



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE INGENIERÍA
CENTRO INTERAMERICANO DE RECURSOS DEL AGUA



“CARACTERIZACIÓN DE LAS RUTAS METABÓLICAS DE UN LODO ACTIVADO ENRIQUECIDO EN BACTERIAS ACUMULADORAS”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS DEL AGUA

PRESENTA:

ING. ARANZAZÚ GUADALUPE HERNÁNDEZ MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. CHEIKH FALL

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO

DICIEMBRE DE 2015

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado para la realización de mi tesis con el Proyecto Conacyt No. 152943 titulado “Reducción de los sólidos generados por el proceso de lodo activado: Mecanismos subyacentes y modelación dinámica de la degradación de la fracción del residuo endógeno (Xp) de los lodos” y la beca otorgada durante mis estudios.

Un agradecimiento especial a mi tutor académico, el Dr. Cheikh Fall, por su paciencia, apoyo y conocimientos que hicieron posible la culminación de mi tesis. Muchas gracias.

A los sinodales, por sus acertadas recomendaciones, para el mejoramiento de este trabajo.

A todo el personal y amigos del Centro Interamericano de Recursos del Agua que estuvieron relacionados directa o indirectamente para concluir mi maestría.

A mi papá por el apoyo brindado, en todos los aspectos, para realizar mis estudios. Gracias, lo quiero mucho.

A Rogelio, por tu amor, ánimo, paciencia y apoyarme en todo lo que estuvo a tu alcance. Muchas gracias corazón.

A mi abuela, hermanas, sobrinos y toda mi familia que me alentaron y me brindaron su cariño, comprensión y apoyo siempre que lo necesité.

A mi gran amigo, Sergio, por haber sido un excelente compañero de estudios, compartir y apoyarme en tantos momentos a lo largo de estos casi tres años de amistad.

Dedicatoria

A mis padres

A Rogelio

A mi familia

Abreviaturas

μ_{\max}	Tasa máxima de crecimiento bacteriano
A/O	Anaeróbico/óxico
Ac	Acetato
AGV	Ácidos grasos volátiles
ASM1	Modelo de lodos activados No. 1
ASM2	Modelo de lodos activados No. 2
ASM2d	Modelo de lodos activados No. 2d
ASM3	Modelo de lodos activados No. 3
CIRA	Centro Interamericano de Recursos del Agua
DBO	Demanda biológica de oxígeno
DGGE	Electroforesis en gel con gradiente desnaturalizante
DQO	Demanda química de oxígeno
EBPR	Proceso de eliminación biológica mejorada de fósforo
FISH	Hibridación in situ con fluorescencia
GAO	Organismos acumuladores de glucógeno
GLY	Glucógeno
HCl	Ácido clorhídrico
IVL	Índice volumétrico de lodos
KH_2PO_4	Fosfato monobásico de potasio
N	Nitrógeno
NaOH	Hidróxido de sodio
NMX	Norma mexicana
OD	Oxígeno disuelto
OHO	Organismos heterotrófos ordinarios
OUR	Tasa de utilización de oxígeno
P	Fósforo
PAO	Organismos acumuladores de fósforo
PHA	Poli-hidroxiclcanoatos
PO_4^{3-}P	Ortofosfatos
PP	Poli-fosfatos

PTAR	Planta de tratamiento de aguas residuales
Px	Fósforo particulado
q_{\max}	Tasa máxima de consumo de acetato
RA	Reactor biológico secuencial No. A
RAS	Lodo activado de recirculación
RB	Reactor biológico secuencial No. B
RBS	Reactor biológico secuencial
RD	Reactor biológico secuencial No. D
r_{O_2}	Tasa de respirometría
SST	Sólidos suspendidos totales
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
TRC	Tiempo de retención celular
TRH	Tiempo de retención hidráulico
UCT	Universidad de Ciudad del Cabo
UTN	Unidad nefelométrica de turbidez
V	Volumen
VFA	Ácidos grasos volátiles
WAS	Lodo activado de desecho

Resumen

Uno de los aspectos más importantes dentro del tratamiento de aguas residuales, con el sistema de lodos activados, es mantener una buena sedimentación para poder lograr un proceso más eficiente. Para ello, en ocasiones, se utilizan selectores con los cuales se favorece el crecimiento de las bacterias formadoras de flóculos sobre las filamentosas, que causan esponjamiento o “bulking” del lodo.

