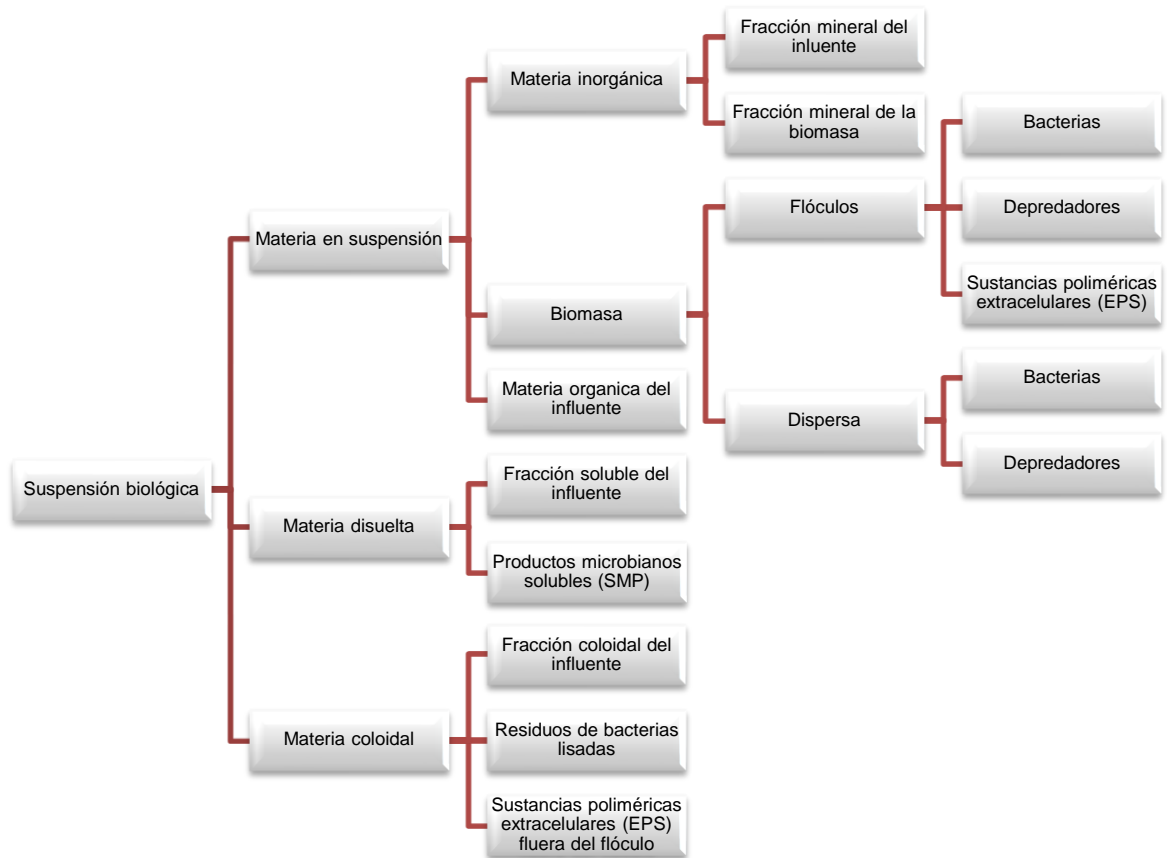


Fig. 2.5 Composición de la biomasa (Orantes, 2005)

La suspensión dentro de los reactores biológicos es un ecosistema donde una gran cantidad de factores bióticos y abióticos interactúan entre sí. Los factores bióticos de este ecosistema son todos los microorganismos presentes en una suspensión, así como sus procesos fisiológicos; dentro de los factores abióticos se encuentran el influente a tratar, que sirve como sustrato de los microorganismos, así como las condiciones físico-químicas e hidrodinámicas de operación del reactor.

2.2.1.1 Floculación

Al inicio en la operación de los reactores, los microorganismos suelen presentarse de forma libre en el medio. Sin embargo, conforme aumenta el tamaño de las poblaciones, los microorganismos se agrupan formando estructuras mixtas con la materia coloidal orgánica e inorgánica, polímeros biológicos y la materia particulada de mayor tamaño adoptando una matriz orgánica compacta llamada flóculo. La formación de flóculos en la suspensión biológica por parte de las bacterias, es una respuesta de adaptación al medio, ya que constituyen un medio de protección contra depredadores, sustancias tóxicas y condiciones hidrodinámicas agresivas, además de servir como una matriz para fijar macromoléculas de sustrato y exoenzimas para la digestión de éstas (Jenkins *et al.*, 2004; Laspidou y Rittmann, 2002; Védry, 1987). Estos flóculos pueden ser caracterizados por su estructura (tamaño, forma, firmeza y abundancia de bacterias filamentosas), propiedades físicas y por los compuestos que los componen, estas características varían de acuerdo a las condiciones del medio donde se desarrollan (fuerzas hidrodinámicas, actividad iónica, pH, temperatura, composición de sustratos, carga orgánica, etc).

Un flóculo está formado por dos componentes básicos: el biológico y el no biológico. El componente biológico es el más importante y está integrado por bacterias (formadoras de flóculos y filamentosas), protozoos y metazoos, de forma que el flóculo puede ser considerado un pequeño microecosistema con una población en estado dinámico. El componente abiótico lo constituyen las partículas orgánicas e inorgánicas presentes en el agua residual, así como los polímeros extracelulares (EPS) generados por los propios microorganismos como reserva energía o medio de cohesión.

La estructura del flóculo está determinada por dos niveles denominados micro y macroestructura (Gerardi, 2002; Jenkins *et al.*, 2004). La microestructura constituye la

base de la formación del flóculo y está determinada por los procesos de agregación microbiana y de biofloculación. Este último fenómeno es el resultado de la interacción entre los microorganismos y los EPS generados por ellos mismos. La macroestructura la forman los microorganismos filamentosos, estos son bacterias, hongos y algas en las cuales sus células no llegan a desprenderse unas de otras después de la división celular, llegando a comprender muchas células (Fig. 2.6), aportan la red o microesqueleto del interior del flóculo a la que se adhieren las bacterias formadoras de flóculos y protozoarios.

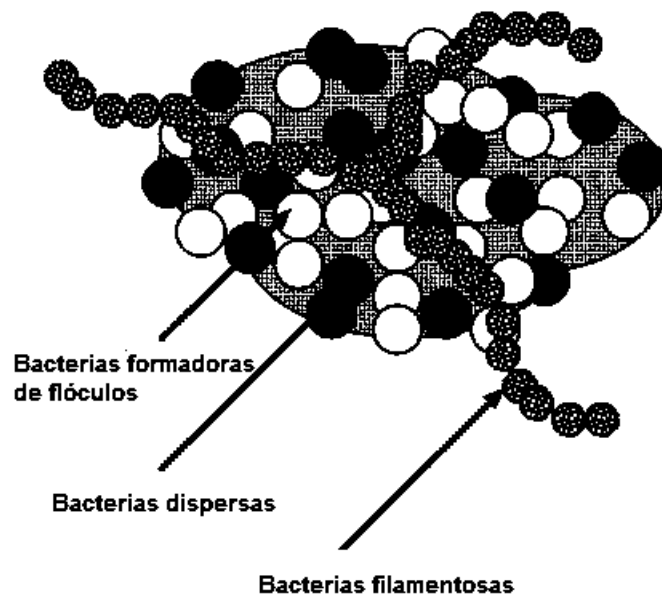


Fig. 2.6 Esquema de estructura de un flóculo (Gerardi, 2002)

Una estructura óptima de flóculo se presenta con un núcleo de materia orgánica condensada, donde se produce un ambiente anóxico y un exterior aerobio, con la consiguiente distribución espacio-temporal de los organismos implicados. Asociados a esta estructura, se encuentran los protozoos ciliados, fundamentalmente reptantes y sésiles, estableciendo cadenas tróficas.

Cuando sólo se dispone de microestructura (ausencia absoluto de bacterias filamentosas), los flóculos resultantes son esféricos y compactos, pequeños ($\leq 75 \mu\text{m}$) y muy débiles, se rompen fácilmente en un medio turbulento. La sedimentabilidad de estos flóculos es deficiente, obteniéndose un efluente con una turbidez elevada (flóculos en forma de cabeza de alfiler o *pin-floc*) en los sistemas tradicionales de lodos activados (Gerardi, 2002). En cambio, la presencia de filamentos en el interior del flóculo (macroestructura) permite formar agregados de mayor tamaño, de forma más irregular y menos compactos, que pueden resistir mejor las turbulencias producidas por la agitación o la recirculación propia del reactor, consiguiéndose una buena sedimentación en sistemas tradicionales de lodos activados. Por el contrario, cuando los organismos filamentosos crecen más allá de los límites del flóculo, se generan estructuras propicias para la interacción entre flóculos, lo que favorece el puenteo o *bridging* entre ellos, generando una matriz de flóculos muy irregulares unidos por puentes de bacterias filamentosas, lo que dificulta la sedimentación. Este fenómeno se conoce con el nombre de *bulking* filamentoso o abultamiento de lodos. Esto hace que el índice volumétrico de lodos (IVL) sea muy elevado ($> 150 \text{ ml/g}_{\text{SST}}$), es decir que se tiene un lodo muy voluminoso y poco compacto, lo que propicia escapes incontrolados de lodo del sedimentador (Ramalho *et al.*, 1996) y deteriora la calidad del efluente, así como la imposibilidad de controlar el tiempo medio de retención celular (Gerardi, 2002) en sistemas tradicionales.

En reactores biológicos con tiempos de retención celular elevados, se presenta el proceso de respiración endógena, durante el cual se metaboliza material citoplasmático rico en proteínas y ácido ribonucleico; el residuo está constituido principalmente por cápsulas celulares muy ligeras que se resisten a la sedimentación. Esta es la razón por la cual, las relaciones bajas de F/M (alimento/microorganismo) hacen que el lodo tenga características muy pobres de decantación (flóculos dispersos); mientras que cuando las relaciones de F/M son elevadas (i.e. mayores que $0.6 \text{ kg}_{\text{DBO}}/\text{kg}_{\text{SSTLM}}\cdot\text{d}$) predominan microorganismos de naturaleza filamentosa que provocan la inflación del lodo, que impide la sedimentación al permanecer casi continuamente en suspensión (Ramalho, 1996).

Un crecimiento equilibrado de bacterias filamentosas y de bacterias formadoras de flóculos permite obtener el llamado flóculo ideal, en el que los filamentos se desarrollan en el interior del flóculos, proporcionándole estructura y resistencia. Un lodo activo con este tipo de flóculos tendrá un IVL (índice volumétrico de lodos) entre 75-125 ml/g_{SST} y producirá un efluente de escasa turbidez y con escaso contenido en sólidos en suspensión en sistemas tradicionales.

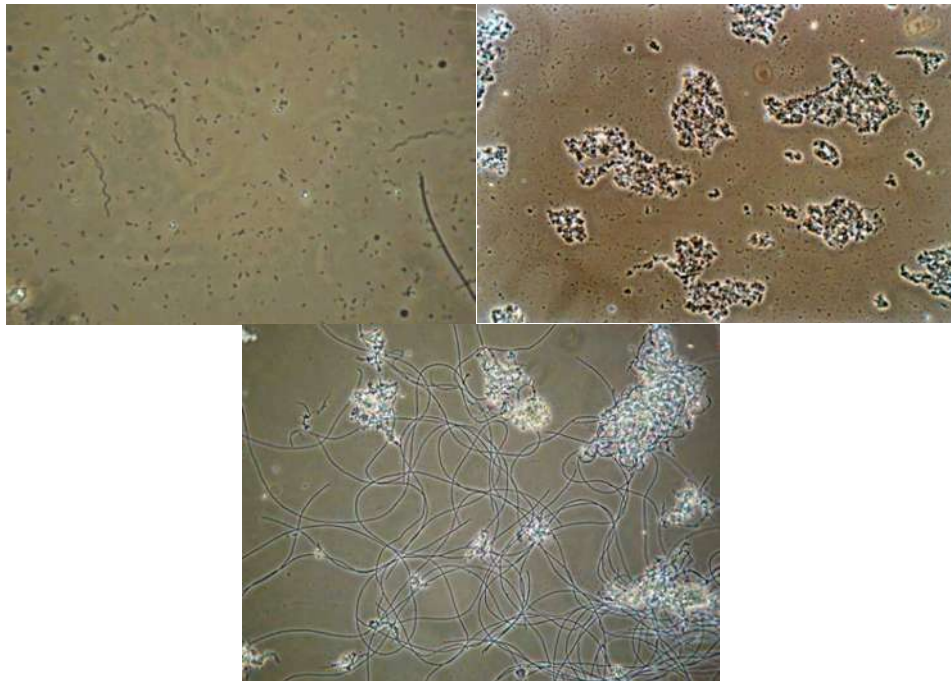


Fig. 2.7 Tipos comunes de flóculos

a).- Fotografía superior izquierda: crecimiento disperso sin formación de flóculos, b).- Fotografía superior derecha: pin-flocs c).- Fotografía inferior: binding entre flóculos por bacterias. Todas las filamentosas (Todas las imágenes 40X).

Los flóculos pasan por diferentes fases hasta alcanzar la madurez y, posteriormente, decaen cambiando su estructura y actividad durante el proceso. Conforme aumenta el tamaño de los flóculos, los procesos de difusión de nutrientes hacia el interior disminuyen, así como la expulsión de sustancias excretables. Mientras que los flóculos de mayor tamaño (3 mm) y los más ramificados son los que predominan en edades de lodo de más de 15d, para edades de 5d, normalmente, aparecen medidas de 500-1500 μm . Si la puesta en marcha ha sido reciente, el tamaño

del flóculo es pequeño (50-500 μm)(Jenkins *et al.*, 2004). Podemos, por lo tanto, diferenciar a grandes rasgos entre (Gerardi, 2002):

- Fase de formación: el flóculo apenas está definido
- Fase de crecimiento: el tamaño medio oscila en torno a 60-90 μm
- Fase de desarrollo óptimo: tamaño medio de flóculo entre 500 y 1000 μm
- Fase de envejecimiento: flóculos de tamaño excesivo, mayores de 1500 μm

2.2.1.2 EPS y SMP

Durante el metabolismo microbiano, los microorganismos producen y liberan gran cantidad de metabolitos, estos metabolitos pueden dividirse en productos microbianos solubles (SMP) y en sustancias poliméricas extracelulares (EPS), y pueden ser compuestos intermediarios o productos finales del metabolismo. Los SMP son compuestos celulares difundidos a través de la membrana celular y se encuentran disueltos en el medio. Los EPS son polímeros producidos en el metabolismo bacteriano. Pueden ser el resultado de un proceso de adaptación al medio ambiente, productos liberados en el anabolismo.

Los EPS son parte de los principales componentes de los flóculos, constituyen la mayor parte de la fracción orgánica del floculo, pudiendo constituir de entre el 50 y 60%, mientras que las bacterias solo constituyen entre el 2 y 20%. Están constituidos aproximadamente de proteínas 45 - 55%, sustancias húmicas 30-33% y polisacáridos 10% (Wilén *et al.*, 2003); muchos de estos polímeros pueden ser hidrolizados y utilizados como substratos para el metabolismo bacteriano. Los EPS son los responsables de la aglomeración de las bacterias en flóculos (Laspidou y Rittmann, 2002) así como de la filtrabilidad de la suspensión. La primera función de la matriz de EPS es la agregación de los flóculos. Sin embargo también tiene otras funciones importantes: la adhesión de superficies, la constitución de una barrera protectora contra sustancias tóxicas, depredadores u otros agentes nocivos, la retención de agua, la

adsorción de compuestos orgánicos exógenos presentes en el medio (Laspidou y Rittmann, 2002), la retención de exoenzimas cerca de la superficie de las bacterias para la degradación e hidrólisis de macromoléculas. En condiciones de baja carga orgánica las bacterias van incorporarse a ciclos donde existe crecimiento y muerte de la población microbiológica, estas condiciones se llaman endógenas. Bajo estas condiciones van consumir todos su recursos energéticos, ya sea almacenados intracelular ó la hidrolisis de compuestos extracelulares, como los EPS, provocando así un debilitamiento del flóculo, perdiendo cohesión y terminado en una ruptura y disgregación del flóculo. La cantidad y composición de los EPS por tanto tienen una gran importancia en la floculación y en las propiedades que estos flóculos van a tener dentro de la suspensión.

2.2.2 Organismos filamentosos

El crecimiento de los filamentosos depende en gran medida, de las condiciones de operación de la planta de tratamiento, tales como: concentración de oxígeno disuelto baja, deficiencia de nutrientes, pH bajo, temperatura, carga orgánica muy alta o muy baja, DBO residual soluble, composición del agua residual (e.g. con altas concentraciones de grasas y aceites), presencia de sustancias tóxicas (e.g. metales pesados) y tiempos de retención celular elevados (Jenkins *et al.*, 2004). En BRM se ha encontrado proliferación de bacterias filamentosas (Arévalo *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2007), posiblemente debido a altos tiempos de retención celular característicos en la operación de BRM o a una escasez de oxígeno disuelto debido a las condiciones reológicas de la suspensión (Laera *et al.*, 2007), además su crecimiento se ha asociado también con el proceso de filtración (Orantes *et al.*, 2006, Sun *et al.*, 2007).

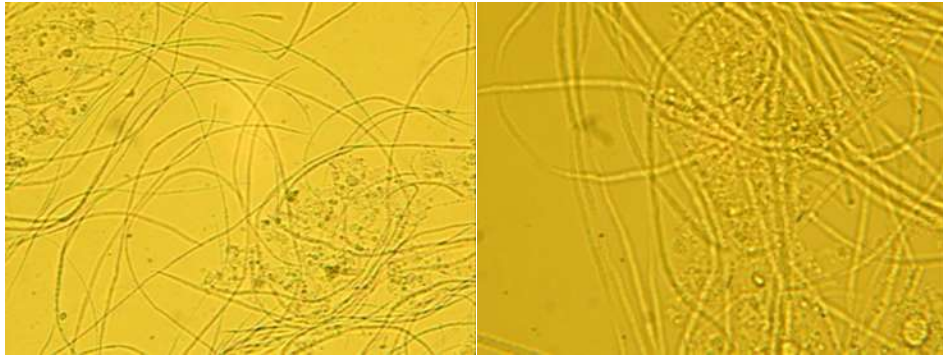


Fig. 2.8 Imágenes de suspensiones biológicas con altos índices de bacterias filamentosas (izq. 100X, der. 40X).

Los microorganismos filamentosos se identifican sobre la base de sus características morfológicas y reacciones de varios procedimientos de tinción (Eikelboom, 2000; Jenkins *et al.*, 2004), o por métodos de biología molecular, empleando su secuencia de rDNA 16S para determinar sus relaciones filogenéticas (Piterina *et al.*, 2012; Yiannakopoulou, 2010). La denominación de los microorganismos filamentosos se hace por medio del género, en otros casos se incluye la especie y en muchos otros, se usa la denominación alfanumérica. Los más comúnmente encontrados son: *Beggiatoa*, *Nocardia sp.*, *Microthrix parvicella*; *Nostocoida limicola* I, II y III, *Sphaerotilus natans*, *Thiothrix* I y II, Tipo 021N, Tipo 0041, Tipo 1863 y Tipo 0211 (Eikelboom, 2000, Jenkins *et al.*, 2004). Estos microorganismos no crecen en lodos jóvenes; cuando la edad del lodo se incrementa, los microorganismos filamentosos cortos empiezan a desarrollarse dentro de los flóculos, junto con las bacterias formadoras de flóculos incrementando progresivamente su tamaño y cambiando generalmente de forma esférica a irregular (Jenkins *et al.*, 2004; Ramalho *et al.*, 1996).

2.2.3 Microfauna de la suspensión biológica: Protozoarios y Metazoarios

Los protozoarios se encuentran en dentro de la suspensión biológica de los sistemas de depuración de aguas residuales como parte del ecosistema, realizando

funciones de depredación dentro de la cadena trófica. Estos organismos son mucho más grandes que una bacteria, su longitud puede variar de 10 a 10,000 μm y poseen formas características, su número varía de 3 a 20×10^6 células por litro y se estima que su peso seco alcanza la cantidad de 250mg/l, aproximadamente el 9% de los sólidos suspendidos volátiles (Madoni, 2011). Muchos autores han reportado listas de especies de depredadores presentes en la suspensión biológica de lodos activados: Curds (1975) reportó una lista de 228 especies presentes en plantas de tratamiento de agua residual de Europa, pero sólo un número limitado de éstas son observadas frecuentemente. Existen pocas referencias acerca del estudio de estas poblaciones de protozoarios y metazoarios en sistemas BRM (Arévalo *et al.*, 2009; Orantes, 2005), dada su importancia en la formación de la estructura de la suspensión biológica y su interacción como parte de todo un proceso biológico, es importante estudiar más a fondo estas poblaciones.

Las comunidades de protozoarios en los sistemas de tratamiento de aguas pueden ser divididos en tres grupos principalmente: flagelados, ciliados y amibas. También es posible observar metazoarios divididos en: rotíferos y nemátodos. Algunos están unidos a los flóculos (*i.e.* ciliados fijos o sésiles, trepadores y reptantes) mientras otros se encuentran presentes libres en el agua (*i.e.* ciliados nadadores libres, flagelados, rotíferos y nemátodos). El grupo dominante generalmente es el de los ciliados, tanto por número de especies, como por número de individuos y biomasa (Pauli *et al.*, 2001).

Estos microorganismos consumen materia orgánica en estado coloidal y bacterias libres o que se encuentran en los bordes de los flóculos y que no están firmemente adheridas a ellos; de esta forma cumplen con la función de remover estas células en el proceso de depuración, por ello suelen llamarse organismos filtradores o bacterívoros. Existen especies de protozoarios y metazoarios capaces de consumir pequeños flóculos o partes de estos. Otras especies se alimentan de otros protozoarios, y son llamados carnívoros.

Los ciliados son esenciales para conseguir una buena calidad del efluente en un proceso de tratamiento de aguas residuales, debido a su capacidad de depredación de las bacterias, además de estimular la floculación (Pauli *et al.*, 2001). La presencia de protozoarios fijos y reptantes está asociada con el desarrollo de flóculos y *biofilms* en superficies. La presencia de organismos filtradores en el medio indica una óptima operación del sistema y garantiza un efluente con baja turbidez en sistemas tradicionales de lodos activados. Los protozoarios excretan sustancias orgánicas e inorgánicas a la suspensión; las sustancias inorgánicas son productos finales de su metabolismo (consumo y degradación de sustratos orgánicos y bacterias), por lo que son ricas en nutrientes ya mineralizados (carbono, nitrógeno, fósforo, etc.) este proceso estimula el reciclado de nutrientes, estimulando su absorción por parte de las bacterias, acelerando su metabolismo y crecimiento; por otro lado muchas de las sustancias orgánicas puede ser compuestos estimulantes tales como aminoácidos que afectan el estado fisiológico y aumentan la tasa de crecimiento de las bacterias (Madoni, 2011; Pauli *et al.*, 2001). Consecuentemente con esto se ha relacionado un aumento en la velocidad de nitrificación de las bacterias en la presencia de protozoarios en los sistemas de depuración. Por otra parte, las poblaciones de rotíferos y en especial de nematodos han sido relacionadas con la baja producción de lodos en sistemas de tratamiento de aguas residuales (Eikelboom, 2000; Khursheed & Kazmi, 2011; Pérez-Elvira *et al.*, 2006).

2.2.3.1 Sucesión ecológica

La suspensión biológica es considerada como un ecosistema completo donde la materia y la energía se transfieren del sustrato a las bacterias y después a los protozoos y metazoos. Los sustratos, bacterias, protozoos y metazoos están conectados a través de la cadena alimenticia. Esta biocenosis en los sistemas de tratamiento, no debe ser considerada como sistema rígido con componentes y características fijas, sino más bien como un ecosistema dinámico en donde la composición de la biocenosis, y en general de la biomasa, depende principalmente de

la composición del agua residual a tratar, junto con las condiciones de operación del reactor biológico. La variación de la composición de las poblaciones presentes en una suspensión biológica ya habían sido descritas (Fig. 2.9) para un reactor de lodos activados trabajando con diferentes cargas orgánicas (Védry, 1987).

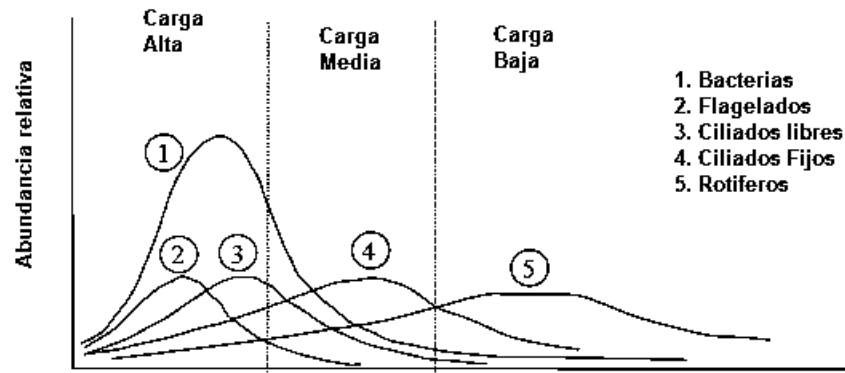


Fig. 2.9 Gráfica de abundancia relativa de microorganismos en un reactor de lodos activados, trabajando con diferentes cargas orgánicas (Védry, 1987).

Eikelboom (2000) más recientemente presenta un diagrama (Fig. 2.10) donde presentan las poblaciones predominantes de diferentes clases de metazoarios y protozoarios, con diferentes valores de carga orgánica (expresada en $\text{kg}_{\text{DBO}}/\text{kg}_{\text{MLSS}}\cdot\text{d}$) de un reactor biológico de lodos activados tradicionales.

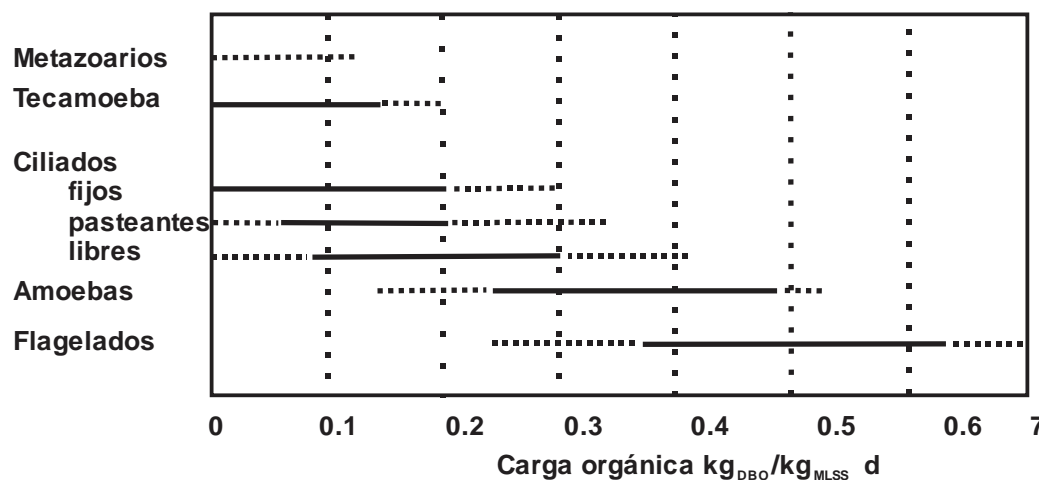


Fig. 2.10 Sucesión de clases de depredadores (Eikelboom, 2000)

Generalmente en la etapa de arranque y estabilización de un reactor biológico de lodos activados se producen sucesiones en las poblaciones de microorganismos. En la fase inicial dominan las bacterias dispersas y los protozoos que entran con el influente, principalmente flagelados por sus bajos requerimientos de energía. Posteriormente, aumenta el número de bacterias y aparecen los ciliados nadadores libres. Poco a poco se van formando los flóculos y disminuye el número de bacterias libres y de protozoos flagelados, se desarrollan los ciliados reptantes con estructuras bucales eficaces para la captura de alimento, hasta que acaban por desplazar a los ciliados nadadores libres. Posteriormente se desarrolla los ciliados fijos, ya firmemente adheridos a las superficies de los flóculos. Al final aparecen los metazoos por encontrarse en el final de la cadena trófica. El grado de madurez de un lodo se puede apreciar observando la aparición o desaparición de los distintos grupos de bacterias, protozoos y macroinvertebrados presentes en él (Madoni, 2011).

Sin embargo, las sucesiones de microorganismos que tienen lugar en un reactor biológico no solo ocurren como resultado de relaciones tróficas, sino que pueden ser debidas también a algunas alteraciones en las condiciones de operación del proceso (e.g. cambios en el tiempo de retención celular, sustancias tóxicas para algún grupo de microorganismos, particularmente metales pesados y cianuros, disminución en la concentración de oxígeno disuelto, pH fuera del rango de 6 a 8 y aumento de la temperatura). Los ciliados y rotíferos generalmente son los primeros afectados por la presencia de compuestos tóxicos (Pauli *et al.*, 2001), es por ello que pueden servir como bioindicadores. El primer signo de toxicidad o estrés suele ser, la disminución o cese de movimiento en los ciliados. Luego aumenta el número de flagelados y pequeños ciliados móviles. Los flóculos se rompen con lo cual hay un aumento de bacterias dispersas y hay un aumento de la turbidez. Estas bacterias dispersas son utilizadas por los flagelados y pequeños ciliados como fuente de alimento. En algunos casos, estos protozoos muertos pueden causar espumas en los lodos activados (espumas blancas que contienen protozoos y fragmentos de protozoos).

La abundancia relativa de diferentes especies de depredadores es dependiente de las condiciones de operación de un reactor y esta abundancia relativa de depredadores será a su vez un factor importante que puede modificar la estructura y características de los flóculos de la suspensión, influyendo así en el desempeño del reactor. Existe una gran cantidad de literatura respecto al monitoreo de las grupos de depredadores para para el manejo y operación de sistemas tradicionales de lodos activados. En cambio para el manejo de un BRM no existe aún literatura suficiente que pueda relacionar estos conceptos con la operación del reactor.

2.2.3.2 Métodos para el análisis de diversidad ecológica

La suspensión biológica de un sistema de depuración es un microcosmos donde existe un ecosistema dinámico en el cual las poblaciones de las diferentes especies de bacterias, hongos, algas, protozoarios y metazoarios forman una comunidad biótica. La distribución de poblaciones, su modificación, aparición, desaparición y sucesiones constituyen una respuesta a los cambios en los factores bióticos y abióticos con los que interactúan (e.g. las condiciones de operación de un reactor). La diversidad y densidad de la microfauna dentro de un reactor biológico está altamente relacionada con su desempeño (Madoni, 2011; Martins *et al.*, 2003; Pauli *et al.*, 2001), asimismo la abundancia relativa de un determinado microorganismo o su taxa en un hábitat particular puede ser considerada como una medida de su significancia dentro de la estructura ecológica del sistema biológico. En la medida en la que la diversidad y la abundancia de los factores bióticos de un reactor biológico puedan ser descritos, podrán relacionarse con las condiciones de operación del sistema y sus condiciones particulares.

La diversidad es una propiedad fenomenológica que pretende expresar la complejidad de las comunidades, en nuestro caso, elementos bióticos que se

desarrollan en la suspensión biológica. El desarrollo de una medida que permita expresar de manera clara y comparable la diversidad presenta dificultades y limitaciones ya que no se trata simplemente de medir una variación de uno o varios elementos comunes, sino de cuantificar y ponderar cuántos elementos o grupos de elementos diferentes existen, es decir una medida de su complejidad. Las medidas de diversidad existentes son modelos cuantitativos de una realidad cualitativa con límites variantes en cuanto a sus aplicaciones y alcances. Las medidas de diversidad más sencillas consisten en índices matemáticos que enuncian la cantidad de información y el grado de organización de la misma, expresados por las relaciones de riqueza (cantidad) y de la abundancia relativa (organización) de los elementos de una comunidad. La principal ventaja que se buscan en estos índices es que resuman mucha información en un solo valor y nos permitan hacer comparaciones rápidas y sujetas a comprobación estadística entre la estructura de distintas comunidades o de una misma comunidad a través del tiempo. Los estudios sobre medición de diversidad ecológica se han centrado en la búsqueda de parámetros para caracterizarla como una propiedad de las comunidades ecológicas (Magurran, 2004). Básicamente las expresiones de diversidad consideran tres aspectos:

- Riqueza: Es el número de elementos, número de especies o grupos.
- Abundancia relativa: Es la incidencia relativa de cada uno de los elementos en relación a los demás.
- Diferenciación: Es el grado de diferenciación, taxonómica o funcional de los elementos.

De acuerdo a la escala espacial en la que se mide la diversidad biológica, se habla de diversidad alfa (α : diversidad puntual), beta (β : diversidad entre hábitats) y gamma (γ : diversidad a escala regional). La diversidad alfa es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea, la diversidad beta es el grado de cambio o remplazo en la composición de especies entre diferentes comunidades en un paisaje, y la diversidad gamma es la riqueza de especies del

conjunto de comunidades que integran un paisaje, resultante tanto de las diversidades alfa como de las diversidades beta (Moreno, 2001). Dentro de un reactor biológico para el tratamiento de aguas residuales, el ecosistema es considerado un microcosmos que es la reproducción de condiciones ambientales un espacio controlado. Por lo tanto comunidad de especies que componen el ecosistema dentro de la suspensión biológica y sus cambios ocurrirán en un mismo espacio y podrán ser descritos por la diversidad alfa, la variación en el tiempo de estas comunidades podrá ser estudiada por la diversidad beta.

La riqueza específica (S) es la forma más sencilla de medir la diversidad alfa, ya que se basa únicamente en el número de especies presentes, sin tomar en cuenta el valor de importancia de las mismas. Los métodos para medir la diversidad alfa basados en la estructura de la comunidad se pueden dividir en índices de equitatividad y dominancia. Los índices basados en la equitatividad definen la descripción de la igualdad de la abundancia de las especies. Los índices basados en la dominancia son parámetros inversos al concepto de uniformidad o equidad de la comunidad y toman en cuenta la representatividad de las especies con mayor valor de importancia sin evaluar la contribución del resto de las especies. Para este trabajo se utilizaran los índices de dominancia de Simpson (D), Shannon (H´):

- Simpson. Es un índice de dominancia que mide la probabilidad de que dos individuos tomados al azar de una comunidad infinitamente grande pertenezcan a la misma especie. Este índice está fuertemente influido por la importancia de las especies más dominantes y es poco sensible a la riqueza de especies (Magurran, 2004). Conforme se incrementa la dominancia (D) la diversidad disminuye; por lo que el índice generalmente se expresa como Complemento de Simpson (1-D) o como el Recíproco de Simpson (1/D), de tal forma que puede ser utilizados como medida de diversidad. El Recíproco es la forma más utilizada, sin embargo se ha observado (Magurran, 2004) que la diversidad global de un conjunto de comunidades medidas como el recíproco (1/D) puede

ser menor que la diversidad promedio de éstas comunidades por lo que se recomienda usar más bien el Complemento de Simpson (1-D).

$$D = \sum p_i^2 \quad (2.6)$$

Dónde:

p_i : Proporción de individuos de la i-esima especie

- Shannon. Este índice tiene orígenes en teorías informáticas. y está basado en el concepto de que la diversidad o información. En un sistema natural puede ser medido en una forma similar a la información contenida en un mensaje o un código (Magurran, 2004). Expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra. Mide el grado promedio de la incertidumbre de predecir a que especie pertenecerá un individuo escogido al azar de una colección (Moreno, 2001). Asume que los individuos son muestreados al azar y todas las especies están representadas en las muestras. Este índice da mayor peso a la diversidad y es el índice más ampliamente popular (Magurran, 2004).

$$H = -\sum p_i \ln p_i \quad (2.7)$$

La diversidad beta, por otro lado, mide que tan diferentes o similares son un conjunto de comunidades o de una misma comunidad a través de un gradiente de cambio (e.g. con respecto del tiempo) en términos de la diversidad de especies presentes en ellos (Magurran, 1998). La diversidad beta puede contrastar por lo tanto cuantitativamente como cualitativamente la composición de diferentes comunidades. La forma más sencilla para medir la diversidad beta es el uso de los coeficientes de

similaridad, Actualmente los índices más utilizados son por su simplicidad es el índice de Jaccard y el índice de Sorenson:

$$\text{Jaccard} \quad C_j = \frac{j}{a+b-j} \quad (2.8)$$

$$\text{Sorenson} \quad C_s = \frac{2j}{a+b} \quad (2.9)$$

Donde:

j: Número de especies encontradas en los dos sitios

a: Número de especies en el sitio A

b: Número de especies en el sitio B

Estos índices tienden a valores de 1 cuando los sitios son completamente similares y tienden a 0 cuando son completamente disimilares o no comparten especies. La desventaja de estos índices es que no toman en cuenta las abundancias de especies por lo tanto son solo cualitativos. Se han desarrollados índices cuantitativos que toman en cuenta también la abundancia relativa de cada especie. La versión modificada por Bray y Curtis del índice de Sorensen (también llamado índice cuantitativo de Sorensen) y la versión modificada del índice de Morisita-Horn han sido utilizados ampliamente (Magurran, 1998) mostrando valores confiables.

$$\text{Bray-Curtis} \quad C_N = \frac{2jN}{(N_a + N_b)} \quad (2.10)$$

$$\text{Morisita-Horn} \quad C_{MH} = \frac{2 \sum (a_i \cdot b_i)}{(d_a + d_b) \cdot N_a \cdot N_b} \quad (2.11)$$

Donde:

N_a : Número total de individuos en A

N_b : Número total de individuos en A

jN : Sumatoria de la abundancia más baja de cada una de las especies compartidas entre ambos sitios

“d” se calcula como sigue:

$$d_a = \frac{\sum a_i^2}{N_a^2} \quad (2.12)$$

Cuando existen múltiples sitios, una forma práctica de analizar la diversidad beta puede ser obtenida a través del análisis de cluster. Un análisis cluster es un término utilizado para agrupar técnicas ciertas numéricas con el objeto de dividir objetos de estudio en grupos discretos, basados en las características de tales objetos. Un análisis de cluster inicia con una matriz donde se establece la similaridad entre cada par de sitios, de ahí, los sitios más similares en la matriz son agrupados en un cluster, el cual será nuevamente comparado con los demás sitios sucesivamente, hasta que todos los sitios similares son organizados en clusters. Al final todo en su conjunto formara un dendograma.

2.3 Antecedentes

Desde la aparición de los sistemas de tratamiento de aguas residuales por medio de biorreactores con membranas, se ha generado una extensa literatura sobre su estudio, sin embargo esta ha sido focalizada principalmente al proceso de filtración y colmatación de la membrana, ya que esta es una parte limitante en la eficiencia y viabilidad del proceso de depuración, dejando de lado el sistema biológico del proceso (Judd, 2008, Yang *et al.*, 2006). Dados los avances realizados en la fabricación y materiales de las membranas, así como la optimización de proceso de filtración y manejo de la colmatación, cada vez se vuelven más asequibles para su uso en el tratamiento de aguas residuales urbanas, pero es necesario generar mayor conocimiento sobre las características de la biomasa y de los procesos biológicos que ocurren en los biorreactores con membranas sumergidas. Se han realizado relativamente pocos trabajos donde se estudian diferentes aspectos de la biomasa y su relación con el proceso de depuración:

Orantes *et al.* (2006) realizan un estudio donde evalúan los cambios en la permeabilidad de la membrana en función de las diferentes características de la suspensión, el medio filtrante y las condiciones hidrodinámicas en el reactor. El experimento fue desarrollando en un reactor biológico experimental trabajando con tres módulos de membranas diferentes. Corrieron experimentos con tres cargas volumétricas y con retención total de biomasa. En cada una de ellas el reactor fue inoculado con lodos activados provenientes de una planta de tratamiento de aguas residuales urbanas que fueron evolucionando en función de las condiciones de operación del BRM. Orantes *et al.* relacionan las condiciones de operación de un BRM con varias características de la suspensión biológica (e.g. la densidad de bacterias filamentosas, el tamaño de flóculos, la concentración de SMP en el reactor). Sus resultados muestran una importante relación entre la densidad de bacterias filamentosas, el tamaño de flóculos y la liberación de EPS, derivada de la desfloculación, con una mayor velocidad de colmatación de las membranas, quedando

de manifiesto la importancia de las características de la suspensión biológica en la eficiencia de operación de un BRM. También hacen un seguimiento de las diferentes clases de protozoarios y metazoarios durante la evolución de la biomasa, pero concluyen que es necesario realizar estudios más a fondo sobre estas poblaciones y su relación con las características morfológicas de los flóculos, la densidad de bacterias filamentosas y el desempeño del BRM, tanto en la filtración como en la degradación biológica (Orantes, 2005).

Otros estudios se han enfocado en determinar las características físicas y reológicas de la suspensión biológica (e.g. viscosidad, compresibilidad, resistencia a la filtración específica, tiempo de succión capilar y el índice volumétrico de lodo) (Laera *et al.*, 2007; Pollice *et al.*, 2007), en BRM operados a diferentes tiempos de retención celular (TRC) y analizan su relación con la concentración de sólidos suspendidos del licor mezcla (SSLM) en equilibrio. También hay diversos estudios (Heran *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2001; Spérandio *et al.*, 2005) que han estudiado la biomasa de un BRM a nivel biocinético utilizando como variable de operación el tiempo de retención celular (TRC) y la carga orgánica (CO) y realizan un análisis comparativo con el comportamiento biológico de los sistemas tradicionales de lodos activados. Baek y Pagilla (2009) realizaron estudios acerca de las comunidades bacterianas en un BRM a través de análisis de fluorescencia con hibridación in-situ (FISH) y también hacen un análisis comparativo de las poblaciones con las de un reactor de lodos activados tradicionales.

Spérandio *et al.*, (2005), analizan con un analizador laser, el tamaño de flóculos para dos TRC y encuentra que hay diferentes distribuciones granulométrica de los flóculos. Con el TRC convencional encuentra una distribución bimodal, encontrando simultáneamente flóculos de 240 μ m y microflóculos de 1-15 μ m; por otro lado, con un TRC elevado (i.e. 106d), se produce una disminución del tamaño promedio de flóculos de 240 a 70 μ m.

Sun *et al.*, (2007) analizan la evolución del índice volumétrico de lodos (IVL) como indicador de la sedimentabilidad de la biomasa y la presencia de bacterias filamentosas en la suspensión biológica, relacionándola con el proceso de colmatación de la membrana. Encontraron una aceleración de la velocidad de colmatación y una reducción del tiempo de filtración estable cuando el IVL aumentaba. Li *et al.*,(2008) realiza un estudio donde evalúan la densidad de bacterias filamentosas en un BRM a través del Filament Index (FI) (Jenkins *et al.*, 1993) y lo relacionan con las propiedades de la biomasa, cuantificación de EPS, tamaño y densidad de flóculos; obteniendo correlaciones entre el tamaño de flóculos y la densidad de bacterias filamentosas, no así con la cuantificación de EPS.

Arévalo *et al.*, (2009) evaluaron el Índice Biótico de Lodos (SBI por sus siglas en inglés: Sludge Biotic Index) (Madoni, 1994) en un BRM, con módulos de membranas externa, a fin de encontrar una relación entre el SBI y la eficiencia en la depuración del BRM. El estudio se realizó durante 150d donde operaron a dos tiempos de retención celular (TRC) de 25 y 35d, mostrando diferente composición de la biomasa en ambos escenarios (SSV). Madoni (1994) propuso el SBI basado en las comunidades de protozoarios presentes en los sistemas de lodos activados, para la evaluación del desempeño biológico de la suspensión en el reactor. Este índice está basado en dos principios, primero en la presencia de grupos clave de microfauna relacionados a condiciones ambientales y operacionales del reactor; y segundo, la pérdida de la diversidad de especies conforme el desempeño de la planta se deteriora. De esta forma se buscó relacionar estos grupos de microorganismos con los parámetros de operación de un reactor y proponen una división en dos grupos: (i) los positivos para la operación como ciliados fijos, reptantes, y amibas testadas; y (ii) los negativos, tales como flagelados, ciliados libres, *Vorticella microstoma*, *V. infusionum* y *Opercularia spp.* La ventaja de este índice es que provee valores numéricos que pueden ser comparados y monitoreados y es un primer indicativo del uso de medición de la diversidad biológica como herramienta para caracterizar poblaciones de microorganismos en un BRM y relacionarlos con su desempeño. Arevalo *et al.*, reportan la presencia de flóculos pequeños (<150µm), irregulares y fragmentados, con gran cantidad de bacterias

dispersas y bacterias filamentosas. Arevalo *et al.* no encontraron relación alguna entre el SBI de las condiciones de operación evaluadas (i.e. TRC) y la eficiencia de depuración, sin embargo encontraron una modificación entre las poblaciones de protozoarios y metazoarios, que disminuyeron el SBI, durante las etapas de estabilización de cada TRC por lo que sugieren que sí podría estar relacionados con el proceso de estabilización y con algunos otros problemas de operación como una incorrecta oxigenación o presencia de sustancias tóxicas.

El presente estudio tiene el objetivo de analizar la evolución de las poblaciones de microfauna, morfología de flóculos y abundancia de bacterias filamentosas de manera integral durante la adaptación de la biomasa a condiciones de BRM, a fin de identificar las posibles relaciones de estas características de la biomasa con los parámetros de operación (i.e. carga orgánica), desempeño, eficiencia y estabilización de sistemas BRM.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Reactor biológico de membranas sumergidas

3.1.1 Descripción del reactor piloto

La experimentación se realizó en un reactor a escala laboratorio, de acrílico transparente, con capacidad de 70L, de forma cilíndrica con un remate en la base inferior de cono truncado (Fig. 3.1). En parte inferior se encuentra un plato difusor circular de membrana fina de 22cm de diámetro, que se utilizó para la aeración y agitación de la suspensión biológica del reactor. El aire fue suministrado por un soplador centrífugo conectado al difusor. Justo por encima del plato difusor y alineado en el centro del reactor está colocado el módulo de membranas.



Fig. 3.1 Reactor experimental

La alimentación del BRM y la extracción del permeado se realizaron por medio de bombas peristálticas (Watson marlow®). Se contó con un sensor de temperatura, un calentador eléctrico y un enfriador chiller para el monitoreo y ajuste de la temperatura. La presión transmembranal fue monitoreada por medio de un transductor de presión (Fig. 3.2.a) unido a la línea de succión, este transductor está conectado a una pc a

través de una tarjeta de adquisición de datos (National Instruments®) y al software Labview®, con el cual se registró la presión a intervalos de 10 s.