En ese sentido, este trabajo de investigación buscó caracterizar un lodo operado con un selector no aireado. Esto con la finalidad de conocer a cuál modelo de lodos activados se ajustaba mejor y así lograr tener un mayor control del proceso y evitar problemas de sedimentación, los cuales ya se habían presentado en años anteriores. Además, aprovechando el uso de un selector, se planteó la posibilidad de estar trabajando con un cultivo enriquecido en bacterias acumuladoras de sustrato o fósforo. Siendo éstas últimas de gran importancia en la remoción biológica de nutrientes.

Para lograr el objetivo anterior, se realizaron corridas de degradación en batch utilizando el lodo de los dos RBS con los que se trabajó en el proyecto. En éstas corridas se midieron cinéticas de DQO, fósforo, nitrógeno y utilización de oxígeno. Con los resultados obtenidos se verificó que las bacterias predominantes en el lodo fueron del tipo acumuladoras de sustrato, ajustándose mejor al modelo de lodos activados No.3 (ASM3), y se optimizó la operación teniendo especial cuidado en alcanzar una concentración de oxígeno disuelto óptimo (alrededor de 2 mg/L) al inicio de la fase aerobia en los reactores.

Después se probó la hipótesis de que al aumentar la cantidad de fósforo presente en el agua residual, utilizada como alimento en los RBS, se puede favorecer el crecimiento de las bacterias acumuladoras de fósforo. Para ello, se montó otro reactor al que se le aumentó la concentración de fósforo en el alimento, pasando de 2 a 18 mg/L de P, y se estuvo monitoreando el comportamiento de los ortofosfatos en los ciclos de operación. Luego del monitoreo, se observó una remoción de fósforo importante pero no así el comportamiento metabólico típico para organismos de este tipo. Para descartar una remoción por precipitación química, debido al pH alto que se maneja en los reactores (>8.5), se montó un experimento controlando el pH a 7 utilizando el mismo lodo y la

misma alimentación enriquecida con fósforo. Con esta prueba se observó que al descender el valor de pH ya no hubo remoción significativa de fósforo. Por lo que la ruta metabólica más predominante en el cultivo del lodo fue la de los GAO.

Los resultados de toda la investigación lograron mantener estables los reactores biológicos y descartar que los problemas de sedimentación fueron por falta de nutrientes, si no por falta de oxígeno disuelto al momento de la degradación del sustrato. Además, dio las bases y conocimientos necesarios para desarrollar un proceso de remoción biológica de fósforo en futuros proyectos.

Abstract

One of the most important aspects in the wastewater treatment, with the activated sludge system, is maintaining a good sludge sedimentation to achieve a more efficient process. A selector, in which the growth of floc forming bacteria over the filament bacteria (which causes swelling or "bulking" in the sludge) is favored, may be used to achieve a good sedimentation.

The aim of this research was to characterize a sludge operated with an unaerated selector. The purpose was to identify the best suitable activated sludge model and to achieve a greater control over the process, avoiding sedimentation problems, which had already been presented in previous years. Moreover, by using a selector, the possibility of working with an enriched substrate or phosphorus accumulating bacteria culture was raised. These bacteria have great impact in biological nutrient removal from wastewaters.

Degradation runs were performed, in batch, using the sludge of two sequential biological reactors (SBR). In these runs, kinetics of COD, phosphorus, nitrogen and oxygen uptake rates were measured. The results showed that the predominant bacteria in the sludge were the substrate accumulating type (GAO), adjusting better to the activated sludge model No.3 (ASM3), and the operation was optimized by taking special care in achieving the optimal dissolved oxygen concentration (about 2 mg/L) at the beginning of the aerobic phase in the reactors.

Later on, the hypothesis that by increasing the amount of phosphorus in the wastewater for the SBR, would promote the growth of phosphorus accumulating bacteria, was tested. In order to do this, another reactor was mounted, in which the feeding phosphorus concentration was gradually increased from 2 to 18 mg-P/L, and the behavior of orthophosphates in the operation cycles was monitored. A significant phosphorus removal in the wastewater was observed, but not the typical metabolic behavior of phosphorus accumulating bacteria (PAO). To rule out the phosphorus removal due to chemical precipitation because of high pH in the reactors (> 8.5), an experiment with pH control (pH = 7) using the same sludge and the same phosphorus enriched feeding was mounted. This test showed that the lower pH value did not affect the phosphorus removal,

concluding that the metabolic pathway of GAO bacteria in the cultivated sludge was prevailing.

As the overall research results, the SBR remained stable and it was concluded that sedimentation problems were due to lack of dissolved oxygen during substrate degradation, not lack of nutrients. It also gave the foundation and necessary knowledge to develop a biological phosphorus removal process in future projects.

CONTENIDO

ÍNDICE GENERAL

Abreviaturas.....	iii
Resumen	v
Abstract	vii
INTRODUCCIÓN.....	16
CAPÍTULO 1 ANTECEDENTES	19
1.1. Sedimentabilidad de los lodos activados y selectores de microorganismos.....	20
1.2. El fósforo como nutriente y los PAO	25
1.3. Los GAO y su competencia con los PAO.....	27
1.4. Proceso de eliminación biológica mejorada de fósforo (EBPR).....	29
1.5. Ventajas de los procesos EBPR	30
1.6. Identificación de PAO y GAO.....	30
CAPÍTULO 2 JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	32
2.1. Justificación.....	33
2.2. Hipótesis.....	34
2.3. Objetivos	34
2.3.1. Objetivo general	34
2.3.2. Objetivos específicos.....	34
CAPÍTULO 3 METODOLOGÍA	35
3.1. Plan experimental.....	36
3.2. Cultivo y caracterización del lodo modelo	36
3.3. Caracterización metabólica de la fase no aireada y de la fase aireada	38
3.4. Cultivo en un reactor (D) con alimentación modificada	40
3.5. Caracterización de un ciclo del RBS-D	41
3.6. Control de pH del lodo cultivado en el RBS-D.....	41
3.7. Métodos de análisis	42

CAPÍTULO 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.1. Seguimiento de reactores RBS-A y RBS-B.....	44
4.1.1. Sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles	44
4.1.2. Demanda química de oxígeno	46
4.1.3. Índice volumétrico de lodos	48
4.1.4. Otros parámetros físico-químicos del efluente	48
4.2. Pruebas de seguimiento de los RBS A y B	50
4.2.1. Corrida 1 (Protocolo 5)	50
4.2.2. Corrida 2 (Protocolo 6)	54
4.2.3. Corrida 3 (Protocolo 7)	58
4.3. Seguimiento en los ciclos del RBS-D.....	62
4.3.1. Comportamiento del fósforo, semana tras semana.....	62
4.3.2. Comportamiento de la DQO en el RD.....	63
4.3.3. Comportamiento del fósforo en el RD.....	64
4.3.4. Comportamiento del nitrógeno en el RD	66
4.3.5. Comportamiento del pH en el RD	67
4.4. Seguimiento del reactor Applikon (control de pH a 7.0)	677
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	69
5.1. Conclusiones.....	70
5.2. Recomendaciones	711
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	722
ANEXOS.....	79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simple del tratamiento de aguas residuales por lodo activado.....	21
Figura 2. Ubicación del selector en el tren de tratamiento.....	22
Figura 3. Principales configuraciones de trenes de tratamiento con incorporación de fases anaerobia/anóxica. a) Proceso aerobio/anaerobio; b) Proceso aerobio/anaerobio con remoción de nitrógeno; c) Proceso UCT; d) Proceso BioDenipho; An: anaerobio, Anox: anóxico, Aer: aerobio.	24
Figura 4. Esquema del comportamiento metabólico de los PAO y ruta del fósforo en el tren de tratamiento.....	27
Figura 5. Esquema del comportamiento metabólico de los GAO y ruta del glucógeno en el tren de tratamiento.....	28
Figura 6. Plan experimental	36
Figura 7. Etapas del ciclo de operación en los reactores secuenciales (RBS).	38
Figura 8. Reactores utilizados en las corridas de degradación y respirometría.	39
Figura 9. Sólidos presentes en el licor mixto de RA y RB	45
Figura 10. Sólidos presentes en el efluente de RA y RB.....	46
Figura 11. DQO total del licor mixto en RA y RB.....	47
Figura 12. DQO soluble del licor mixto y DQO total del efluente en RA y RB.....	47
Figura 13. IVL de RA y RB.....	48
Figura 14. Comportamiento metabólico de DQO y P en la corrida 1.....	50
Figura 15. DQO soluble a través del tiempo	51
Figura 16. Ortofosfatos solubles a través del tiempo	52
Figura 17. Nitrógeno amoniacal y nitratos a través del tiempo	53
Figura 18. Tasa de consumo de oxígeno en R1, R2, R3 y R4	54
Figura 19. DQO soluble a través del tiempo	55
Figura 20. Ortofosfatos solubles a través del tiempo	56
Figura 21. Nitrógeno amoniacal y nitratos a través del tiempo.....	57
Figura 22. Tasa de consumo de oxígeno en el reactor R2.....	58
Figura 23. Comportamiento metabólico de DQO y P en la corrida 3.....	59
Figura 24. DQO soluble a través del tiempo	59
Figura 25. Ortofosfatos solubles a través del tiempo	60
Figura 26. Nitrógeno amoniacal y nitratos a través del tiempo.....	61
Figura 27. Tasa de consumo de oxígeno en R2.....	611