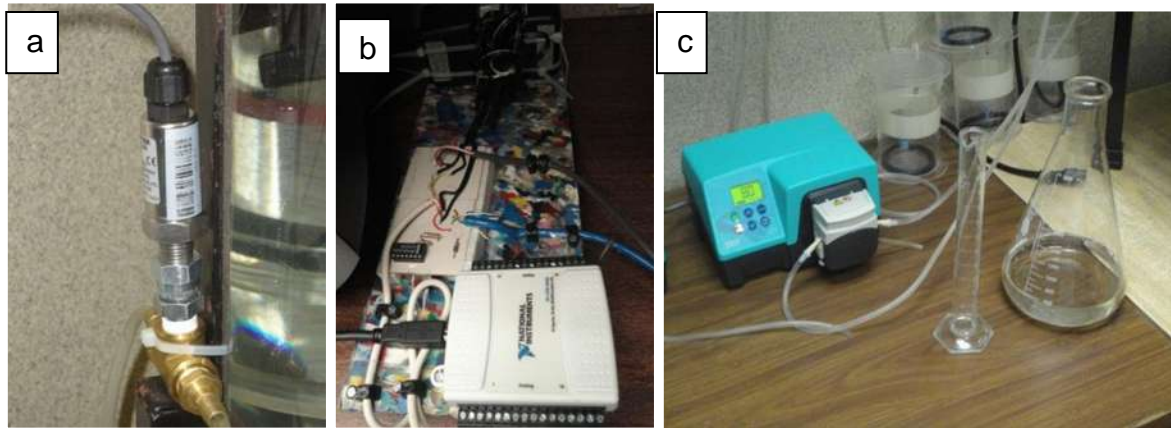


Fig. 3.2 Equipos para registro de TMP

- a) Transductor para al monitoreo de la presión transmembranal, b) placa de adquisición de datos (presión y temperatura), c) bomba peristáltica utilizada para la extracción del permeado

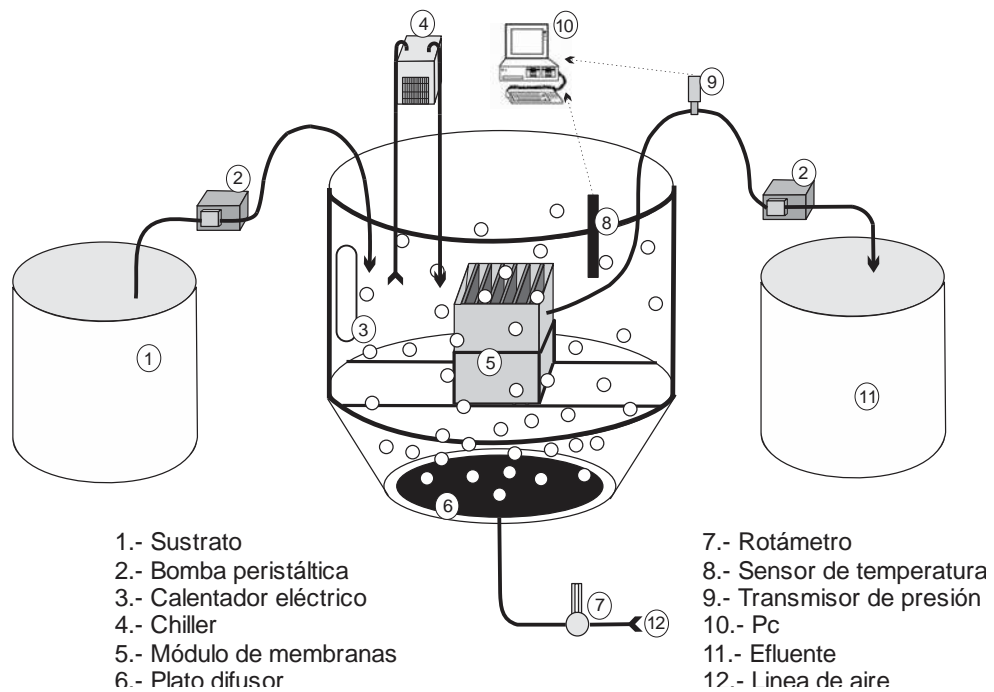


Fig. 3.3 Diagrama general de operación del BRM

Durante la fase experimental se hizo un seguimiento de diversos parámetros de operación del reactor (Tabla 3.1) durante todo el periodo de evolución de la biomasa, desde su inoculación con biomasa de lodos activados, hasta su adaptación a las condiciones de operación de un BRM operado con retención total de biomasa.

Tabla 3.1 Parámetros monitoreados, métodos utilizados, equipo de medición y frecuencia de muestreo del reactor durante el periodo experimental.

Parámetros:	Equipos:	Frecuencia de medición
pH	Medidor de pH (Hach-EC10)	Diario
Oxígeno disuelto	Medidor de oxígeno disuelto (Hach-Sension6)	Diario
Temperatura	Termómetro y sensor de temperatura (Hach-Sension6)	Diario
Demanda Química de Oxígeno total (DQO _{Tot})	Digestor de DQO y espectrofotómetro (Hach DR12010)	2 / semana
Demanda Química de Oxígeno soluble (DQO _{sol})	Digestor de DQO y espectrofotómetro (Hach DR12010)	2 / semana
Demanda Química de Oxígeno en permeado (DQO _{perm})	Digestor de DQO y espectrofotómetro (Hach DR12010)	2 / semana
Sólidos Suspendidos Totales en el licor mezcla (SST)	Método por gravimetría (Métodos estandarizados)	2 / semana
Sólidos Suspendidos Volátiles en el licor mezcla (SSV)	Método por gravimetría (Métodos estandarizados)	2 / semana
Gasto de influente y permeado	Método por volumetría	Diario
Presión transmembranal	Proporcionada a través de un transductor de presión y registrada por medio de Labview® en una pc	Continuo
Velocidad de consumo de oxígeno (OUR)	Respirometría realizada con medidor de oxígeno disuelto (Hach-Sension6)	2 / semana

3.1.2 Inóculo

El reactor se inoculó con lodos activados provenientes de la planta de tratamiento de aguas residuales “Las Garzas” del municipio de Pátzcuaro (Fig. 3.5). Se utilizaron 75 L (Fig. 2.1) y se determinaron sus condiciones iniciales (Tabla 3.2).

Tabla 3.2 Características del lodo para inóculo

DQO _{tot} (mg/l)	DQO _{sol} (m/l)	SSV (mg/l)	SST (mg/l)
1210	11	720	1020



Fig. 3.4 Reactor biológico de la PTAR “las Garzas”, en Pátzcuaro, Mich.



Fig. 3.5 Vista del BRM experimental recién inoculado

3.1.3 Módulo de membranas

La membrana es de material polimérico PVDF (polifluoruro de vinilideno) con las siguientes características:

Tabla 3.3 Características de la membrana

Concepto	Dimensión	Unidad
Diámetro de poro	0.14	μm
Número de hojas	8.00	pieza
Espacio entre hojas	12	mm
Área de filtración	0.20	m^2
Densidad de área	54	m^2/m^3
Resistencia nominal	1×10^{12}	m^2/m^3



Fig. 3.6 Imagen del módulo de membranas instalado en el BRM

3.2 Condiciones de operación

3.2.1 Condiciones de filtración

3.2.1.1 Condiciones hidráulicas

El mezclado de la suspensión biológica fue realizado por el aire inyectado por el plato difusor, colocado justo debajo del módulo de membranas. La corriente de aire induce la circulación de la biomasa y garantiza un mezclado completo de la suspensión biológica. Adicionalmente la corriente ascendente generada ocasionará la incidencia de fuerzas cortantes sobre las hojas del módulo de membranas, favoreciendo así una reducción en la velocidad de colmatación.

Tanto el gasto de alimentación de sustrato como el gasto de extracción del efluente fueron regulados a través de bombas peristálticas (Watson Marlow®). Para fines de comparación con otros estudios (Orantes *et al.*, 2006, Valle-Fernandez, 2012) ambas bombas se ajustaron para obtener un gasto de 1 l/h, correspondiente a un flujo membranar de aproximadamente 5 l/h·m².

3.2.1.2 Flujo crítico de la membrana

Para lograr una filtración constante, reducir la colmatación de la membrana y reducir la necesidad de lavado químico de la misma y por evitar interrupciones en la operación del BRM, se decidió operar la filtración en régimen subcrítico. Por lo tanto, se determinó la resistencia inicial de la membrana y el flujo crítico empleando la metodología de flux-step (Field, 2010; Ognier *et al.*, 2004; Radjenovic *et al.*, 2008). Se encontró una resistencia inicial experimental de 8.148×10^{11} m²/m³ y un flujo crítico de 207 l/h·m²(Anexo I).

3.2.1.3 Protocolo de lavado de la membrana

Al inicio de la corrida experimental se realizó un lavado químico de la membrana. Posteriormente se determinó operar la filtración con una tolerancia máxima de PTM = 0.5 bar, por lo tanto, durante la operación, cada vez que se haya presentado la colmatación de las membranas (i.e. PTM = 0.5 bar) será necesario realizar un lavado químico de las mismas, conforme a las recomendaciones del fabricante:

Tabla 3.4 Etapas de lavado químico de las membranas

Etapas de lavado	Concentración	Duración
Inmersión en solución de hidróxido de sodio	4 g/l	24 h
Inmersión en solución de ácido cítrico	22 g/l	5 h
Inmersión en solución de hipoclorito de sodio	0.2 g/l	5 h

Antes y después de cada etapa se realiza un lavado a chorro directo de baja presión con agua limpia y corriente hasta remover el exceso de biomasa sobre las hojas del módulo de membranas.

3.2.2 Condiciones fisicoquímicas

El pH del reactor se midió con un medidor de pH (Hach®), el reactor se mantuvo en un rango de pH = 8 ± 1 , utilizando ya sea solución de hidróxido de sodio 1 molar o ácido sulfúrico 1 molar según se requirió. La temperatura del reactor se mantuvo a $20 \pm 1^\circ\text{C}$ a través de un calentador eléctrico y un *chiller* como sistema de enfriamiento. La experimentación se realizará sin limitación de oxígeno disuelto por lo que la concentración se mantuvo en concentraciones OD ≥ 2 mg/l.

3.2.3 Condiciones biológicas

3.2.3.1 Carga orgánica de trabajo

Se ajustaron las concentraciones de nutrientes y los flujos de las bombas de sustrato y permeado para lograr una carga orgánica volumétrica $CV = 0.8 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{m}^3\cdot\text{d}$ a la cual se operó el reactor para obtener condiciones comparables con estudios similares (Orantes *et al.*, 2006; Valle-Fernandez, 2012). La variable de operación será la carga orgánica másica ($CO = [\text{kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}\cdot\text{d}]$). El BRM se operó con retención total de biomasa, por lo tanto no se realizó purga de lodos (salvo lo necesario para los análisis de laboratorio), acumulando así la biomasa e incrementando la concentración de sólidos suspendidos volátiles hasta obtener concentraciones características de la operación de biorreactores de membrana sumergida ($SSV > 5 \text{ g}_{\text{SSV}}/\text{l}$). La carga orgánica másica en el reactor, por el contrario fue disminuyendo hasta alcanzar su estabilización.

3.2.3.2 Sustrato

La alimentación del reactor se realizó utilizando un agua residual sintética preparada, a base de acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$) complementado con nitrato de amonio (NH_4NO_3) y fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) con un aporte de nutrientes con una relación C:N:P de 150:10:5 respectivamente. Como micronutrientes se utilizaron NaCl , MgSO_4 y CaCl_2 . El sustrato fue neutralizado a pH de 7. Se seleccionó el acetato de sodio como fuente de carbono por ser de fácil y rápida asimilación para los microorganismos, lo que permitirá evitar interferencias en cuanto al desarrollo de la biomasa y su estudio, además de que permite cuantificar de manera indirecta la concentración de SMP en la suspensión biológica ya que la totalidad del acetato es degradada en estas condiciones de operación (Orantes, 2005) y por lo tanto la DQO_{sol} de la suspensión biológica corresponde a los SMP producto del metabolismo bacteriano..

3.3 Determinación de las características morfológicas de los flóculos

Se determinaron las principales características morfológicas en muestras de la suspensión biológica. Se tomaron muestras de 25µm (Arévalo *et al.*, 2009). Se colocaron en un portaobjetos y se usaron cubreobjetos de 24x24mm. Las muestras en el portaobjetos fueron observadas en el microscopio con los objetivos de 100x y 40x. Se tomaron fotografías con una cámara (Motic Advance ®), tomando un mínimo de 80 campos de visión consecutivos, los cuales fueron unidos en una sola imagen mediante software (ImagePro®). Las muestras fueron tomadas una vez por semana y se realizó un reporte detallando las características observadas y las imágenes analizadas. Se midió un promedio de 150 flóculos por muestreo, a los cuales se les midieron su diámetro mayor y diámetro menor, se obtuvo el diámetro promedio de cada flóculo y posteriormente se calcularon los estadísticos de la muestra y se clasificaron en base a su forma, firmeza y estructura. Las características a describir se basan en las escalas y criterios propuestos por Védry (1987) y Eikelboom (2000):

- **FORMA.** La forma de los flóculos puede variar desde redondos hasta llegar a ser irregulares. La escala de valoración de las observaciones será de redondos, irregulares y muy irregulares.
- **ESTRUCTURA.** La estructura de los flóculos pueden ser dos comportamientos opuestos: flóculos compactos y flóculos dispersos. Las observaciones se clasificarán en flóculos: compactos, ligeramente dispersos, dispersos y muy dispersos. También se tomará en cuenta la dispersión de los flóculos por bacterias filamentosas.
- **FIRMEZA.** Se determinara la firmeza del flóculo, pudiendo distinguir entre flóculos firmes donde el flóculo y el agua que lo rodea están claramente separados y flóculos débiles en donde la interface entre el flóculo y el líquido que lo rodea no está claramente definido, debido a que existen células libres en los bordes del flóculo. Se clasificaran en firmes y débiles.
- **TAMAÑO.** Se medirá el tamaño del diámetro promedio del flóculos, sin tomar en cuenta ramificaciones ni irregularidades. La medición se realizará utilizando las

utilidades que están dentro del programa para captura y edición de imágenes que viene acompañando el microscopio y la cámara. Los flóculos se podrán distinguir entre: pequeños flóculos (diámetro menor de 25 μm), flóculos medianos (diámetro entre 25 - 250 μm) y flóculos grandes (diámetro mayor de 250 μm).

3.4 Determinación de la densidad de microorganismos filamentosos

Se estimó la densidad de microorganismos filamentosos utilizando el índice de filamentos (IF) citado por Eikelboom (2000), el cual es una medida del número de microorganismos filamentosos, que ha sido empleado en reactores de lodos activados. El IF maneja una escala que va de 0 a 5 (de ninguno a muchos filamentos), su determinación tiene un grado de subjetividad, por lo que regularmente se emplea una guía visual (Fig. 3.7) para la estimación del IF.

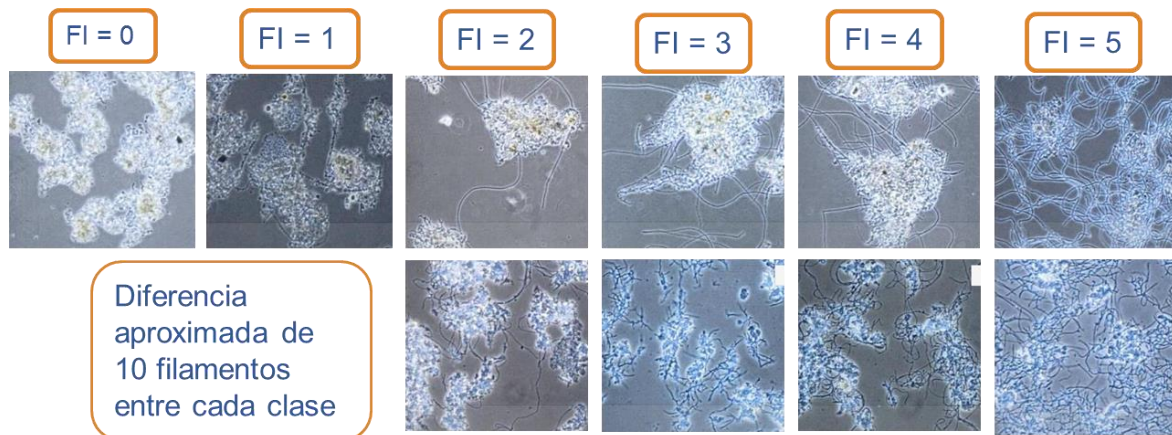


Fig. 3.7 Guía visual para la estimación del Índice de filamentos (Eikelboom, 2000)

3.5 Determinación de las poblaciones de microfauna

3.5.1 Abundancia relativa de microfauna

Los conteos se realizaron tomando como base las técnicas propuestas por Madoni (1994) utilizando muestras de 25µl sobre un portaobjetos y usando un cubreobjetos de 18x18mm. Se tomarán de 3 a 6 muestras (Dubber y Gray, 2009; Madoni, 1994), y se realizó un conteo por campo, de protozoarios y metazoarios presentes en la muestra, se identificaron a nivel de género y se clasificaron con base en los grupos principales (ciliados fijos, ciliados reptantes, ciliados libres, ciliados carnívoros, amebas testadas, rotíferos, suctíferos y nematodos) (Madoni, 1994; Pauli *et al.*, 2001) tomando como referencia para su identificación y clasificación las descripciones realizadas por Eikelboom (2000), Luna (2006), y Védry (1987); para el conteo de flagelados se utilizó una cámara de conteo de Fuchs-Rosental con base en el procedimiento propuesto por Madoni (1994).

3.5.2 Análisis de la diversidad ecológica

Como una herramienta para estudiar las poblaciones microbiológicas y sus relaciones ecológicas dentro de la suspensión biológica y el grado de cambio entre ellas, se utilizaron diferentes métodos para el análisis de diversidad y estructura de poblaciones. Para medir la diversidad y dominancia ecológica de la microfauna en la suspensión biológica se utilizarán los siguientes índices:

- Diversidad de Shannon (H)
- Dominancia de Simpson (D)

Estos índices fueron calculados para cada día de muestreo utilizando el programa EstimateS® (Colwell, 2006). La diversidad beta se estudió realizando un análisis Cluster utilizando como base de comparación el índice de similitud Morisita-Horn (Magurran, 2004) modificado y calculados a través del programa MVSP® (Kovach Computing Services, 2013).

4 RESULTADOS

4.1 Condiciones físico-químicas de operación del biorreactor

Experimentalmente se fijaron las condiciones físico-químicas con las que operaría el biorreactor. Tres de las más importantes eran mantener una concentración de OD ≥ 2 , un pH = 8 ± 1 y una $T = 20 \pm 1$. El pH dentro del reactor se mantuvo relativamente estable, con oscilaciones entre 5.55 a 8.77, como mínimo y máximo respectivamente, tomando un valor promedio de 7.46 durante toda la corrida experimental (Fig. 4.1). Estas variaciones de pH son consecuencia de los procesos metabólicos realizados por la biomasa activa dentro del reactor que tendieron a alcalinizar el medio y por otro lado a la naturaleza ácida del sustrato. El oxígeno disuelto en el reactor se mantuvo conforme lo propuesto en la metodología (>2 mg/l) para evitar así una carencia que alterara el metabolismo aerobio de la biomasa.

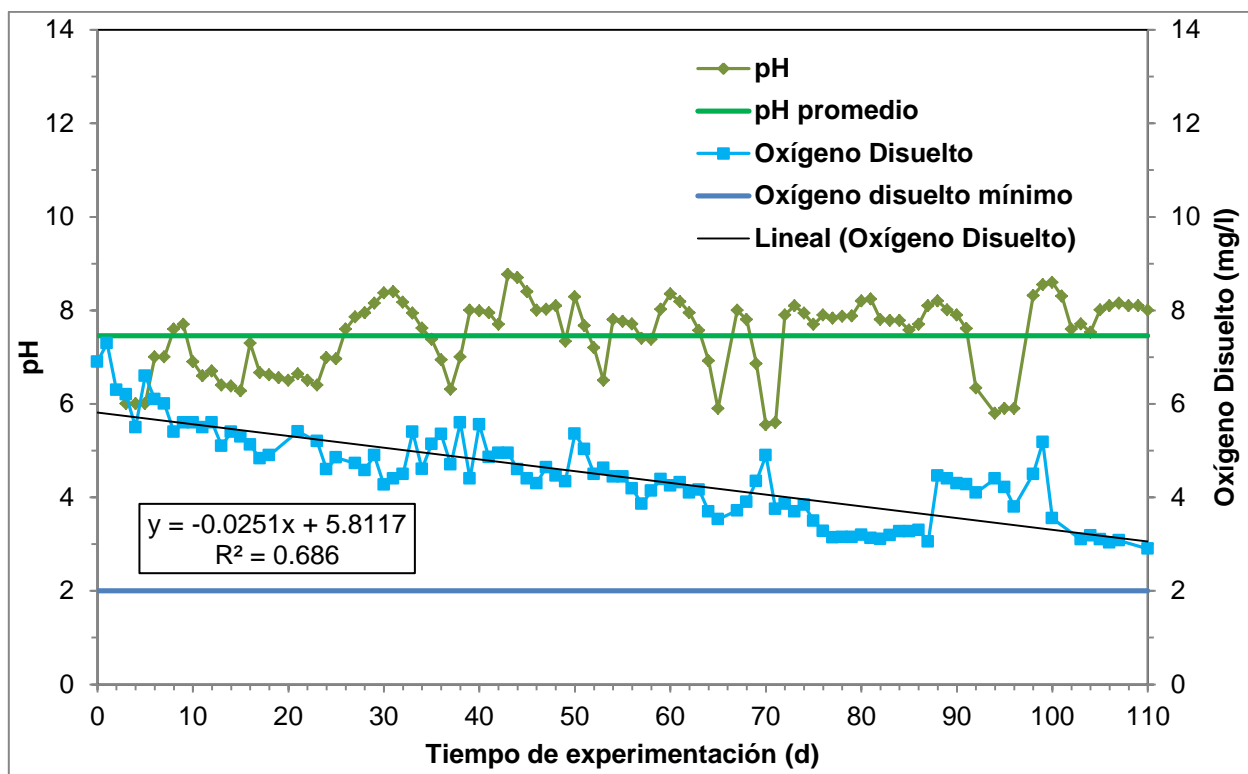


Fig. 4.1 Condiciones físico-químicas de operación del biorreactor (pH y oxígeno disuelto)

4.2 Eficiencia de filtración del biorreactor

Tanto la presión transmembranal (TMP), el flujo membranal y la resistencia de filtración se mantuvieron constantes en valores promedio de 0.847 Bar, 4.5221 l/h·m² y 1.66x10¹⁶ m²/m³ respectivamente (Fig. 4.2), manteniendo estables las condiciones de filtración sin presentarse la colmatación de las membranas. Debido a esto no se requirió un trabajo de lavado químico de las membranas lo que permitió trabajar toda la corrida experimental sin interrupciones. La estabilidad del proceso de filtración es producto de operar el módulo de membranas a flujos inferiores al flujo crítico (Anexo A) (Wei *et al.*, 2010), la Tabla 4.1 muestra la comparación de las condiciones de filtración de la corrida experimental con otros estudios, demostrando la alta estabilidad que se tuvo en el proceso filtración (2650 h sin variación considerable en la TMP). Debido a la gran diferencia entre el flujo membranal de operación (4.322 l/h·m²) y el flujo crítico para este módulo (407 l/h·m²) no se espera una pronta colmatación de la membrana.

Tabla 4.1 Comparación de condiciones de filtración de este estudio con otros autores (Orantes *et al.*, 2006)

Autor:	Condiciones de operación	Tiempo estable de filtración (h)
Este estudio	Tamaño de poro 0.14µm J=4.3221l/h·m ²	>2650
Orantes et al.(2006) I y II	Tamaño de poro 0.1µm J=2.3-4.6 l/h·m ²	800-600
Ognier et al. (2004)	Tamaño de poro 0.05µm J= 10 l/h·m ²	550
Yu et al (2003)	Tamaño de poro 0.22µm J=23.4 l/h·m ²	300
Cho y Fanne (2002)	Tamaño de poro 0.22µm J=30 l/h·m ²	360

Solo se presentó un evento en el día 9 donde la presión bajó hasta 0.4338 Bar, reflejado también en un descenso brusco en el flujo membranal. Este evento fue debido a un problema donde el soporte interno del módulo de membranas salió de su posición, dejando al módulo desalineado con respecto al plato difusor, esto provocó que las burbujas de aire no ejercieran fuerza de cizalla sobre las membranas conduciendo a una rápida colmatación y aun descenso del flujo membranal en el permeando. El soporte y el módulo de membranas fueron alineados nuevamente, la TMP y el flujo membranal se recuperó rápidamente. Este evento resalta la importancia de suministrar

suficiente turbulencia sobre las membranas a fin de evitar una rápida colmatación (Vizcaya *et al.*, 2006, Witzig *et al.*, 2002).

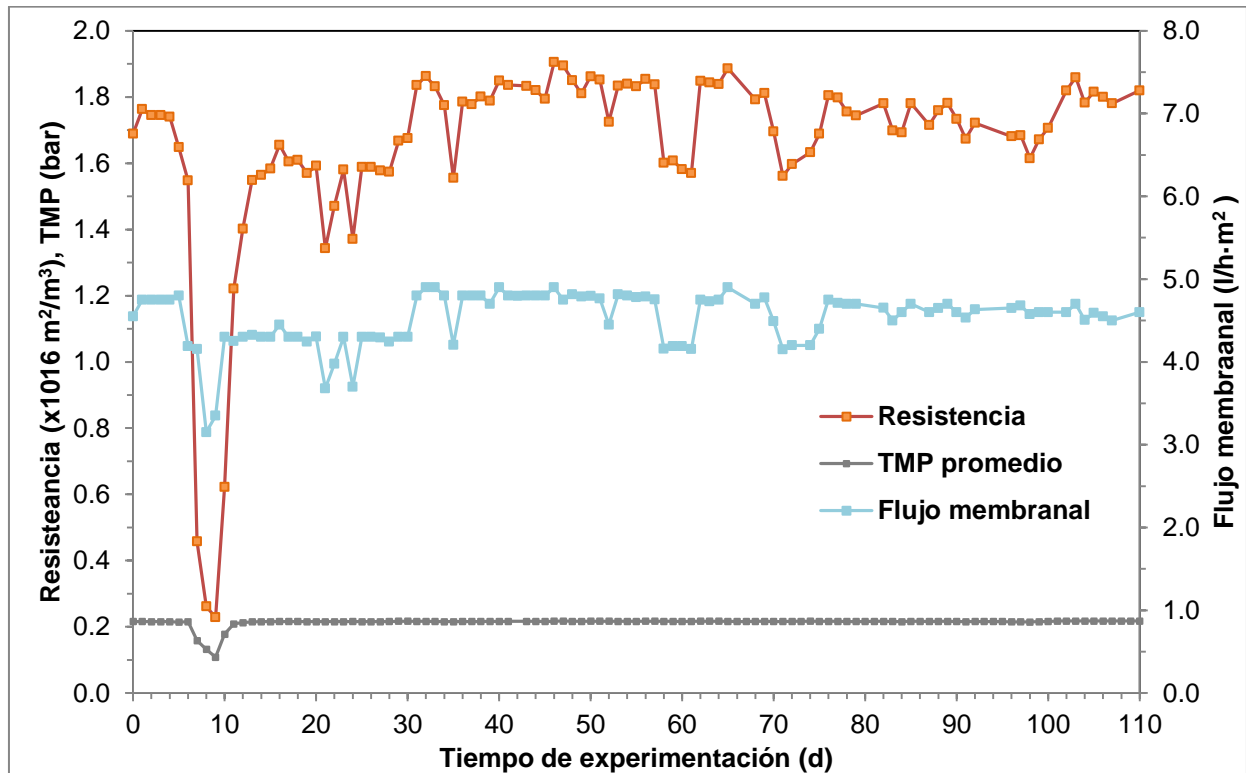


Fig. 4.2 Condiciones de filtración en el reactor: flujo membranal (J), resistencia membranal (R) y presión transmembranal (PTM)

4.3 Eficiencia de depuración

La eficiencia de depuración durante toda la corrida experimental se mantuvo con un promedio y desviación estándar de 97.88 ± 2.96 . La eficiencia de depuración, como reflejo de las condiciones de operación del sistema mostraron una estabilización alrededor del día 50 de experimentación. En la segunda etapa se observa un comportamiento más estable, con un promedio y desviación estándar respectivamente de $99.33 \pm 0.308\%$. Durante la primera etapa (i.e. hasta el día 50 de la experimentación) se presentaron marcadas disminuciones en la eficiencia. Durante el periodo de arranque de un reactor es natural que se presente un proceso de adaptación o

estabilización (Arévalo *et al.*, 2009; Valle-Fernandez, 2012; Villalón, 2012) aunque su duración puede variar, dependiendo del tipo de reactor y de las condiciones de operación del mismo. En este caso se puede entender como una fase de adaptación a la CV aplicada al sistema. Para el análisis y discusión de los resultados de este trabajo se hará la diferencia de estas dos etapas que denominaremos fase de arranque (Fase I) y fase de estabilización (Fase II) (Fig. 4.3).

En este caso nos centraremos sobre el análisis de eficiencia de degradación de la materia orgánica medida como DQO. Considerando que el reactor fue alimentado con un sustrato orgánico completamente soluble y fácilmente biodegradable (i.e. acetato de sodio), mismo que es completamente degradado en un BRM operado en condiciones de trabajo similares (Orantes, 2005), se considera que la DQO del efluente, también llamada DQO_{perm} estará compuesta por; (i) SMP (Laspidou y Rittmann, 2002), productos residuales del metabolismo bacteriano, (ii) EPS desprendidos de la matriz del flóculo (Laspidou y Rittmann, 2002) y (iii) por productos del decaimiento celular, dados los altos TRC, que no pudieron ser degradadas por la biomasa y que lograron pasar a través de la membrana de separación. La producción de estos SMP está relacionada con los cambios metabólicos que sufre la biomasa durante su adaptación (Laspidou y Rittmann, 2002) a las condiciones de operación,

Estos SMP están compuestos prácticamente por carbohidratos y proteínas (Laspidou y Rittmann, 2002; Wilén *et al.*, 2003). Existe una diferencia de tamaño de poro entre la utilizada en los filtros para determinar la DQO_{sol} ($1.2\mu m$) y el tamaño de poro de la membrana de separación ($0.14\mu m$). Esta diferencia explica el hecho de que una fracción de los SMP se retenga en el reactor, por ello la $DQO_{sol} > DQO_{perm}$ (Fig. 4.3); sin embargo, tampoco se observa una acumulación progresiva a lo largo de toda la experimentación, lo cual puede deberse a que tanto por el TRH y el TRC elevados como por la acción del filtro dinámico (Lewandowski y Beyenal, 2005) estas macromoléculas vayan siendo retenidas y degradadas por la biomasa,

Durante la corrida experimental, se pueden observar varios periodos durante la fase de arranque (i.e. Fase I) donde la DQO_{sol} se elevó (i.e. en los días 8, 29, 47, 75 y 96), este aumento estuvo correspondido con un incremento, aunque en menor magnitud, de la DQO_{perm} . En contraste, durante la fase de estabilización, (i.e. Fase II) los aumentos que se presentaron en la DQO_{sol} no estuvieron correspondidos por un incremento en la DQO_{perm} , garantizando la eficiencia y estabilidad del proceso. Este cambio puede ser debido a i) el aumento en el tamaño de partícula de los SMP producidos por la biomasa, ii) el desarrollo de una biomasa más adaptada a las condiciones de operación que logra una mayor degradación y/o iii) el desarrollo de una biopelícula sobre la superficie de la membrana que logra retener y degradar fracciones más pequeñas de la DQO_{sol} (Lewandowski & Beyenal, 2005). De manera general se observa que los picos de aumento de la DQO_{sol} van disminuyendo en magnitud conforme avanza la estabilización del reactor.

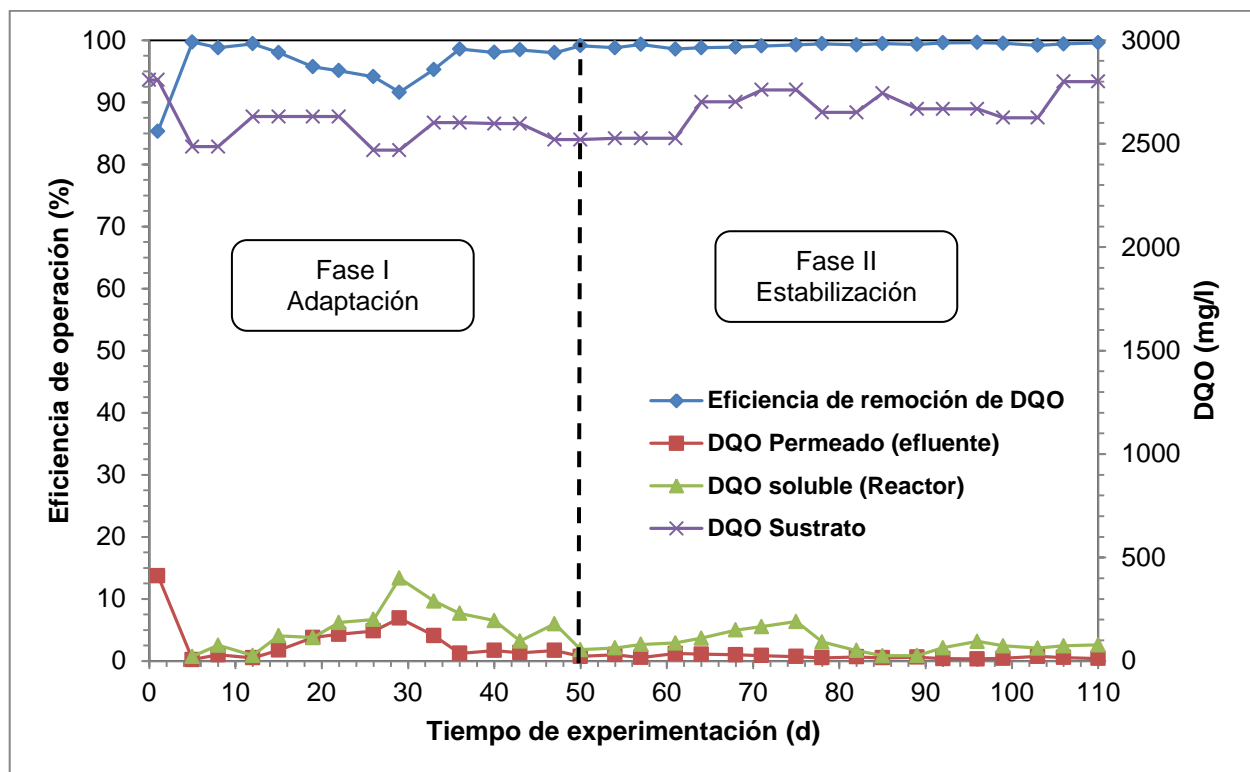


Fig. 4.3 Eficiencia de remoción de materia orgánica (DQO) en el biorreactor

4.4 Evolución de la biomasa en el biorreactor

La corrida experimental tuvo una duración total de 110 d y estuvo trabajando con una carga orgánica volumétrica promedio de $0.79 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{m}^3\cdot\text{d}$. El reactor experimental arrancó con una carga orgánica másica inicial de $1.18 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}\cdot\text{d}$, la cual disminuyó a lo largo de la corrida experimental hasta $0.13 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}\cdot\text{d}$ (Fig. 4.4), debido a los fenómenos de síntesis de biomasa y acumulación de sólidos en el reactor, los cuales pasaron de $1.2 \text{ g}_{\text{SST}}/\text{l}$ a $7.6 \text{ g}_{\text{SST}}/\text{l}$ y de $0.72 \text{ g}_{\text{SSV}}/\text{l}$ a $6.5 \text{ g}_{\text{SSV}}/\text{l}$ (Fig. 4.4). La corrida experimental se analizó hasta este punto en virtud de que estos valores son los reportados por otros autores para la operación un BRM (e.g. $5.89 \text{ g}_{\text{SSV}}/\text{l}$ y $7.53 \text{ g}_{\text{SSV}}/\text{l}$) (Arévalo *et al.*, 2009), además de que la carga orgánica másica mostraba ya una tendencia asintótica con variaciones inferiores a 6%.

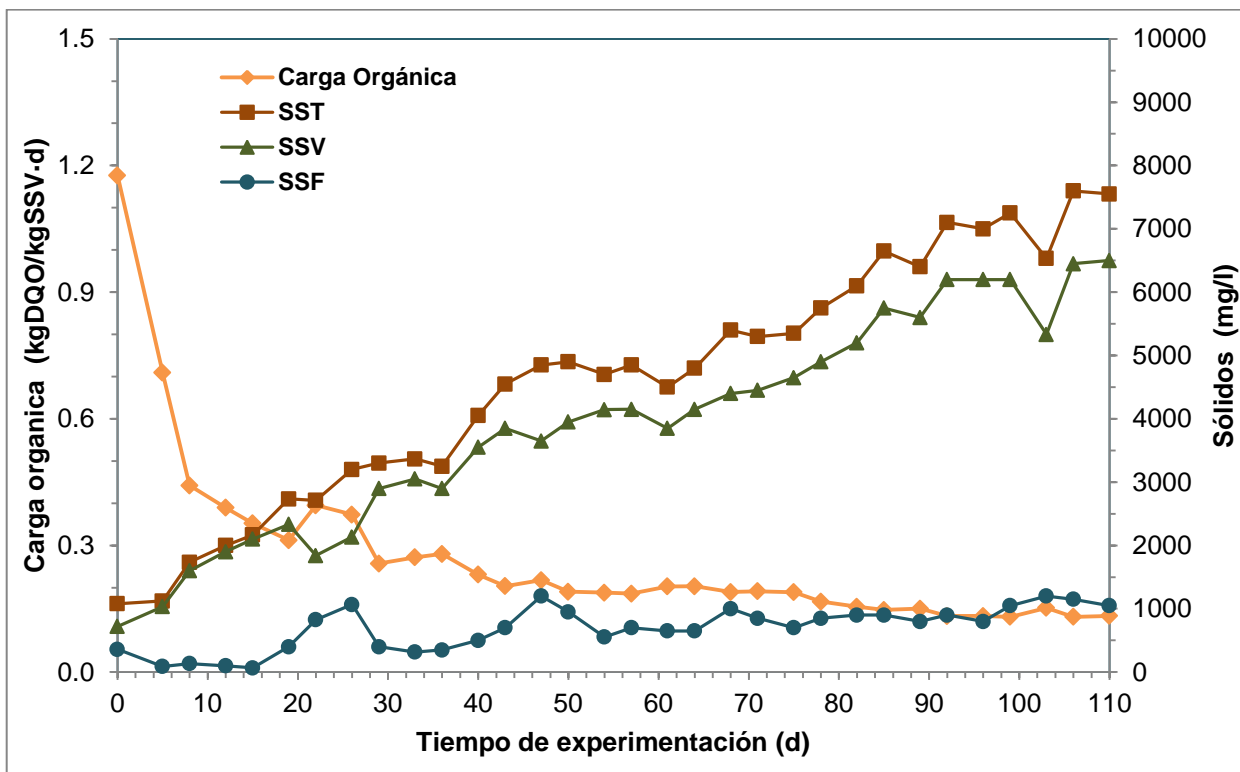


Fig. 4.4. Evolución de la concentración sólidos en el reactor y carga orgánica másica en el reactor a lo largo del periodo experimental

La acumulación de sólidos es un fenómeno que se presenta debido a la combinación entre la síntesis de biomasa por asimilación de sustrato, la estrategia operación del reactor sin extracción de sólidos y la capacidad de retención de partículas debido a la selectividad de la membrana, Sin embargo, no podemos suponer que toda la acumulación de sólidos corresponde a la acumulación únicamente de biomasa o de bacterias activas (Villalón, 2012), por ello es importante explorar la naturaleza orgánica o inorgánica de los sólidos presentes en el reactor, mediante las relaciones entre SSV/SST (fracción orgánica de los sólidos en suspensión) y entre SSF/SST (fracción inorgánica de los sólidos en suspensión) Fig. 4.5. Relación de sólidos volátiles y fijos (SSV/SST y SSF/SST) (Fig. 4.5). Las relaciones entre las diferentes fracciones de sólidos mostraron un comportamiento claramente diferenciado en dos etapas: Fase de arranque (i.e. Fase I), del inicio de la corrida experimental al día 50, en esta etapa sufrieron variaciones notables (e.g. un 10% y un 65% en promedio para SSV/SST y SSF/SST respectivamente) que fueron producto de los procesos metabólicos que tiene la biomasa durante la adaptación. También durante esta etapa se tiene un descenso más pronunciado en la carga orgánica másica (i.e. $0.0197 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}\cdot\text{d}$ por día en promedio). Fase de estabilización (i.e. Fase II), del día 50 hasta el final de la corrida experimental, mostró un proceso de estabilización tanto de la carga orgánica másica (e.g. descenso de $0.001 \text{ kg}_{\text{DQO}}/\text{kg}_{\text{SSV}}\cdot\text{d}$ por día en promedio) como de la naturaleza de la biomasa donde se observan comportamientos asintóticos en las curvas de ambas variables (Fig. 4.5), y en donde la variación fue menor (i.e. 0.029 % y 0.154% para SSV/SST y SSF/SST en promedio respectivamente) a la mostrada en la etapa anterior. Los valores promedio que se presentaron en cada etapa fueron de 0.857 y 0.143 de SSV/SST y de SSF/SST respectivamente. Estos resultados muestran que no hubo una acumulación de detritos o mineralización de la suspensión, ya que la relación SSF/SST se mantuvo constante en el periodo de estabilización de la biomasa, la relación SSV/SST permanece ligeramente encima del valor teórico (Metcalf *et al.*, 1996) lo que indica una pequeña variación (i.e. $0.057 \text{ kg}_{\text{SSV}}/\text{kg}_{\text{SST}}$) de la composición de la biomasa con respecto a la biomasa de un sistema tradicional de lodos activados y que podría ser reflejo de una acumulación de productos orgánicos, probablemente productos de

reserva de energía al interior de las células, dada la baja carga orgánica con la que fue operado el reactor (Valle-Fernández, 2012).

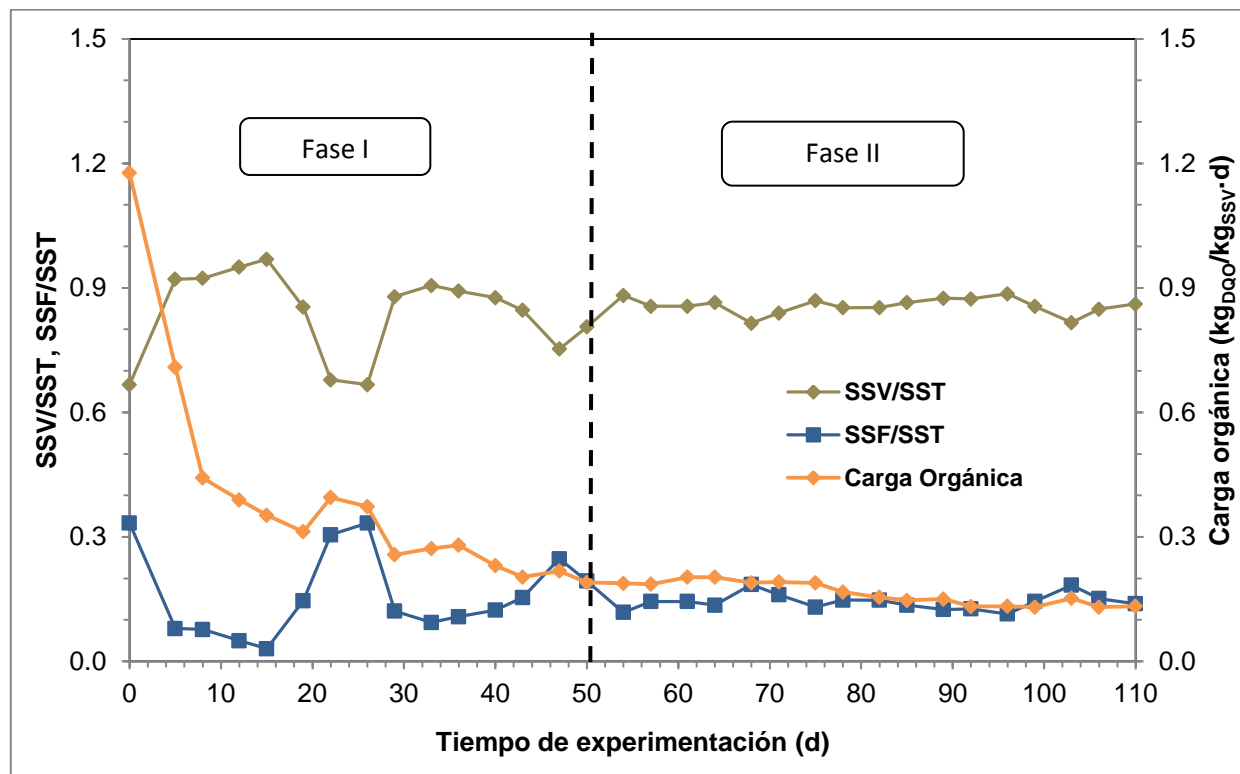


Fig. 4.5. Relación de sólidos volátiles y fijos (SSV/SST y SSF/SST)

4.5 Tasas específicas de respiración de la biomasa en el reactor

Otro parámetro que resulta importante, en términos de la actividad biológica y de la estabilidad de un reactor son las tasas de actividad bacteriana, en este caso evaluadas a través de las tasas de consumo de oxígeno de la biomasa. A lo largo de la experimentación se puede observar una tendencia lineal de disminución de la concentración de oxígeno disuelto en el reactor (Fig. 4.6), considerando que la alimentación de aire se mantuvo a flujo constante, esta disminución es atribuida al incremento en la tasa global de consumo de oxígeno de la biomasa. Estos cambios implican que habría un mayor número de células respirando y realizando funciones

metabólicas. Sin embargo la tasa específica de consumo de oxígeno (SOUR) también va disminuyendo (Fig. 4.6). Este fenómeno podría ser explicado por un incremento global en la biomasa y en la tasa de respiración, pero paralelamente y de manera progresiva se va incrementando (i) una fracción de la biomasa se encuentra activa y que sería responsable del incremento de la SOUR y (ii) otra fracción de la biomasa que empieza a entrar en estado de latencia (Villalón 2012). En estos parámetros (e.g. SOUR) también se pueden observar dos fases, la de arranque (i.e. fase I) con tasa específicas de consumo de mayores e irregulares, mientras que en la fase de estabilización (i.e. fase II) se observa una disminución de la tasa específica de consumo de oxígeno. Estas fases coinciden con los periodos de estabilización descritos anteriormente en la CO, SSV/SST y SSF/SST.