Figura 28. DQO soluble en un ciclo de RBS-D.....	64
Figura 29. Ortofosfatos solubles en un ciclo del RBS-D.....	65
Figura 30. Comportamiento metabólico de DQO y P en RD.....	65
Figura 31. Nitrógeno en un ciclo del RBS-D.....	66
Figura 32. Distribución del nitrógeno en un ciclo del RBS-D	666
Figura 33. pH en un ciclo del RBS-D	677

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros medidos en prueba de seguimiento de los RBS A y B.	38
Tabla 2. Métodos de análisis utilizados en la etapa experimental	420
Tabla 3. Parámetros medidos en fase estacionaria del licor mixto de los reactores RA y RB	442
Tabla 4. Parámetros medidos en fase estacionaria del efluente de los reactores RA y RB	44
Tabla 5. Temperatura y conductividad en el efluente de RA y RB.....	49
Tabla 6. pH y turbidez en el efluente de RA y RB	49
Tabla 7. Comportamiento del fósforo en el RBS-D	63
Tabla 8. Comportamiento del fósforo en el reactor Applikon	68
Tabla 9. DQO y sólidos del licor mixto en el reactor Applikon	688

INTRODUCCIÓN

El sistema de lodos activados es el más aplicado en el mundo para el tratamiento biológico de aguas residuales. La versatilidad y criterios de diseño bien definidos lo han convertido en el sistema de referencia para el tratamiento de agua residual municipal (Jiménez, 2001). En los procesos de lodos activados una suspensión de biomasa bacteriana es responsable de la eliminación de contaminantes. Este sistema puede tener diversas variantes de acuerdo al tipo de reactor y microorganismos que se cultive en el lodo. Dependiendo del diseño y de la aplicación específica de lodos activados en una PTAR, se puede alcanzar una remoción biológica de N y de P, además de la eliminación de sustancias orgánicas de carbono (Henze et al., 2008).