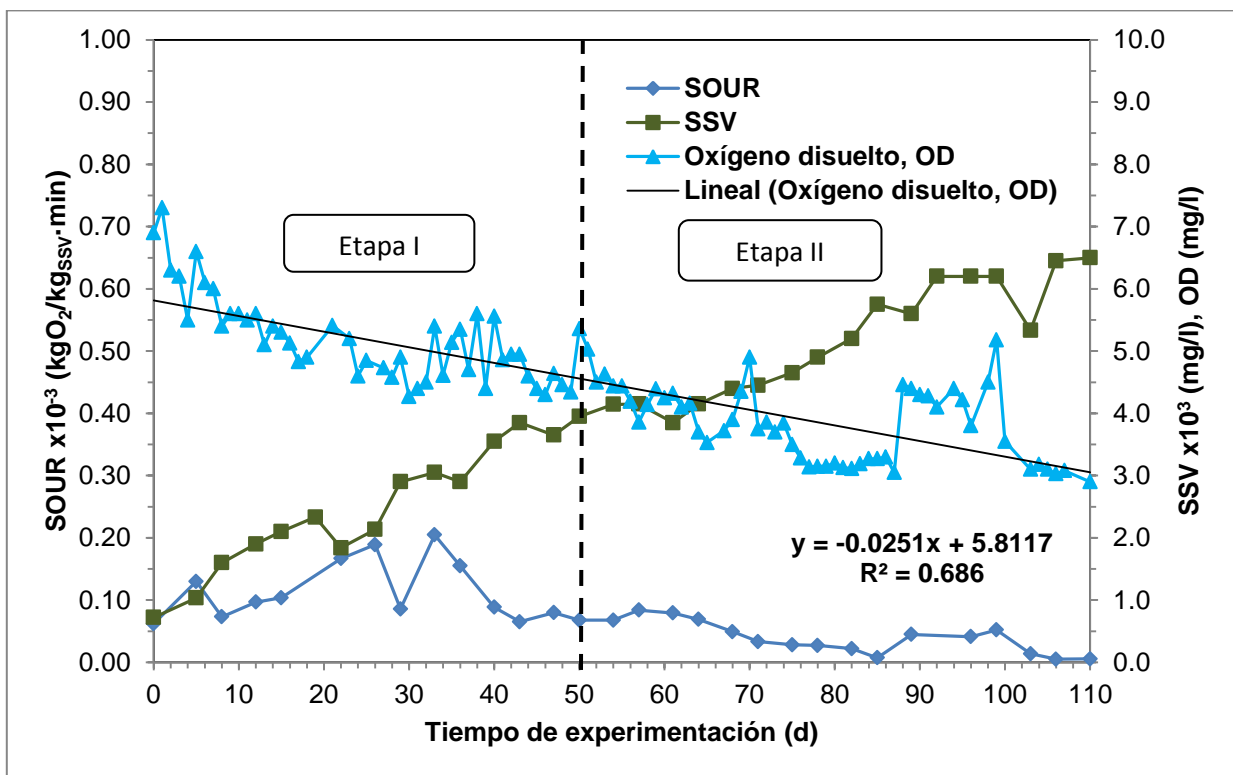


Fig. 4.6. Tasas específicas de respiración de la biomasa (SOUR)

4.6 Morfología de flóculos

Los aspectos analizados de la morfología de los flóculos fueron: tamaño, forma, firmeza y estructura. Primero abordaremos lo relativo al tamaño. En la Fig. 4.7 se presenta la evolución del tamaño promedio de flóculos, medido a lo largo de la corrida experimental. Esta gráfica muestra también la desviación estándar para observar la distribución del tamaño de los flóculos en cada muestra.

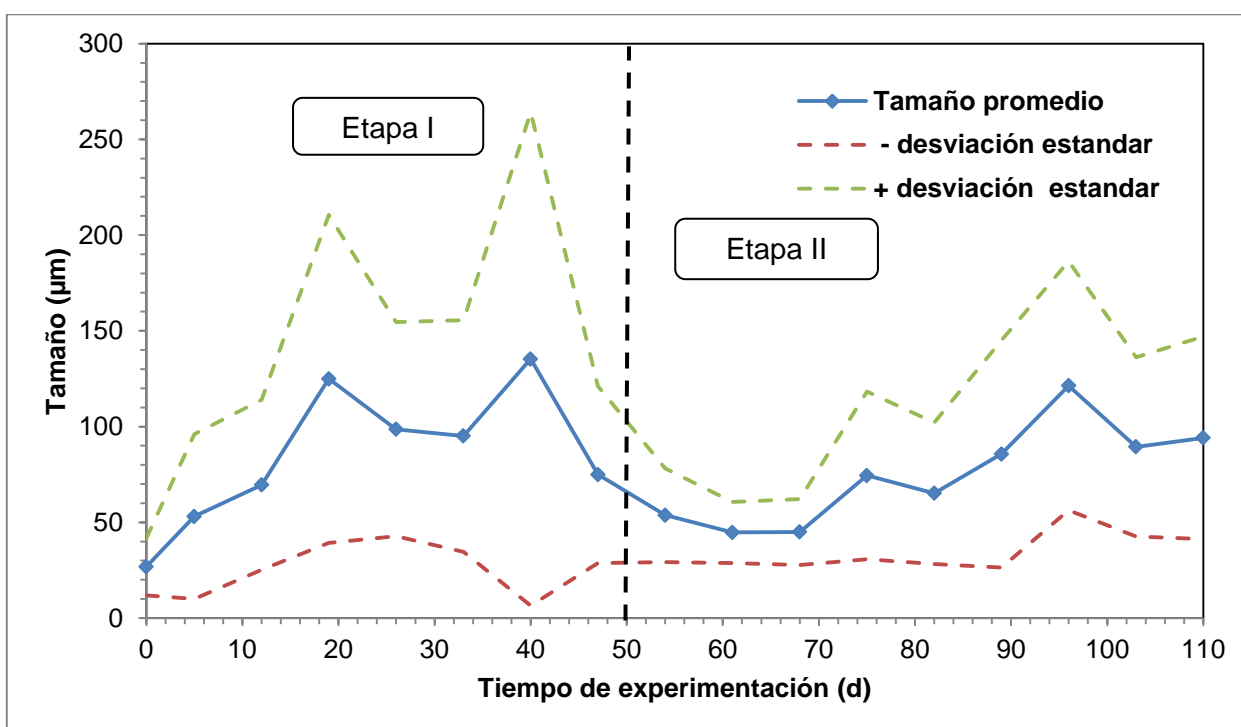


Fig. 4.7 Tamaño promedio de los flóculos y su desviación estándar a lo largo de la corrida experimental

El rango de tamaño de los flóculos en el reactor fue de 7µm hasta 250µm de diámetro promedio, con una estructura predominantemente muy dispersa, débil (>50%) e irregular (>80%). Las estructuras predominantemente observadas coinciden con lo reportado por (Arévalo *et al.*, 2009). Este tipo de estructuras pueden ser debidas a que la cantidad de EPS es reducida en los flóculos a altos TRC, ya que estos pueden servir

como sustrato exógeno en condiciones de baja carga orgánica (Hejzlar & Chudoba, 1986), y consecuentemente hay menor cohesión entre la biomasa (Spérandio *et al.*, 2005).

Otro factor que va a influir en el proceso de floculación y en la morfología de los flóculos, es el tamaño de partícula del influente (Puigagut *et al.* 2007), ya que los sustratos con material particulado tienden a generar flóculos más compactos y estables debido al proceso de hidrólisis de estas partículas que es llevado por las bacterias dentro de flóculos para degradar estas partículas de contaminantes (Frølund *et al.*, 1996, Laspidou & Rittmann, 2002). En este estudio se observan flóculos relativamente pequeños cuyo tamaño podría estar condicionado por el sustrato utilizado, ya que es un sustrato completamente soluble y fácilmente biodegradable y de acuerdo con lo reportado por Puigagut *et al.* (2007) no estimula la floculación.

Los flóculos en el reactor mantuvieron mayoritariamente una forma *irregular* (Fig. 4.8a). Una fracción de estos se fueron haciendo *muy irregulares* hacia el final de la experimentación, particularmente durante la Fase de estabilización (Fase II) de operación del biorreactor.

Por otro lado, la firmeza de los flóculos se mantuvo entre *débil* y *muy débil* a lo largo de todo el periodo experimental. Durante la fase de arranque predominaron flóculos *muy débiles* (Fig. 4.8b), pero a partir de la fase de estabilización se presenta un ajuste de la firmeza de los flóculos donde los débiles incrementan y los muy débiles disminuyen. Sin embargo los flóculos *firmes* fueron muy escasos en todo el periodo experimental.

La estructura de los flóculos (Fig. 4.8c) mostró un comportamiento similar al de la firmeza de los bordes, con una predominancia de los flóculos *muy dispersos* durante la Fase de arranque del reactor y una disminución de estos flóculos *muy dispersos* a partir de la Fase de estabilización, sin embargo estos flóculos se mantienen como *dispersos*. En este caso se muestra un incremento gradual, aunque muy ligero en la cantidad de flóculos *compactos* durante la Fase de estabilización del reactor, donde se presenta un incremento que va del 0.5% hasta llegar a más del 15% al final de la experimentación.

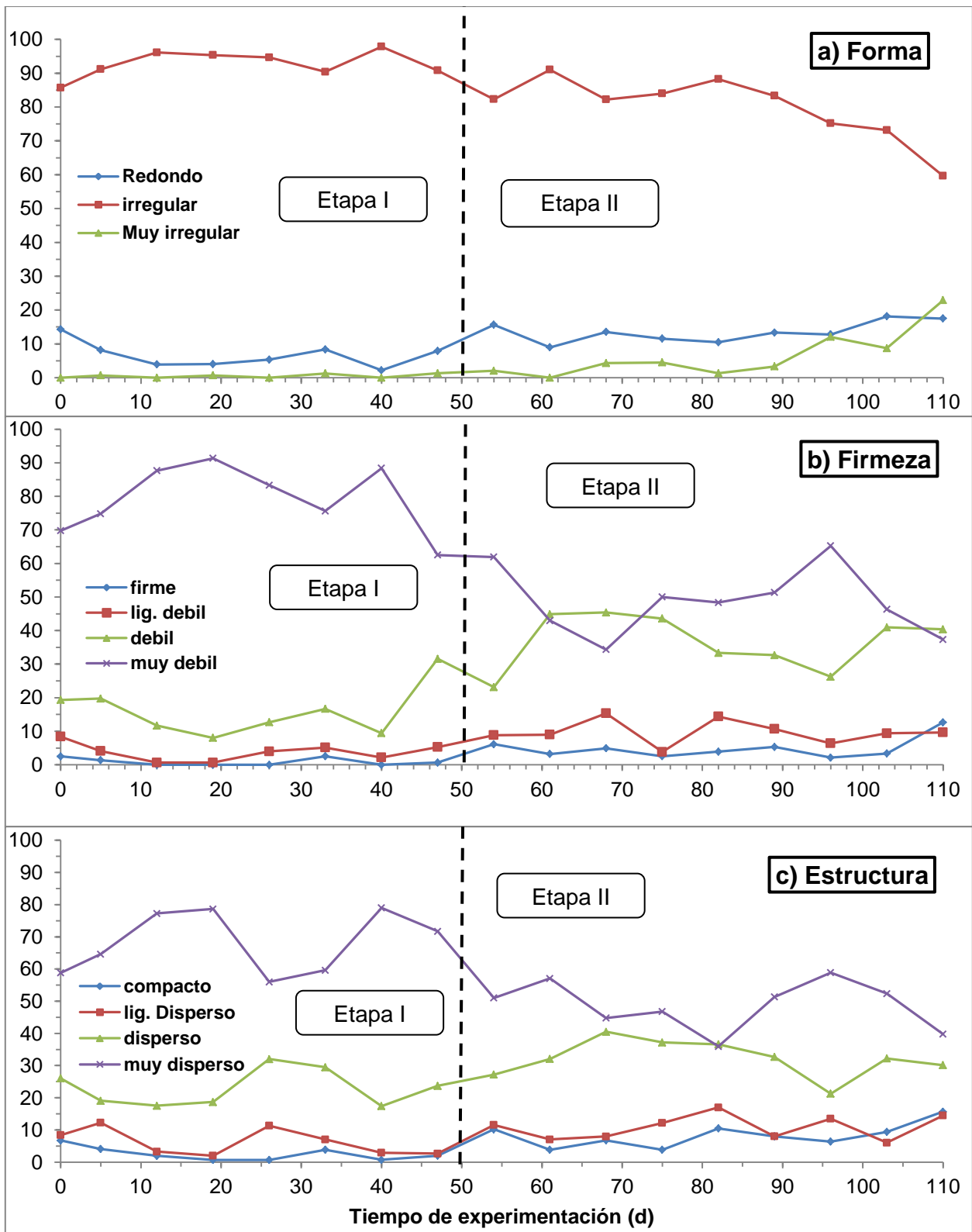


Fig. 4.8 Evolución de (a) la forma, (b) la estructura y (c) la firmeza de los flóculos en la biomasa del BRM

4.7 Abundancia de bacterias filamentosas

Las bacterias filamentosas resultan importantes para ayudar a que haya una mejor estructuración de los flóculos (Gerardi, 2002), sin embargo, estos mismos grupos de bacterias en exceso inducen la colmatación de la membrana (Orantes, 2006).

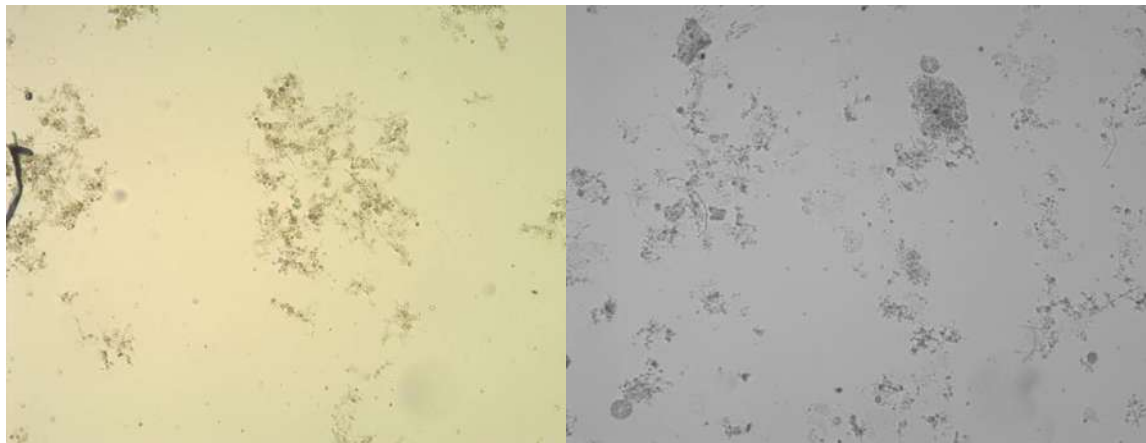


Fig. 4.9 Imágenes de flóculos con Bacterias filamentosas a 19 y 96 días (10x)

Durante la corrida experimental no se observó una proliferación de bacterias filamentosas (Fig. 4.10), por el contrario, el valor del índice de filamentos (IF) disminuyó con respecto al IF que se estimó para la biomasa del inóculo. Los IF estimados a lo largo de la experimentación resultan bajos y contrastan con lo reportado por otros autores, para la biomasa de BRM (Arévalo *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2008; Orantes, 2006) quienes atribuyen la abundancia de filamentosas a los altos tiempos de retención celular y a las bajas cargas orgánicas. En este trabajo el BRM se operó sin extracción de lodos (salvo los usados para los análisis de laboratorio) y con una carga orgánica que decrece durante la Fase de arranque y posteriormente se estabiliza (Fig. 4.10). Contrario a lo reportado, durante la fase de arranque que se tiene una carga más elevada (i.e. $CO = 0.857 \text{ kg}_{DQO}/\text{kg}_{SSV}\cdot\text{d}$) se tiene el IF más alto de la experimentación,

mientras que durante la fase estabilizada, que tiene una carga orgánica más baja (i.e. $CO = 0.143 \text{ kg}_{DQO}/\text{kg}_{SSV}\cdot\text{d}$) se presenta IF menor.

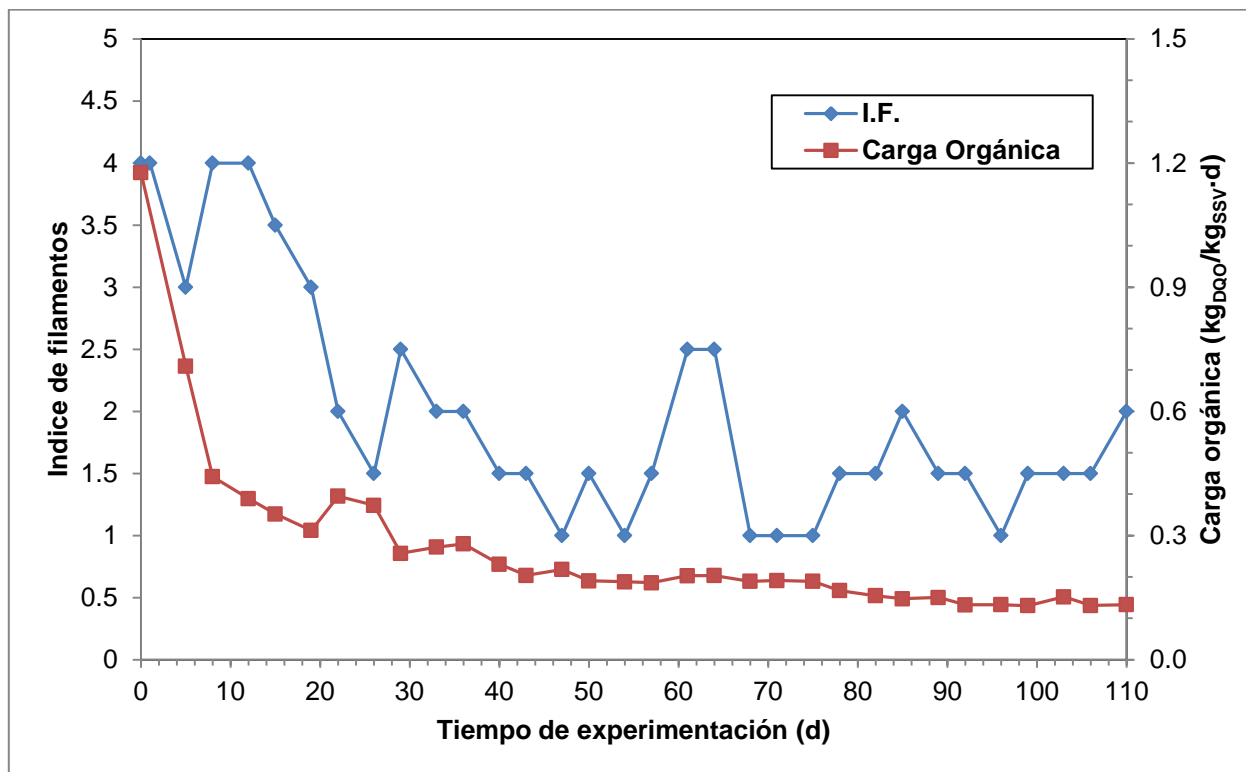


Fig. 4.10 Abundancia de bacterias filamentosas

La baja abundancia de bacterias filamentosas podría deberse a otros factores, particularmente a la concentración de oxígeno disuelto ($>2\text{mg/l}$), que no favorece el crecimiento de bacterias y microfauna relacionada con deficiencias de oxígeno, tales como bacterias filamentosas, ciliados carnívoros o ciliados fijos del género *Opercularia spp.* Es importante señalar que durante la segunda fase, en la que se estabiliza la CO, también se estabiliza el FI con un valor promedio y desviaciones estándar respectivamente de 1.5 ± 0.447 . Estudios recientes (Wang *et al.*, 2010) han encontrado una relación positiva entre la abundancia de bacterias filamentosas y la eficiencia de filtración por lo que es necesario realizar más investigación acerca de las condiciones que favorecen la proliferación de organismos filamentosos en BRM y su relación con los parámetro de operación y características de la suspensión biológica.

4.8 Seguimiento de poblaciones de microfauna

Uno de los aspectos centrales de este trabajo es el análisis de la evolución de las poblaciones de microfauna durante la evolución de la carga orgánica en el reactor, la cual se presenta en la Fig. 4.11, los datos están expresados en abundancia relativa a excepción de los flagelados los cuales se expresan en 10^6 ind/ml. Se contabilizaron 34 taxas de microfauna, durante la corrida experimental, identificadas con base a lo propuesto en la metodología (3.5). La identificación de los taxas en general se realizó a nivel de género. De manera complementaria se utilizó la clasificación de morfo-especie para nombrar 3 géneros que no pudieron ser identificadas con las referencias disponibles (C.fijo 1, C.fijo 2 y Suctífero 1). De los 34 géneros encontrados, 10 presentaron poblaciones muy pequeñas (<350 individuos/ml) o solo fueron encontrados de manera ocasional. Durante la corrida experimental se alcanzaron comunidades con abundancias que van desde 240 ind/ml (e.g. al inicio de la corrida experimental) hasta 3×10^5 ind/ml tanto de protozoarios como de metazoarios. El promedio fue de 53000 ind/ml, valor mucho más alto que el encontrado para sistemas de lodos activados tradicionales de 6038 ind/ml (Zhou *et al.*, 2008), esto probablemente debido a la alta concentración de biomas.

Los taxas fueron organizados con base en los principales grupos de microfauna (clasificación a nivel de phylum aproximadamente) (Anexo I) presentes en sistemas biológicos de depuración de aguas residuales (Eikelboom, 2000; Madoni, 2011; Védry, 1987). A lo largo de la experimentación hubo diferentes cambios en la abundancia de los diferentes taxas y grupos presentes en el BRM que se deriva de una sucesión de poblaciones de grupos de microfauna durante todo el periodo de adaptación de la biomasa (Fig. 4.11). El grupo de nemátodos y el de ciliados carnívoros no fueron presentados, ya que no presentaron poblaciones relevantes (e.g. abundancia de nematodos alrededor de 200 individuos/ml) ni mostraron cambios significativos durante toda la corrida experimental.

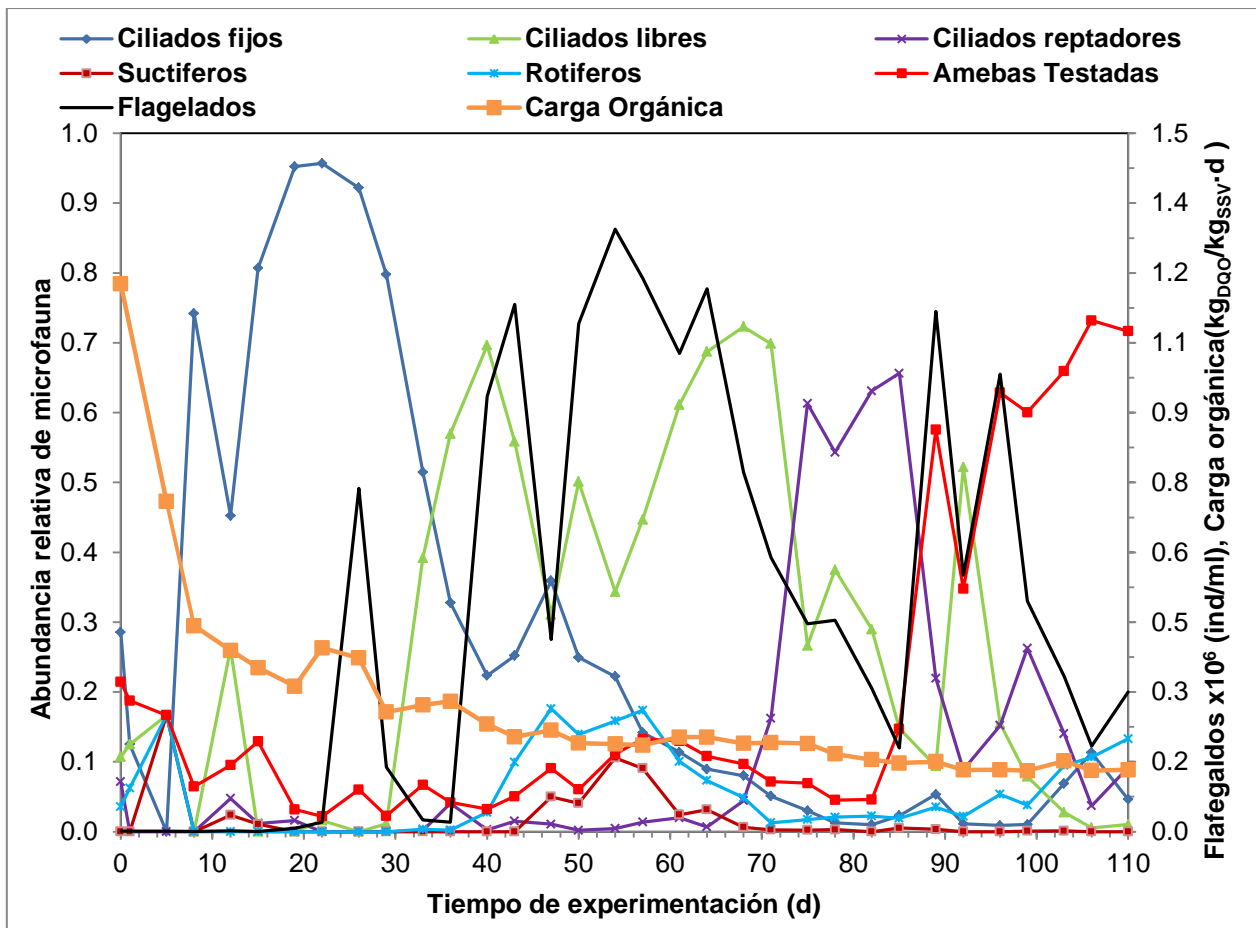


Fig. 4.11 Abundancia relativa de las clases de microfauna

En base a la Fig. 4.11, se puede hacer un seguimiento la sucesión de las poblaciones de los diferentes grupos de microfauna presentes durante la corrida experimental en el reactor. Del inicio de la corrida experimental hasta el día 8 aproximadamente se observan las poblaciones de microfauna que corresponden con la abundancia relativa de los lodos provenientes de la planta de lodos activados con la que se inoculó el BRM. Posteriormente se observa una serie de sucesiones de poblaciones de microfauna mientras evoluciona y se estabiliza la carga orgánica. Los grupos de ciliados (fijos, libres y reptantes) realizan una sucesión de sus poblaciones, iniciando primero con la aparición de ciliados fijos (e.g. *Vorticella comunis*, *C.Fijo1* y *C.Fijo 2*) mostrando una gran dominancia. Posteriormente con la desaparición de las poblaciones de ciliados fijos aparecen los ciliados libres (e.g. *Acinertia sp.*) tornándose dominantes. Ésta etapa esta también caracterizada con el aumento en las poblaciones de rotíferos (genero *Adineta* principalmente), suctíferos (*Podophryaophrya* y *Suctifero1*),

pequeños flagelados y amibas testadas (*Arcella sp* y *Euglypha sp*). Posteriormente se desarrollan poblaciones de ciliados reptantes (principalmente *Drepanomona sp.* y *Aspidisca sp*), sustituyendo a las poblaciones de ciliados libres. Ya para el final de la corrida experimental se presenta el decaimiento de las poblaciones de ciliados reptantes y un aumento en el grupo de amibas testadas como grupo dominante (*Arcella constata*, *Microchlamys patella* y *Diffuglia sp* principalmente), también existe un aumento en el número de pequeños flagelados y una población creciente de rotíferos principalmente del género *Lecane sp.*, además de una pequeña población de *Epistylis sp* ambas ya en el final de la experimentación. Estas últimas poblaciones se presentan ya bajo una carga orgánica estabilizada dentro del reactor.

Para establecer con mayor precisión las poblaciones encontradas durante la evolución de la biomasa se realizó un análisis de la diversidad Beta utilizando el índice de similitud de Morisita-Horns modificado, de esta forma las poblaciones de cada muestreo fueron agrupadas por su similitud utilizando un análisis Cluster.

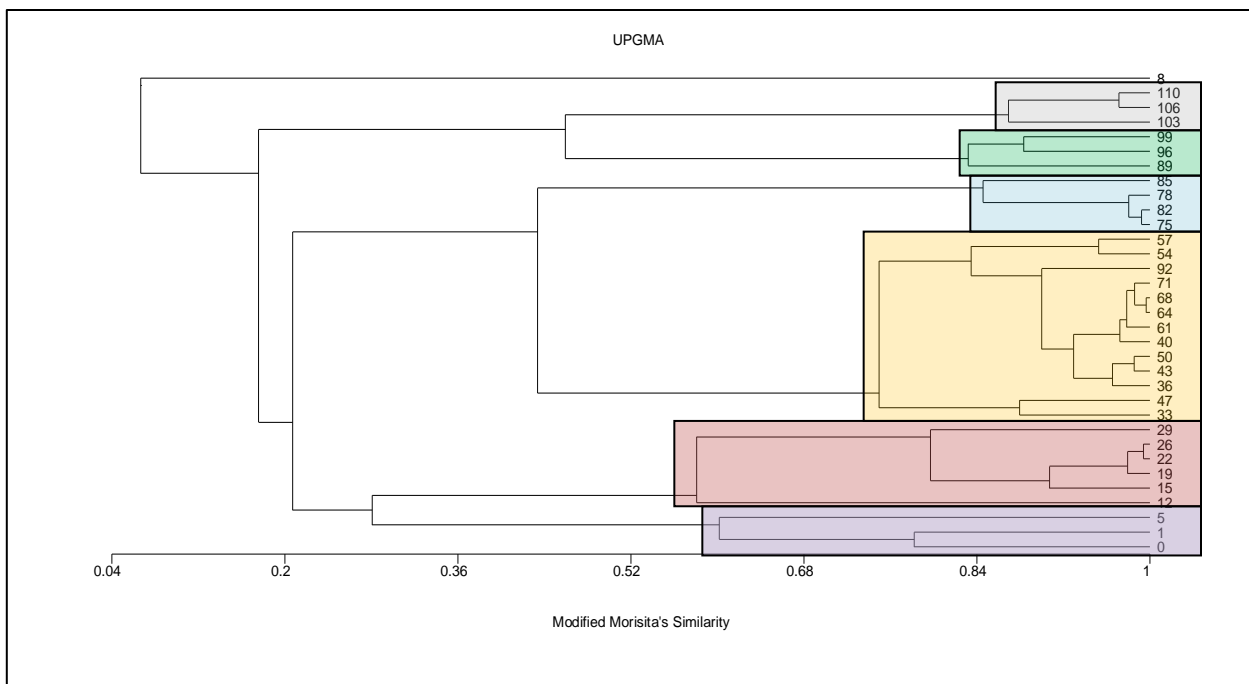


Fig. 4.12 Dendrograma de agrupación de poblaciones microfauna en el reactor

En base al dendograma de la Fig. 4.12 fue posible identificar 6 grupos de poblaciones de microfauna. Los muestreos agrupados dentro de estos grupos comparten una similaridad de por lo menos de 50%. La Fig. 4.13 muestra dentro de la gráfica de abundancia relativa la agrupación de las poblaciones obtenidas a través del dendograma, estas agrupaciones corresponden a etapas de sucesión biológica y fueron nombradas por las letras A, B, C, D, E y F consecutivamente.

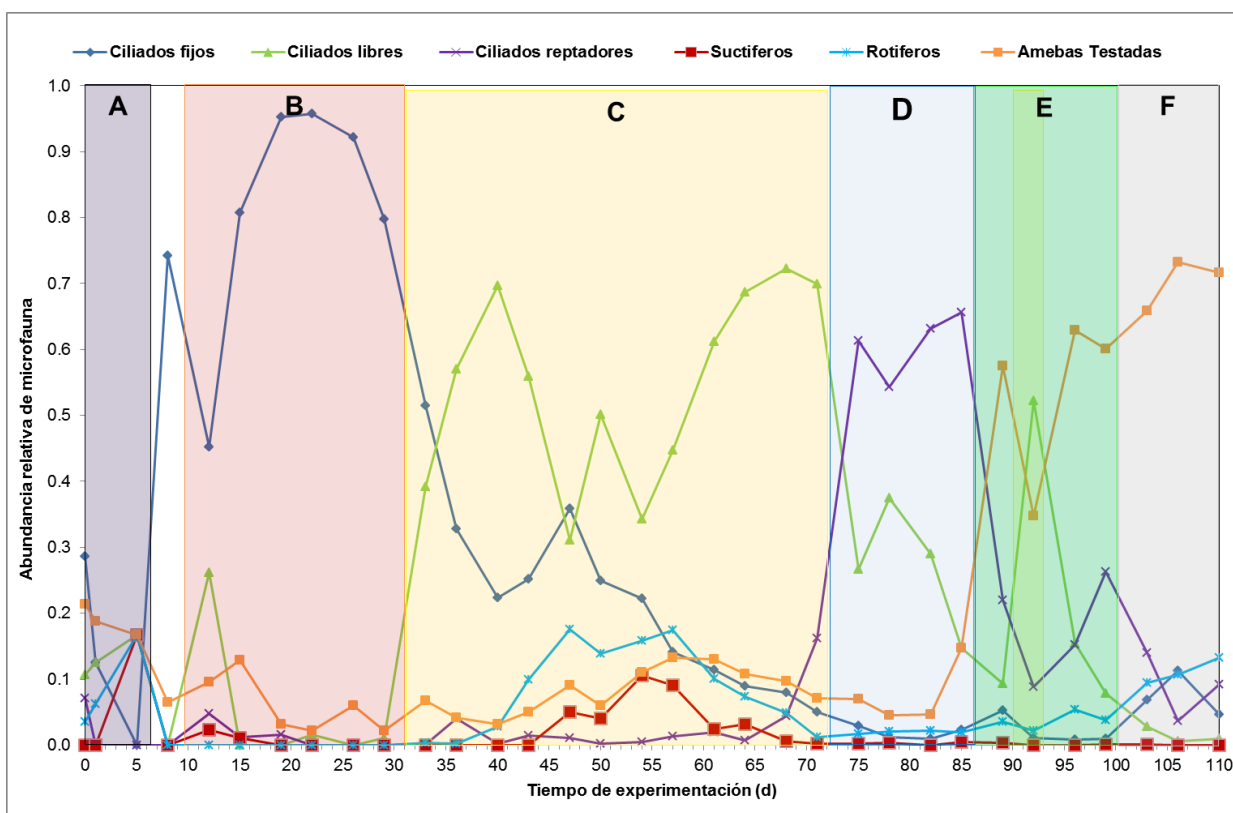


Fig. 4.13 Etapas de sucesión de poblaciones de microfauna en el reactor

La etapa A esta formada por poblaciones encontradas frecuentemente en plantas de lodos activados tradicionales y se destacan por su diversidad en cuanto grupos y taxas, la etapa B representa poblaciones que estuvieron fuertemente dominadas por ciliados fijos. La etapa C representa poblaciones donde los ciliados libres fueron pdominantes, a su vez esta etapa también comprende poblaciones de rotíferos, amebas testadas y suctíferos. La etapa D corresponde a la dominancia en las poblaciones por ciliados reptadores. Tanto la etapa E como la F se presentan cuando el

reactor se encuentra ya en etapa de estabilización, estas etapas se caracterizan por una creciente dominancia de amebas testadas, diferenciando la etapa F de la E por una creciente población de rotíferos. Es importante señalar que las poblaciones encontradas en el día 8 de experimentación no mostraron relación alguna con los demás muestreos, esto puede ser debido a los cambios de poblaciones de microfauna que se presenta en la fase de adaptación, pudiendo ser estos cambios más rápidos y radicales en la composición de las poblaciones durante esta fase.

De manera general la sucesión de poblaciones de microfauna mientras evoluciona la carga orgánica difiere con las presentadas tradicionalmente para sistemas de lodos activados tradicionales (Eikelboom, 2000; Védry, 1987). En especial el grupo de ciliados fijos, ya que en este estudio se presentan al inicio de la evolución en presencia de cargas orgánicas elevadas, mientras tanto para lodos activados se reporta su dominancia en cargas medias a bajas

La dominancia que existe por parte de los ciliados fijos en la etapa B de la sucesión de grupos de microfauna concuerda con lo descrito por Madoni (1994) donde este grupo se presenta en dos situaciones, i) etapas de transición y ii) en aumentos rápidos de biomasa, ambas situaciones se presentan en éste periodo. También describe que la dominancia de grupos de ciliados fijos está relacionada con una baja en la eficiencia de depuración, esto concuerda con el periodo de menor eficiencia observado en la corrida experimental (días 12-36). La presencia de ciliados reptantes y posteriormente amebas testadas a partir del día 70 (etapas D, E y F) coinciden también con el periodo de mayor eficiencia de depuración, esto concuerda con lo reportado por Zhou *et al.*(2006) que encontró una correlación negativa entre la combinación de ciliados reptantes y amebas testadas, con la eficiencia de depuración.

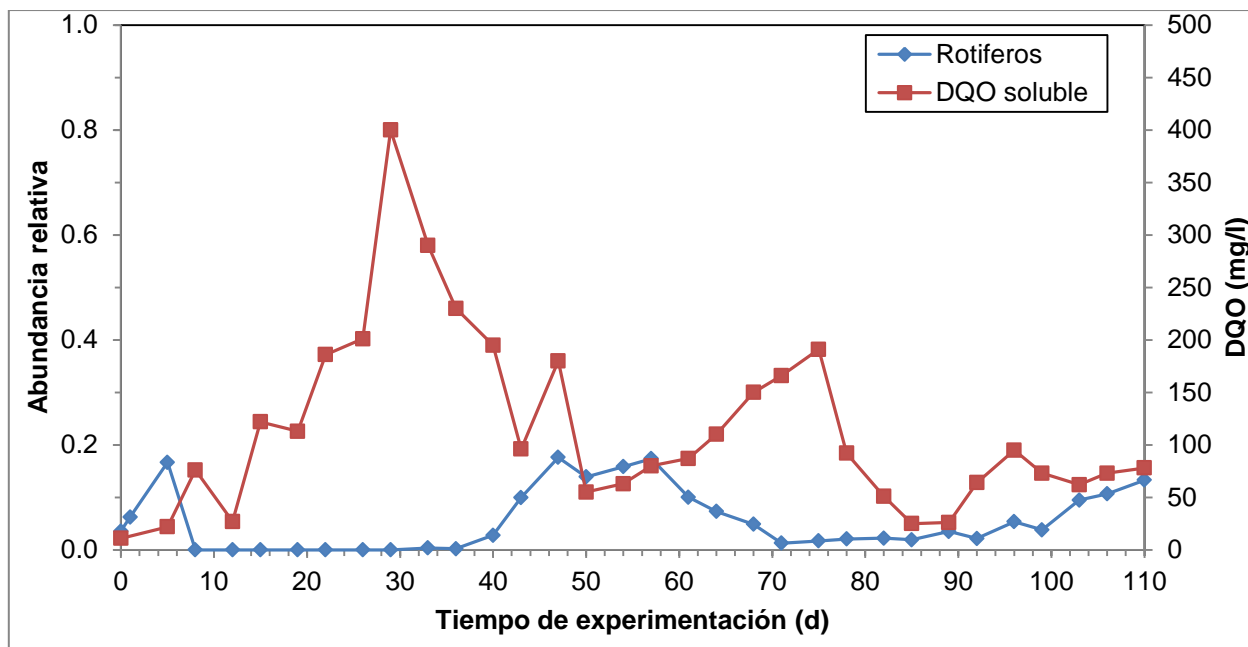


Fig. 4.14. DQO soluble y Abundancia relativa de rotíferos en la biomasa del BRM

El aumento en las poblaciones de rotíferos parece estar relacionado con una disminución en la DQO_{sol} (Fig. 4.14), esto podría deberse a que tienen la capacidad de alimentarse con partículas solubles o suspendidas más grandes. Si tomamos en cuenta que a partir del día 50 los aumentos en la DQO_{sol} podrían estar relacionados con aumentos en la fracción de macromoléculas, se podría asumir que las poblaciones de rotíferos tiene un papel importante en la reducción de la DQO_{sol} , pero particularmente participando en la degradación de aquellas macromoléculas que pertenecen a la DQO_{sol} pero que son retenidas por la membrana en el biorreactor, impactando en la eficiencia del sistema. Por otro lado el control de estas macromoléculas disueltas es importante en el proceso de filtración, ya que una menor presencia reducirá la incrustación de éstas en la membrana disminuyendo y retardando los procesos de colmatación (Van den Broeck *et al.*, 2012).

4.8.1 Análisis de la diversidad

La evolución de la diversidad y la dominancia por géneros fueron otros de los parámetros que se estimaron en la biomasa. (Fig. 4.15). Durante la fase de arranque, al inicio de la corrida experimental se muestra una mayor diversidad con valores de 2.0 bits/ind, correspondientes a las poblaciones provenientes del inóculo de lodos activados (etapa A), estos valores concuerdan con los reportados para sistemas de lodos activados (e.g. 1.71 bits/ind) (Puigagut *et al.* 2007). Posteriormente hay un descenso de la diversidad, etapa B, que corresponde a la dominancia que ejercen los ciliados fijos en la microfauna existente durante este mismo periodo y que se refleja en el índice de dominancia de Simpson (Fig. 4.9.); otro descenso relevante ocurrió día 61 al 85 en el que análogamente hay un incremento en el índice de dominancia de Simpson, sin embargo este incremento es generado por el aumento de las poblaciones de ciliados libres y reptantes dentro del reactor (etapas C y D). El descenso en la diversidad de la microfauna presente en sistemas de lodos activados ha sido relacionado con un descenso también en la eficiencia de depuración del sistema (Madoni, 1994). Los descensos en la diversidad que se presentaron en nuestro BRM coinciden también con un aumento en la DQO_{sol} con lo que se confirma la relación observada por Madoni (1994), con la ventaja de que la retención de la membrana, ayuda a dar mayor estabilidad a la calidad del efluente en el BRM y un incremento en la DQO_{sol} no corresponde a un incremento de la $DQO_{efluente}$ (Fig. 4.3) y por lo tanto, no implica una pérdida de calidad del efluente en nuestro sistema.

De manera análoga, cuando se observa un incremento en el valor del índice de diversidad en la biomasa, también se puede observar una reducción en la DQO_{sol} del reactor (Fig. 4.9). Esto podría suponer un mejoramiento del funcionamiento del sistema ecológico dentro del reactor. Cuando hay en la biomasa una mayor diversidad de géneros de microfauna interactuando entre sí, en especial degradando y consumiendo la mayor parte de la materia responsable de la DQO_{sol} (e.g. SMP, partículas coloidales,

bacterias libres) en el reactor, esto concuerda con lo reportado por Madoni (1994) para sistemas de lodos activados tradicionales.

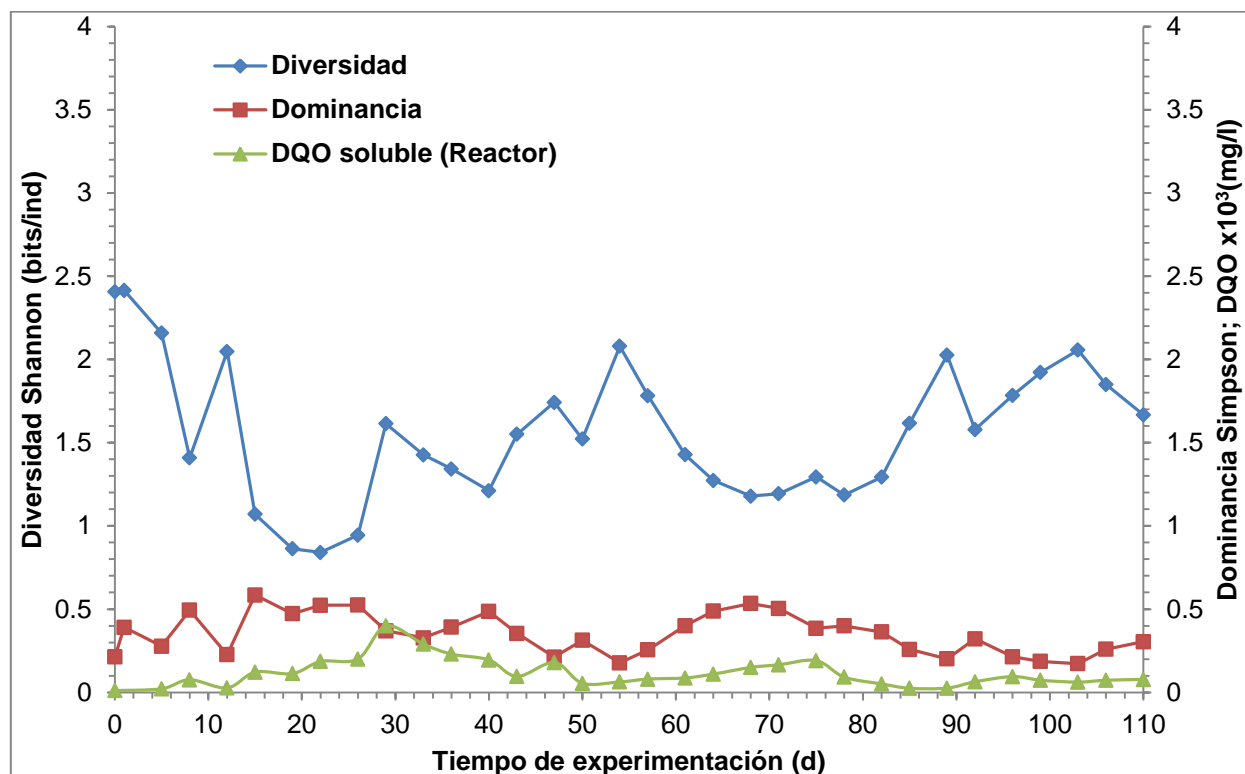


Fig. 4.15 Índice de diversidad (Shannon) e índice de dominancia (Simpson) de las poblaciones de microfauna por género

Adicionalmente a la estimación de los índices de diversidad y dominancia calculados por género, también se estimaron por grupos de microfauna (Fig. 4.16). Esta perspectiva de análisis elimina la individualidad de cada género o taxa en el cálculo y lo realiza agrupando diversos géneros, con base en el grupo de microfauna con el que comparten características de alimentación, morfología y comportamiento. Esto puede ser útil ya que, aunque se supone una distribución cosmopolita de las especies y géneros de microfauna, estos pueden variar dependiendo de la localización, condiciones ambientales, sustratos e inóculos del reactor; eliminar esta variación agrupándolos, genera más ventajas comparativas.

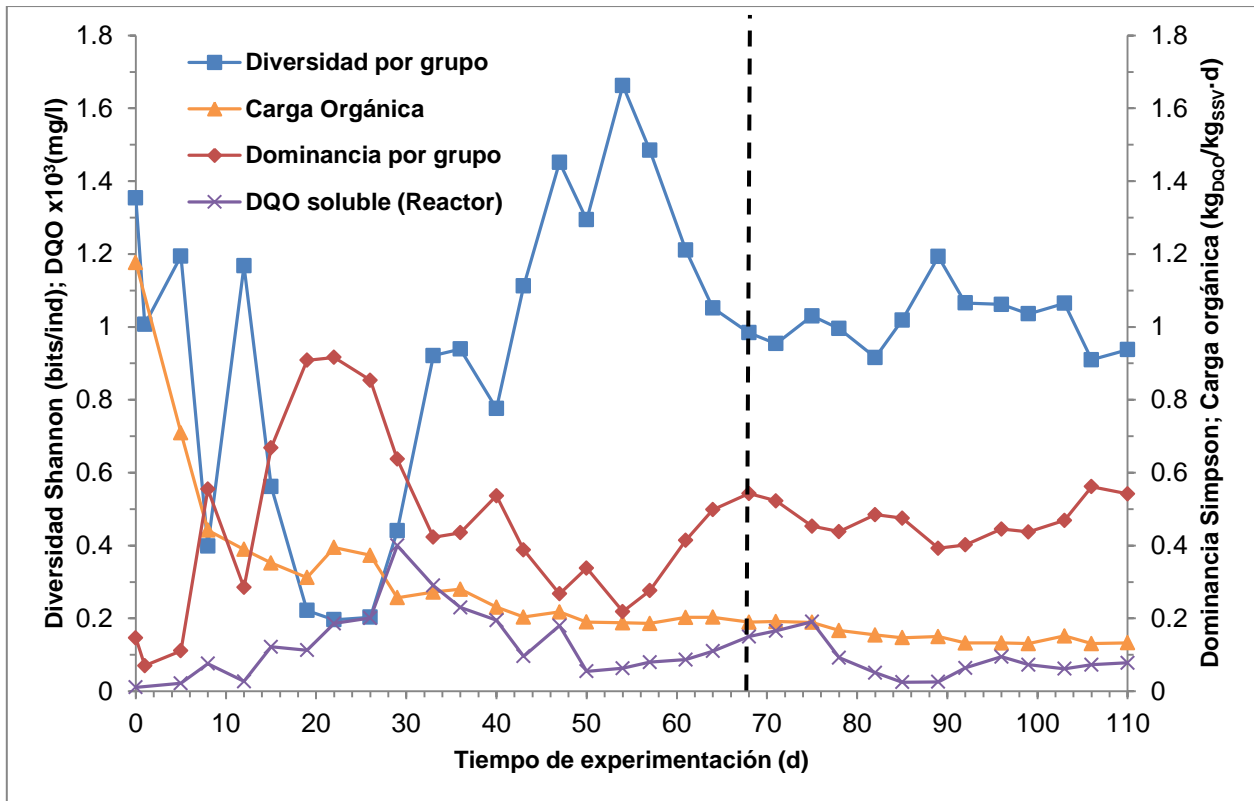


Fig. 4.16 Índice de diversidad (Shannon) e índice de dominancia (Simpson) de las poblaciones de microfauna por grupo

La diversidad a nivel de grupo, durante la Fase de adaptación (Fase I) al inicio de la corrida experimental presenta una marcada disminución, éste descenso en la diversidad es coincide con el descenso en la Fig. 4.15 y es ocasionado igualmente por el grupo de ciliados fijos (etapa A) confirmando con esto su mayor dominancia tanto a nivel de género como de grupo durante el inicio de la fase de adaptación en el reactor. Posterior a esto, continua una etapa donde la diversidad a nivel de grupo es significativamente más elevada (día 43-64, etapa C) esto corresponde a la aparición conjuntamente de poblaciones de ciliados fijos, rotíferos, suctíferos, amibas testadas y pequeñas poblaciones de ciliados fijos (Fig. 4.11) siendo esta etapa la de mayor diversidad de microfauna en el tiempo de experimentación del reactor. Es importante señalar que a partir del día 68 la variación en la diversidad es menor, mostrando un comportamiento más estable, esto contrasta con la Fig. donde se muestran al final del tiempo de experimentación un aumento en la diversidad, sin embargo este aumento está influenciado por un mayor número de especies de un solo grupo (amibas testadas,

anexo I) y no representa a una diversidad de grupos funcionales. Por lo tanto, a nivel de grupo existe una diversidad ya constante dentro de la fase de estabilización (Fase II), esto concuerda con lo encontrado en otros parámetros de operación (CO, SOUR, relaciones de sólidos) y supone una sucesión de poblaciones de microfauna ya más ordenada donde los grupos de microfauna se remplazan aprovechando los recursos del ecosistema (sustratos, espacios, etc.) sin una dominancia que pudiera provocar inestabilidad.

4.9 Balance de resultados

En la corrida experimental fue posible identificar dos fases en la evolución de la biomasa, dentro de las cuales diversos parámetros mostraron (e.g. Carga orgánica másica, velocidad específica de consumo de oxígeno, eficiencia de remoción de DQO, DQO_{per} , DQO_{sol}) comportamientos diferentes en cada una de ellas:

I) Fase I o fase de adaptación: Del inicio de la corrida experimental hasta el día 50 de experimentación, esta fase está caracterizada por la presencia de diferentes procesos de adaptación de la biomasa, con una variación marcada en las magnitudes de los parámetros de operación. En esta etapa la eficiencia de depuración alcanzo su valor más bajo de 91%, a causa de variaciones tanto en la DQO_{sol} que fueron correspondidas en menor magnitud por la DQO_{perm} . En esta etapa es posible ver una mayor variabilidad en las relaciones de sólidos SSV/SST y SSF/SST, así como de la SOUR. La carga orgánica mostro su descenso más pronunciado

II) Fase II o fase de estabilización: Del día 50 hasta el fin de la corrida experimental. En esta etapa se mostró un reactor más estable en sus parámetros de operación, con una alta eficiencia de depuración estable con variaciones más pequeñas. De igual modo las relaciones SSV/SST y SSF/SST mostraron ya una

estabilización con una variación ya más reducida en sus magnitudes. La SOUR aunque mostró un descenso más pronunciado en su magnitud, esta mostró cierta estabilización. En esta etapa es importante señalar que las variaciones en la DQO_{sol} y la DQO_{perm} fueron de menor magnitud que en la etapa anterior reduciéndose conforme avanza el tiempo de experimentación, además de ya no estar relacionadas conjuntamente. La carga orgánica másica mostró una estabilización donde ya no tuvo un descenso pronunciado mostrando un comportamiento asintótico.

Tanto el tamaño de flóculo como la evolución de las características morfológicas de los flóculos en el reactor estuvieron también influenciados por las fases en el reactor. Al inicio de la experimentación debido a la baja cantidad de biomasa (720 $mg_{SSV/l}$) se mostraron flóculos pequeños de 11-40 μm por lo regular mostrando formas irregulares (85%) con una estructura de dispersa a muy dispersa predominantemente. Éste tamaño fue aumentando conforme aumenta la biomasa en el reactor llegando a tamaños promedio de 135 μm , sin embargo también se muestra una mayor dispersión en la distribución de tamaño de flóculos. Éste periodo dura del día 19-40 y está relacionado también con el aumento en la DQO_{sol} y la DQO_{per} , lo que pone de manifiesto procesos donde los flóculos pierden cohesión formando unidades dispersas y débiles, liberando con esto partículas solubles y macromoléculas en suspensión (EPS). Posteriormente existe un periodo (día 47-75) donde el tamaño de floculo decrece hasta llegar a 45 μm , de la misma manera decrece la amplitud de la distribución de tamaño, Este comportamiento coincide con la aparición de poblaciones de rotíferos y concuerda con lo reportado por otros autores (Puigagut *et al.*, 2007), donde las poblaciones de rotíferos son las responsables del decrecimiento del tamaño de flóculo. Es importante señalar que hasta antes del día 45 no se habían presentado poblaciones de rotíferos en el reactor por lo tanto se explica el aumento en el tamaño de flóculo. Posterior al día 70 las poblaciones descienden sustancialmente, pero aún existen pequeñas poblaciones, es por eso que el tamaño de floculo se recupera más lentamente y sin tanta dispersión en su tamaño, e inclusive hacia el final de la

experimentación decrece nuevamente, esto debido al desarrollo de una población de *Lecane sp.*

Tanto la firmeza como la estructura y en menor magnitud la forma muestran un comportamiento conformado por dos etapas, divididas aproximadamente en el día 50. Durante la mayor parte de la primera etapa dominaban flóculos (Fig. 4.17 a) con una estructura muy dispersa, con bordes muy débiles que llegaban a desprenderse (posible formación de EPS solubles), esto podría explicar el aumento en la DQO_{sol} en el primer evento mostrado en la Fig. 4.3 y podría ser consecuencia de una biomasa poco adaptada o en proceso de adaptarse a las condiciones del BRM, que no está realizando correctamente sus funciones metabólicas liberando también productos parciales de la degradación del sustrato (SMP) o no degradándolo por completo, posiblemente incapaz de generar matrices de flóculos densas y compactas. Por otro lado, la segunda etapa se caracteriza por una mejora gradual tanto en la estructura general de los flóculos (estructura, firmeza y forma), presentándose con más frecuencia flóculos compactos, circulares y firmes como los mostrados en la Fig. 4.17 c. Esto podría representar una adaptación de la biomasa a las condiciones de operación de un BRM, mejorando su proceso de floculación como forma de protección al medio. Lo anterior concuerda con lo presentado por otros autores como Van den Broeck *et al.* (2012).

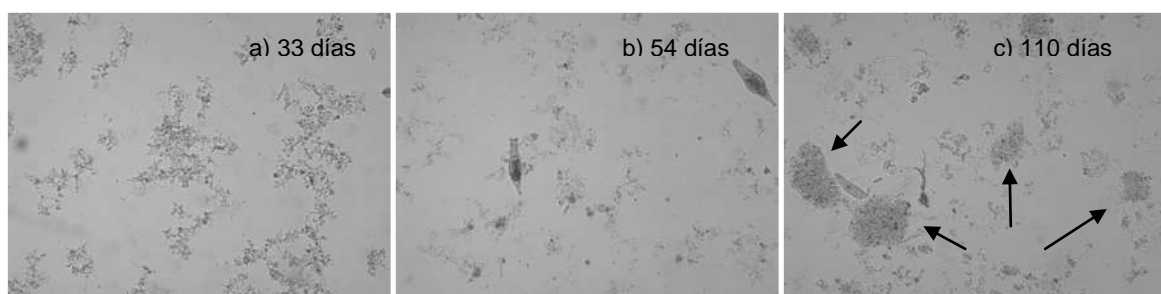


Fig. 4.17 Imágenes de flóculos a 33, 54 y 110

La presencia de las diferentes etapas sucesionales de la microfauna en el reactor pudo ser relacionada con las fases de adaptación y estabilización. Durante la fase de adaptación se presentaron en primer lugar la etapa A que corresponde a poblaciones

típicas de lodos activados, seguido por la etapa B marcada por una dominancia de ciliados fijos. Las poblaciones en la etapa B de sucesión fue relacionada con un descenso en la eficiencia de depuración, estas poblaciones han sido relacionadas con procesos de estabilización, además concuerdan con una alta producción de SMP y EPS solubles en el reactor (indicados por la DQO_{sol}) que podría afectar el proceso de filtración debido a su relación con la colmatación de las membranas, por lo cual este tipo de poblaciones podrían ser indicadores de baja eficiencia de remoción y de reactores inestables con condiciones no deseables. Bajo este contexto de sucesión, la etapa C podría ser tomada como poblaciones de transición en donde la biomasa está pasando a una fase estable. Durante la fase de estabilización del reactor se identificaron tres etapas de sucesión, etapa D dominada por ciliados reptantes, etapa E dominada por amibas testadas y etapa F con la presencia de amibas testadas y rotíferos. Estas tres etapas se presentan ya bajo parámetros estables del reactor. Es necesario por lo tanto generar más investigación acerca de las poblaciones presentes en reactores con condiciones estables (e.g. cargas orgánicas estables) para comprender sus diferencias y sus efectos en los parámetros de operación.

5 CONCLUSIONES

El presente estudio encontró que el proceso de adaptación de la biomasa de condiciones de lodos activados a BRM está dividido en dos etapas, bajo las condiciones utilizadas en este estudio se presentó aproximadamente en el día 50, anterior a este punto existe una baja eficiencia de depuración y un aumento en la producción de SMP. La etapa posterior muestra una estabilización de parámetros tales como la carga orgánica, eficiencia de depuración y menor producción de SMP además de una mejora paulatina en los procesos de floculación.

La abundancia de bacterias filamentosas en este estudio contrastó con lo encontrado por otros autores para BRM, disminuyendo ampliamente su abundancia, por lo cual es necesaria mayor investigación acerca de cuáles son las condiciones de desarrollo de bacterias filamentosas en los BRM, ya que su presencia y abundancia está relacionado con procesos de colmatación y desarrollo de biopelícula en la membrana de filtración.

La evolución de las diferentes poblaciones de protozoarios dentro del proceso de estabilización fue similar al reportado para sistemas de lodos activados tradicionales, a excepción de las poblaciones de ciliados fijos que se presentaron en un orden diferente. Estas poblaciones pueden ser relacionadas con el estado de adaptación de la biomasa en que se encuentran, resaltando la dominancia de poblaciones de ciliados fijos como indicador de inestabilidad en el reactor y baja eficiencia. Por otro lado las poblaciones de rotíferos pueden ser relacionadas con mejores procesos de floculación y la disminución de SMP y macromoléculas disueltas, siendo estos de vital importancia para el manejo y prevención de la colmatación en la membrana. Sin embargo es necesario genera mayor investigación para comprender las poblaciones presentes en reactores más estables e identificar su relación con los parámetros de operación de un BRM

El análisis de la diversidad ecológica de las poblaciones de protozoarios, muestra una respuesta relacionada a las condiciones de operación y aparición de poblaciones de microfauna, reflejando en este estudio procesos de dominancia que afectan la eficiencia de depuración (día 8-43) o la estabilización del proceso (día 64-110). Debido a esto se puede considerar como una útil herramienta de diagnóstico y supervisión del proceso biológico en biorreactores con membranas.

5.1 Validación de la Hipótesis

Hipótesis: Las características morfológicas de la biomasa y las poblaciones de la microfauna, podrán ser relacionadas con la estabilización de la carga orgánica de un biorreactor con membranas sumergidas

Hipótesis validada ya que fue posible relacionar las diferentes poblaciones de microfauna presentes en el reactor así como las características morfológicas de la biomasa con dos fases de estabilización de la carga orgánica: Fase I de adaptación, con cambios significativos en la variación de la carga orgánica mostrando un descenso rápido y, Fase II de estabilización donde la carga orgánica presenta variación poco significativa y comportamiento asintótico.

6 REFERENCIAS

- Adriannus, H. & Jeroen Van der, L. (2007) *Handbook Biological Waste Water Treatment*, second edi., 268–301. IWA publishing.
- Arévalo, J., Moreno, B., Pérez, J. & Gómez, M. a. (2009) Applicability of the Sludge Biotic Index (SBI) for MBR activated sludge control. *J. Hazard. Mater.* **167**(1-3), 784–9. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.01.057
- Baek, S. H. & Pagilla, K. (2009) Microbial Community Structures in Conventional Activated Sludge System and Membrane Bioreactor (MBR). *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 14, 848–853. doi:10.1007/s12257-008-0303-1
- Broeck, R. Van den, Dierdonck, J. Van, Nijskens, P., Dotremont, C., Krzeminski, P., Graaf, J. H. J. M. van der, Lier, J. B. van, et al. (2012) The influence of solids retention time on activated sludge bioflocculation and membrane fouling in a membrane bioreactor (MBR). *J. Memb. Sci.* 401-402, 48–55. Elsevier B.V. doi:10.1016/j.memsci.2012.01.028
- Colwell, R. K. (2006) EstimateS: Estatistical estimation of especies richness and shared species from samples.
- Curds, C. R. (1975) *Protozoa In Ecological Aspects of Used Water Treatment*, pp. 203–268. Academic Press.
- Damiá, B. (2008) *Aguas continentales*. (S. A. Cyan, Proyectos y Producciones Editorialres, Ed.), 277. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas.
- Dubber, D. & Gray, N. F. (2009) Enumeration of protozoan ciliates in activated sludge : Determination of replicate number using probability. *Water Res.* 43(14), 3443–3452. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.watres.2009.05.006
- Eikelboom, D. (2000) *Process Control of Activated Sludge Plants by Microscopic Investigation*. London: International Association on Water Quality.
- Field, R. (2010) Fundamentals of Fouling. In: *Membranes for Water Treatment* (P. Klaus-Viktor & S. N. Pereira, eds.), Vol. 4, 1–23. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.

-
- Frølund, B., Palmgren, R., Keiding, K. & Nielsen, P. (1996) Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Res.* **30**(8), 1749–1758.
- Gerardi, M. H. (2002) *Settleability Problems and Loss of Solids in the Activated Sludge Process. Wastewater Microbiol. Ser.*, 1–200. John Wiley & Sons.
- Hejzlar, J. & Chudoba, J. (1986) Microbial polymers in the aquatic environment—I: Production by activated sludge microorganisms under different conditions. *Water Res.* **20**(10), 1209–1216.
- Heran, M., Wisniewski, C., Orantes, J. & Grasmick, A. (2008) Measurement of kinetic parameters in a submerged aerobic membrane bioreactor fed on acetate and operated without biomass discharge. *Biochem. Eng. J.* **38**, 70–77. doi:10.1016/j.bej.2007.06.015
- Huang, X., Gui, P. & Qian, Y. (2001) Effect of sludge retention time on microbial behaviour in a submerged membrane bioreactor. *Process Biochem.* **36**, 1001–1006.
- Jenkins, D., Richard, M. G. & Daigger, G. T. (2004) *Manual on the causes and control of activated sludge bulking, foaming, and other solids separation problems.* IWA publishing.
- Judd, S. (2008) The status of membrane bioreactor technology. *TRENDS Biotechnol.* **i**(January), 109–116. Cranfield, Bedfordshire, UK. doi:10.1016/j.tibtech.2007.11.005
- Judd, S. (2011) *The MBR Book.*
- Khursheed, A. & Kazmi, a a. (2011) Retrospective of ecological approaches to excess sludge reduction. *Water Res.* **45**(15), 4287–310. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.watres.2011.05.018
- Kovach Computing Services. (2013) MVSP Multivariate Statistical Package. Pentraeth, Wales, UK: Kovach Computing Services.

- Laera, G., Giordano, C., Pollice, A., Saturno, D. & Mininni, G. (2007) Membrane bioreactor sludge rheology at different solid retention times. *Water Res.* **41**(18), 1832–1840. doi:10.1016/j.watres.2007.01.022
- Lapidou, C. S. & Rittmann, B. E. (2002) A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Res.* **36**(11), 2711–20.
- Lewandowski, Z. & Beyenal, H. (2005) Biofilms: their structure, activity, and effect on membrane filtration. *Water Sci. Technol.* **51**(6-7), 181–92.
- Li, J., Li, Y., Ohandja, D.-G., Yang, F., Wong, F.-S. & Chua, H.-C. (2008) Impact of filamentous bacteria on properties of activated sludge and membrane-fouling rate in a submerged MBR. *Sep. Purif. Technol.* **59**, 238–243. doi:10.1016/j.seppur.2007.06.011
- Luna, V. M. (2006) *Atlas de Ciliados y otros Microorganismos frecuentes en Sistemas de Tratamiento Aerobio de Aguas Residuales*. Vasa, Primera ed., 133 P. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Madoni, P. (1994) A Sludge Biotic Index (Sbi) For The Evaluation Of The Biological Performance Of Activated Sludge Plants Based On The Microfauna Analysis. *Water Res.* **28**(1), 67–75.
- Madoni, P. (2011) Protozoa in wastewater treatment processes : A minireview. *Ital. J. Zool.* **78**(March), 3–11. doi:10.1080/11250000903373797
- Magurran, A. E. (1998) *Ecological Diversity and Its Measurement*, 172 pp. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Magurran, A. E. (2004) *Measuring Biological Diversity*, 256. Blackwell Science Ltd.
- Martins, A., Pagilla, K., Heijnen, J. & Loosdrecht, M. van. (2003) Filamentous bulking sludge--a critical review. *Water Res.* **793–817**. doi:10.1016/j.watres.2003.11.005
- Metcalf, L., Eddy, H. P. & Tchobanoglous, G. (1996) *Ingeniería de aguas residuales: tratamiento, vertido y reutilización*, 1485pp. México : McGraw-Hill.

- Moreno, C. E. (2001) Métodos para medir la biodiversidad. (M&T–Manuales y Tesis SEA, Ed.) *M&T–Manuales y Tesis SEA 1 Vol.*, 84 pp. Zaragoza España.
- Ognier, S., Wisniewski, C. & Grasmick, A. (2004) Membrane bioreactor fouling in sub-critical filtration conditions: a local critical flux concept. *J. Memb. Sci.* **229**(1-2), 171–177. doi:10.1016/j.memsci.2003.10.026
- Orantes, J. (2005) *Cinetiques Reactionnelles Et Performances De Filtration En Bioreacteur A Membranes Immergees Sous Retention Totale De Biomasse*. Universite Montpellier Ii, M O N T P E L L I E R.
- Orantes, J., Wisniewski, C., Heran, M. & Grasmick, A. (2006) The influence of operating conditions on permeability changes in a submerged membrane bioreactor. *Sep. Purif. Technol.* **52**, 60–66. doi:10.1016/j.seppur.2006.03.016
- Pauli, W., Jax, K. & Berger, S. (2001) Protozoa in Wastewater Treatment : Function and Importance. In: *The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 2 Part K*, Vol. 2, 203–252. Berlin Heidelberg: © Springer-Verlag.
- Pérez-Elvira, S. I., Nieto Diez, P. & Fdz-Polanco, F. (2006) Sludge minimisation technologies. *Rev. Environ. Sci. Bio/Technology* **5**(4), 375–398. doi:10.1007/s11157-005-5728-9
- Piterina, A. V, Bartlett, J. & Pembroke, J. T. (2012) Phylogenetic analysis of the bacterial community in a full scale autothermal thermophilic aerobic digester (ATAD) treating mixed domestic wastewater sludge for land spread. *Water Res.* **46**(8), 2488–504. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.watres.2012.01.045
- Pollice, A., Brookes, A., Jefferson, B. & Judd, S. (2005) Sub-critical flux fouling in membrane bioreactors — a review of recent literature. *Desalination* **174**, 221–230.
- Pollice, A., Giordano, C., Laera, G., Saturno, D. & Mininni, G. (2007) Membrane bioreactor sludge rheology at different solid retention times. *Water Res.* **41**(18), 4197–4203. doi:10.1016/j.watres.2007.01.022
- Puigagut, J., Slavadó, H., Tarrats, X., Garcia, J. & Garci, J. (2007) Effects of particulate and soluble substrates on microfauna populations and treatment efficiency in

- activated sludge systems. *Water Res.* i(41), 3168–3176. Barcelona, España. doi:10.1016/j.watres.2007.04.016
- Radjenovic, J., Matosic, M., Mijatovic, I. & Petrovic, M. (2008) Membrane bioreactor (MBR) as an advanced wastewater treatment technology. *Hdb Env Chem* 5(November 2007), 37–101. doi:10.1007/698
- Ramalho, R. S., Lora, F. de & Jimenez, D. (1996) *Tratamiento de aguas residuales*, 705p. Reverté.
- Spérandio, M., Masse, A., Espinosa-Bouchot, M. C. & Cabassud, C. (2005) Characterization of sludge structure and activity in submerged membrane bioreactor. *Water Sci. & Technology* 52(10-11), 401–408.
- Sun, Y., Wang, Y. & Huang, X. (2007) Relationship between sludge settleability and membrane fouling in a membrane bioreactor. *Front. Environ. Sci. Engin. China* 1(2), 221–225. doi:10.1007/s11783-007-0038-9
- Valle-Fernandez, F. (2012) Estudio sobre la adaptación de la biomasa, proveniente de un reactor de lodos activados, en la etapa de arranque de un BRM, bajo la condición de retención total de sólidos. Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo.
- Védry, B. (1987) *L'Analyse Ecologique Des Boues Activees*. (SEGETEC, Ed.), CHRISTIAN ., 125 p.
- Villalón, A. (2012) Análisis cinético y de la actividad bacteriana por microscopía de fluorescencia, en un BRM bajo retención total de sólidos. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Visvanathan, C., Aim, B. R., Parameshwaran, K. & Aim, R. Ben. (2010) Membrane Separation Bioreactors for Wastewater Treatment. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 30(30), 1–48. doi:10.1080/10643380091184165
- Vizcaya, F. ., Estrany, F. & Oliver, R. (2006) El reactor biológico de membrana en el tratamiento de aguas residuales. *Esc. Univ. Ing. Técnica Ind. Barcelona* 160–167.

- Wang, L. K. & Menon, R. (2009) Membrane Bioreactors. In: *Handbook of Environmental Engineering, Volume 9: Advanced Biological Treatment Processes*, Vol. 9, 129–156. New York: Humana Press. doi:10.1007/978-1-60327-170-7
- Wang, Z., Wang, P., Wang, Q., Wu, Z., Zhou, Q. & Yang, D. (2010) Effective control of membrane fouling by filamentous bacteria in a submerged membrane bioreactor. *Chem. Eng. J.* 158(3), 608–615. Elsevier B.V. doi:10.1016/j.cej.2010.02.019
- WEF, W. E. F. (2006) *MEMBRANE SYSTEMS FOR WASTEWATER TREATMENT*, 284p. MC GRAW HILL.
- Wei, C., Huang, X., Ben, R., Yamamoto, K. & Amy, G. (2010) Critical flux and chemical cleaning-in-place during the long- term operation of a pilot-scale submerged membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Water Res.* 45(2), 863–871. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.watres.2010.09.021
- Wilén, B.-M., Jin, B. & Lant, P. (2003) The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties. *Water Res.* 37(9), 2127–2139. doi:10.1016/S0043-1354(02)00629-2
- Witzig, R., Manz, W., Rosenbergerb, S., Krügerb, U., Kraumb, M., Szewzyk, U. & Kraume, M. (2002) Microbiological aspects of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal wastewater. *Water Res.* 36(2), 394–402.
- Yang, W., Cicek, N. & Ilg, J. (2006) State-of-the-art of membrane bioreactors: Worldwide research and commercial applications in North America. *J. Memb. Sci.* 270, 201–211. doi:10.1016/j.memsci.2005.07.010
- Yiannakopoulou, T. V. (2010) An ecosystem analysis of the activated sludge microbial community. *J. Environ. Sci. Health. A. Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 45(5), 587–602. doi:10.1080/10934521003595605
- Zarragoitia-Gonzalez, A. (2009) Desarrollo de modelos dinamicos para la simulacion y optimizacion de biorreactores con membrana sumergida para el tratamiento de aguas residuales. *Inst. Nac. Politec. TOULOUSE-ESCUELA Nac. Super. Ing. EN ARTES Quim. Y Technol.* 171.

- Zhou, K., Xu, M., Dai, J. & Cao, H. (2006) The microfauna communities and operational monitoring of an activated sludge plant in China. *Eur. J. Protistol.* 42(4), 291–5. doi:10.1016/j.ejop.2006.07.005
- ZHOU, K., XU, M., LIU, B. & CAO, H. (2008) Characteristics of microfauna and their relationships with the performance of an activated sludge plant in China. *J. Environ. Sci.* **20**(September 1996), 482–486.

ANEXOS

ANEXO A Determinación del flujo crítico de la membrana

Como parte de la caracterización de la membrana, para poder fijar las condiciones de flujo membranal de operación, se determinó el flujo crítico, para este módulo de membranas. La determinación se realizó mediante el método flux-step (subcapítulo 3.2.1.2; (Field, 2010; Ognier *et al.*, 2004; Radjenovic *et al.*, 2008). Se tomó un límite máximo de la PTM = 0.5 bar, por recomendación del fabricante. La succión fue realizada por dos bombas peristálticas (Watson Marlow®) y los flujos se midieron por volumetría (Pyrex®).

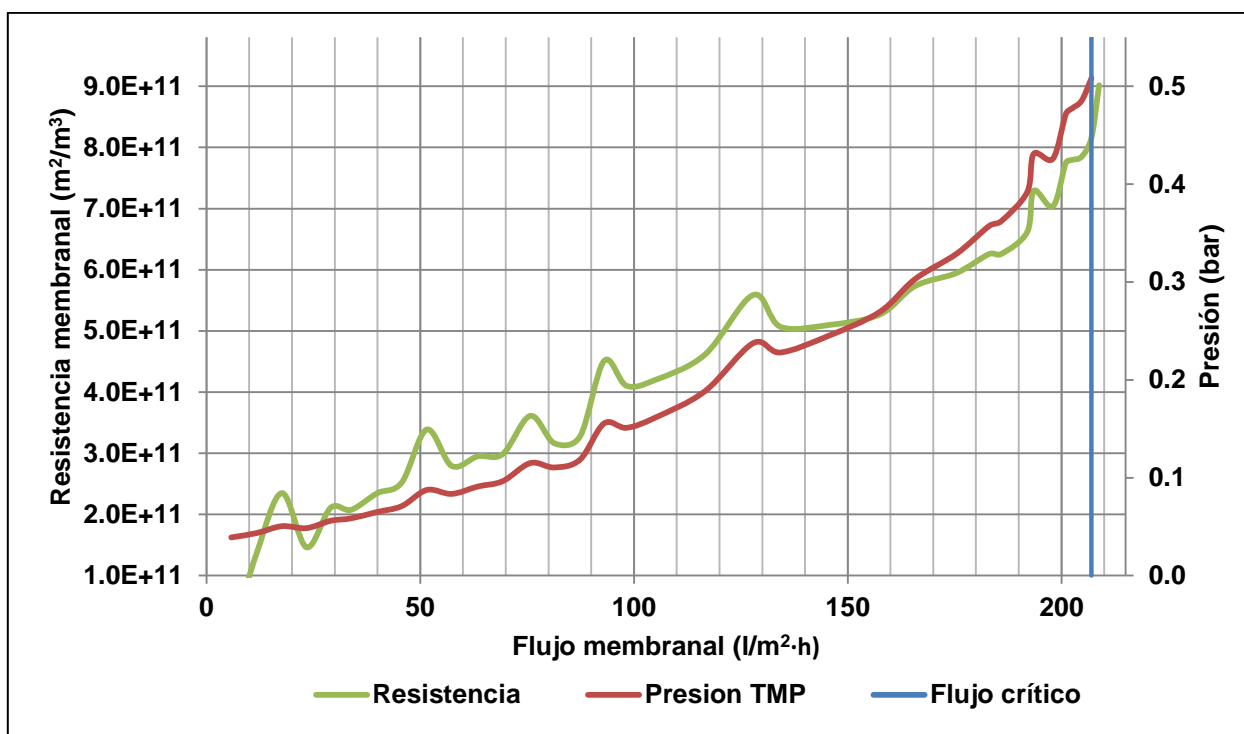


Fig. A.1 Curvas de resistencia y presión transmembranal, durante la determinación del flujo crítico de la membrana.

Los resultados de la prueba (Fig. A.1) muestran que el flujo crítico para la membrana resultó de $J=207 \text{ l/m}^2\cdot\text{h}$, correspondiente a un gasto $Q=41.4 \text{ l/h}$, con el cual se estimó una resistencia membranal $R=8.148 \times 10^{11} \text{ m}^2/\text{m}^3$. Dado que durante la experimentación se decidió trabajar con un flujo subcrítico, se determinó se decidió trabajar con un flujo membranal experimental $J=4.6 \text{ l/m}^2\cdot\text{h}$ correspondiente a las condiciones propuestas inicialmente.

ANEXO B Tablas de abundancia de microfauna en el reactor

Tabla. B.1 Tabla de abundancia relativa de poblaciones de microfauna durante la evolución del biorreactor

No. muestra	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		
Días de operación	0	1	5	8	12	15	19	22	26	29	33	36	40	43	47	50	54	57	61	64	68	71	75	78	82	85	89	92	96	99	103	106	110		
Ciliados fijos	0.2857	0.1250		0.7419	0.4524	0.8069	0.9524	0.9569	0.9219	0.7978	0.5146	0.3278	0.2235	0.2519	0.3592	0.2494	0.2222	0.1417	0.1139	0.0895	0.0801	0.0507	0.0299	0.0126	0.0100	0.0229	0.0532	0.0112	0.0089	0.0101	0.0689	0.1131	0.0462		
<i>Epistylis</i> sp.						0.0108				0.0022		0.0057		0.0044	0.0094	0.0060	0.0358	0.0387	0.0159	0.0188	0.0225	0.0189	0.0055	0.0039	0.0067	0.0035	0.0085	0.0013		0.0065	0.0627	0.0972	0.0462		
<i>Vorticella infosionum</i>																	0.0846	0.0457	0.0046																
C. Fijo 01	0.1071	0.0625				0.0333	0.3810	0.2983	0.2326	0.4416	0.4030	0.2386	0.1631	0.1595	0.2535	0.1841	0.0720	0.0257	0.0496	0.0261	0.0294	0.0130	0.0074	0.0011		0.0099	0.0059	0.0014	0.0010	0.0006	0.0011	0.0011			
C. Fijo 02	0.1786	0.0625		0.0968	0.3333	0.7521	0.5714	0.6586	0.6830	0.3539	0.0990	0.0835	0.0604	0.0880	0.0964	0.0594	0.0299	0.0316	0.0437	0.0423	0.0250	0.0161	0.0165	0.0076	0.0033	0.0095	0.0387	0.0084	0.0079	0.0030	0.0041	0.0137			
<i>Vorticella comunis</i>				0.6452	0.1190	0.0108					0.0063	0.0126																					0.0010	0.0011	
<i>Opercularia</i> sp.																				0.0023	0.0032	0.0027	0.0006												
Suctíferos			0.1667		0.0238	0.0108									0.0498	0.0406	0.1057	0.0906	0.0241	0.0316	0.0064	0.0027	0.0021	0.0030		0.0052	0.0033			0.0007	0.0010				
<i>Podophrya</i> sp.			0.1667		0.0238	0.0108									0.0498	0.0406	0.0093	0.0120	0.0032	0.0015	0.0007	0.0007			0.0005		0.0017								
<i>Acinetas</i> sp.																					0.0008														
Suctífero1																	0.0964	0.0787	0.0209	0.0293	0.0058	0.0021	0.0021	0.0025		0.0035	0.0033			0.0007	0.0010				
Ciliados libres	0.1071	0.1250	0.1667		0.2619			0.0159		0.0114	0.3920	0.5696	0.6964	0.5586	0.3108	0.5013	0.3434	0.4470	0.6114	0.6873	0.7229	0.6988	0.2665	0.3750	0.2897	0.1476	0.0937	0.5217	0.1548	0.0786	0.0277	0.0055	0.0102		
<i>Cinetochillum</i> sp.											0.0058									0.0017															
<i>Tetrahymena</i> sp.			0.1667							0.0082			0.0212	0.0014		0.0007																			
<i>Dexiotricha</i> sp.										0.0032			0.0020																						
<i>Glaucoma</i> sp.																				0.0007															
<i>Uronema</i> sp.																																	0.0134		
<i>Urotricha</i> sp.																	0.0006		0.0009																
<i>Acineria</i> sp.	0.0714	0.0625			0.2619			0.0159			0.3863	0.5696	0.6732	0.5548	0.3108	0.5006	0.3421	0.4470	0.6104	0.6865	0.7229	0.6974	0.2665	0.3745	0.2897	0.1476	0.0937	0.5217	0.1548	0.0786	0.0143	0.0055	0.0102		
<i>Colpidium</i> sp.	0.0357	0.0625																																	
<i>Halteria</i> sp.																	0.0007																		
Ciliados Carnívoros	0.2500	0.5000	0.3333	0.1935	0.1190	0.0293		0.0053	0.0179	0.1671	0.0213	0.0166	0.0169	0.0237	0.0026	0.0053	0.0028	0.0006	0.0004	0.0021		0.0005			0.0008	0.0018	0.0137	0.0070	0.0022	0.0095	0.0070	0.0022			
<i>Spathidium</i> sp.																																			
<i>Holophrya</i> sp.				0.0323	0.0476	0.0108				0.0035		0.0055		0.0028		0.0070	0.0019				0.0016				0.0014	0.0014	0.0146	0.0070	0.0016	0.0027					
<i>Coleps</i> sp.		0.1250								0.0011			0.0006	0.0007																					
<i>Plagiocampa</i> sp.	0.0357	0.1875	0.1667	0.1613	0.0714					0.0351		0.0006	0.0205	0.0253	0.0031		0.0007	0.0010	0.0007	0.0008					0.0006	0.0018							0.0011		
<i>Blepharisma</i> sp.	0.2143	0.1875	0.1667			0.0186		0.0053	0.0179	0.1417	0.0230	0.0127					0.0012			0.0008															
Ciliados reptadores	0.0714				0.0476	0.0119	0.0159				0.0015	0.0405	0.0027	0.0150	0.0107	0.0020	0.0046	0.0136	0.0199	0.0067	0.0443	0.1624	0.6131	0.5431	0.6311	0.6562	0.2197	0.0889	0.1520	0.2626	0.1403	0.0370	0.0921		
<i>Aspidisca</i> sp.	0.0714				0.0238						0.0015			0.0013	0.0039	0.0031	0.0026	0.0025		0.0008	0.0256	0.0767	0.0603	0.0366	0.1163	0.2718	0.1999	0.0889	0.1472	0.2596	0.1383	0.0362	0.0896		
<i>Euplotes</i> sp.				0.0238	0.0119	0.0159							0.0013	0.0057		0.0020	0.0006	0.0103	0.0039	0.0038	0.0064			0.0005	0.0008		0.0052	0.0064	0.0021	0.0006					
<i>Drepanomonas</i> sp.												0.0405		0.0055	0.0076						0.0008	0.0160	0.0022	0.0122	0.0856	0.5528	0.5060	0.5139	0.3844	0.0146		0.0027	0.0024	0.0020	
<i>Stylonychia</i> sp.																	0.0014																0.0008	0.0024	
Rotíferos	0.0357	0.0625	0.1667								0.0036	0.0021	0.0276	0.0996	0.1761	0.1391	0.1585	0.1739	0.1004	0.0733	0.0488	0.0127	0.0172	0.0207	0.0224	0.0193	0.0351	0.0218	0.0535	0.0381	0.0948	0.1068	0.1329		
<i>Adineta</i> sp.	0.0357	0.0625	0.1667								0.0036	0.0021	0.0276	0.0996	0.1761	0.1391	0.1571	0.1731	0.1004	0.0733	0.0488	0.0113	0.0144	0.0152	0.0126	0.0052	0.0180	0.0055	0.0223	0.0132	0.0329	0.0574	0.0748		
<i>Lecane</i> sp.																	0.0014	0.0008				0.0014	0.0028	0.0055	0.0098	0.0140	0.0171	0.0163	0.0312	0.0248	0.0618	0.0494	0.0581		
Nemátodos	0.0357					0.0119				0.0011		0.0016	0.0006	0.0007		0.0020	0.0518			0.0015	0.0006	0.0007	0.0018	0.0005			0.0058	0.0015			0.0010	0.0035	0.0021		
Amebas Testadas	0.2143	0.1875	0.1667	0.0645	0.0952	0.1292	0.0317	0.0220	0.0603	0.0226	0.0670	0.0418	0.0322	0.0504	0.0907	0.0603	0.1110	0.1326	0.1299	0.1081	0.0968	0.0716	0.0694	0.0452	0.0461	0.1470	0.5755	0.3480	0.6286	0.6003	0.6593	0.7320	0.7166		
<i>Arcella</i> sp.	0.2143	0.1875	0.1667	0.0645	0.0952	0.1292	0.0317	0.0220	0.0603	0.0226	0.0670	0.0418	0.0322	0.0504	0.0907	0.0603	0.0960	0.1192	0.1118	0.0844	0.0746	0.0617	0.0629	0.0354	0.0369	0.1188	0.3583	0.1731	0.2317	0.2049	0.1453	0.1048	0.1054		
<i>euglyphia</i> sp.																	0.0150	0.0134	0.0180	0.0236	0.0222	0.0098	0.0065	0.0098	0.0092	0.0281	0.0925	0.0721	0.0505	0.0365	0.0428	0.0540	0.0390		
<i>Arcella constata</i>																												0.1137	0.0703	0.3323	0.2263	0.1629	0.0804</		

Tabla. B.2 Tabla de frecuencia de individuos(ind/ml) de las poblaciones de microfauna durante la evolución del biorreactor

No. muestra	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		
Días de operación	0	1	5	8	12	15	19	22	26	29	33	36	40	43	47	50	54	57	61	64	68	71	75	78	82	85	89	92	96	99	103	106	110		
Ciliados fijos	320	80		920	760	1200	2400	3027	4080	8000	4178	17138	17475	16019	19714	16686	20090	9895	11817	7646	8370	5164	8634	3124	2833	1310	1049	427	527	853	4373	6347	2347		
<i>Epistylis sp</i>						13				22		225		343	514	457	2940	2610	1650	1626	2371	1918	1623	987	1833	167	166	53		533	4027	5547	2347		
<i>vorticela infosionum</i>																	8076	3257	483																
<i>C. Fijo 01</i>	120	40				67	960	987	1080	4444	3333	12638	12675	10229	13886	12343	6514	1790	5150	2174	3160	1321	2118	222		581	113	53	53	53	67	53			
<i>C. Fijo 02</i>	200	40		120	560	1107	1440	2040	2960	3533	756	4275	4800	5448	5314	3886	2560	2238	4533	3651	2497	1625	4727	1914	1000	562	770	320	474	267	227	693			
<i>Vorticella comunis</i>				800	200	13			40		89																								
<i>Opercularia sp</i>																			195	341	300	167									53	53			
Suctíferos			40		40	13									2743	2743	9810	6400	2500	2615	714	300	665	781			250	59			53	67			
<i>Podophrya sp.</i>			40		40	13									2743	2743	883	838	333	128	80	75		133			83								
<i>Acineta sp.</i>																							67												
<i>Suctífero1</i>																	8926	5562	2167	2421	634	225	665	648			167	59			53	67			
Ciliados libres	120	80	40		440			40		111	3022	30188	62250	35429	17143	32629	31590	31562	63433	59159	76979	73771	80124	92292	85833	8512	1867	19947	9505	6560	1587	320	480		
<i>Cinetochillum sp.</i>											44																								
<i>Tetrahymena sp.</i>			40							78			1350	76		57																			
<i>Dexiotricha sp.</i>										33			150																						
<i>Glaucoma sp.</i>															57																				
<i>Uronema sp.</i>																																	760		
<i>Urotricha sp.</i>																	67		100																
<i>Acineria sp.</i>	80	40			440			40			2978	30188	60750	35200	17143	32571	31474	31562	63333	59097	76979	73621	80124	92159	85833	8512	1867	19947	9505	6560	827	320	480		
<i>Colpidium sp.</i>	40	40																																	
<i>Halteria sp.</i>																	50																		
Ciliados Carnívoros	280	320	80	240	200	120		40	80	6796	498	2730	3960	4400	291	1131	780	120	120	480		160			800	320	818	800	480	2400	1120	320			
<i>Spathidium sp.</i>																							100								59	587	373	53	
<i>Holophrya sp.</i>				40	80	13					33		150		152		514	183				123				500	100	290	267	119	213				
<i>Coleps sp.</i>		80									11		75	57																					
<i>Plagiocampa sp.</i>	40	120	40	200	120					378		38	2400	1600	171		50	67	67	62						167	95						53		
<i>Blepharisma sp.</i>	240	120	40			27		13	40	1422	178	600					133																		
Ciliados reptadores	80				80	13	40				15	1425	150	971	600	171	381	981	2050	595	4718	16814	185399	132302	189667	38140	4367	3413	9031	21867	8200	2133	4320		
<i>Aspidisca sp.</i>	80				40						15		75	267	171		224	181		62	2688	7879	17898	9022	34167	16060	3970	3413	8741	21600	8093	2080	4213		
<i>Euplotes sp.</i>				40	13	40							75	381		171	57	743	400	333	691			111	167		107		113	53					
<i>Drepanomona sp.</i>												1425		324	429			57	1650	200	1339	8936	167500	123168	155333	22081	290		178	213	107				
<i>Stylonychia sp</i>																	100																	53	107
Rotíferos	40	40	40								30	150	2100	6152	9686	9257	14576	12324	10400	6195	5208	1414	5104	4870	6667	1107	676	853	3241	3093	5627	5493	6133		
<i>Adineta sp.</i>	40	40	40								30	150	2100	6152	9686	9257	14476	12267	10400	6195	5208	1264	4229	3549	3667	250	344	213	1357	1067	1920	2987	3360		
<i>Lecane sp.</i>																	100	57				150	875	1321	3000	857	332	640	1884	2027	3707	2507	2773		
Nemátodos	40					13					11	38	75	57		114	5783			133	67	75	493	133			119	53		53	160	107			
Amebas	240	120	40	80	160	173	80	80	200	222	533	2250	2550	3162	4971	3886	10329	9400	13417	9236	10297	7254	20715	10987	13500	8212	11206	13280	38287	49173	39893	37547	33440		
<i>arcella sp</i>	240	120	40	80	160	173	80	80	200	222	533	2250	2550	3162	4971	3886	8924	8457	11567	7221	7935	6246	18755	8610	11000	6640	6981	6613	14234	16587	8693	5547	4960		
<i>euglypha sp</i>																	1405	943	1850	2015	2362	1007	1960	2378	2500	1571	1825	2773	3087	2933	2613	2827	1867		
<i>arcella constata</i>																											2175	2667	20130	18667	9947	4160	267		
<i>microchlamys patella</i>																											225	1227	836	10987	18640	23893	24160		
<i>difugia sp</i>																																	1120	2187	
Flagelados	920	760	1120	320	1920	680	7520	20320	737500	138750	25000	20000	935000	1132500	412500	1091250	1293750	1188750	1027500	1166250	772500	588750	446250	453750	307500	180000	1117500	551250	982500	495000	333750	183750	300000		
Total	2200	1280	480	2480	3360	2971	5040	6347	8680	25316	16232	105858	175560	129733	110176	132502	180481	141311	207420	171753	212638	209769	601775	488844	598467	115577	39675	76959	121841	166399	121041	104266	93548		