Los modelos dinámicos de lodos activados se iniciaron con el modelo ASM1. Este fue desarrollado, principalmente, para la modelación de plantas de tratamiento de agua residual, a fin de describir la eliminación de sustancias de carbón orgánico, nitrógeno como aceptor de electrones y la cantidad de oxígeno requerida por los microorganismos, para así dar una buena estimación de la producción de lodos. Dicho modelo se ha extendido para describir la remoción biológica de fósforo, dando lugar al modelo ASM2 (Henze et al., 1995), y al ASM2d (Henze et al., 2000). El ASM2d no se limita solamente a la degradación del carbono y el nitrógeno, si no que permite la introducción de los procesos de desnitrificación por parte de las bacterias acumuladoras de fósforo (Petersen et al., 2002), metabolismos de los organismos y rutas metabólicas dentro de éstos (Henze et al., 2008). La importancia del mecanismo de almacenamiento de sustrato ha sido reconocido cuando el modelo No. 3 (ASM3) de lodo activado fue propuesto con alternativa al modelo No. 1 (ASM1). También la utilización de organismos acumuladores de polifosfatos (PAO) ha ido en aumento en los últimos años para remoción de fósforo en agua residual y muchas investigaciones se han enfocado en este tipo de procesos.

En esta investigación se busca conocer la composición bacteriana que predomina en el lodo activado de un reactor tipo batch secuencial (RBS), basándose en el estudio del comportamiento metabólico del cultivo. Esto después de haber hecho modificaciones en la operación del reactor, luego de tener problemas de sedimentación en el año 2013. Por las condiciones de alimentación no aireada bajo las que se operan los reactores, se espera que el comportamiento sea el común para bacterias que acumulan sustratos en biopolímeros y /o acumuladoras de polifosfatos o glucógeno (PAO y GAO respectivamente). El cultivo en cuestión está siendo utilizado en una investigación del CIRA enfocada en reducir la generación de lodos en los procesos biológicos. Con los

datos obtenidos de la investigación se logró conocer a cuál modelo de lodos activados se ajusta mejor el cultivo y tener un mejor control del proceso.

Es posible conocer la composición del cultivo, con estudiar la cinética y estequiometría del mismo. Por ello, se hicieron análisis de muestras de las diversas etapas del ciclo de trabajo de los reactores y bajo diferentes modificaciones en sus parámetros. Con lo anterior, fue más fácil optimizar el funcionamiento del reactor para lograr tener una buena sedimentación del lodo y poder optimizar la operación de éstos.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

Los sistemas de tratamiento por lodos activados son utilizados de manera rutinaria para el tratamiento de aguas residuales municipales e industriales. Estos sistemas representan un componente de la industria biotecnológica más importante del mundo (Seviour y Blackall, 1999). Los antecedentes de estos procesos datan desde finales del siglo XIX (Metcalf y Eddy, 2003) y desde entonces se han empleado y mejorado continuamente de manera global. Se les denominó “lodos activados” por Arden y Lockett debido a que implicaba la producción de una masa activa de microorganismos capaces de estabilizar, en condiciones aerobias, la materia orgánica disuelta en el agua (Metcalf y Eddy, 2003).

En un principio, el objetivo primario del tratamiento de aguas residuales por lodos activados era la remoción de materia orgánica biodegradable, generalmente cuantificada como demanda química o biológica de oxígeno (DQO o DBO, respectivamente). Esta tendencia se mantuvo hasta finales de la década de los 1970s (Metcalf y Eddy, 2003). En años posteriores se observó que la sobrecarga de nitrógeno (N) y fósforo (P) en los cuerpos superficiales de agua causada por las descargas de aguas tratadas y no tratadas, generó problemas ambientales como la eutrofización (López-Vázquez, 2009).

Por ello, en años recientes, ha surgido la necesidad del tratamiento de las aguas residuales y eliminación de nutrientes como N y P utilizando sistemas modificados de lodos activados. Numerosas modificaciones se han realizado en estos sistemas a lo largo de los últimos años, con el objetivo principal de una efectiva y eficiente remoción de nutrientes (Metcalf y Eddy, 2003). Algo que diferencia el tipo de materia a remover en estos sistemas son los microorganismos que predominen en el cultivo del lodo. En este apartado se describirán los conceptos básicos y requerimientos del sistema de lodos activados, así como las bacterias acumuladoras de polifosfatos o glucógeno que se esperan encontrar durante la etapa experimental de esta investigación.

1.1. Sedimentabilidad de los lodos activados y selectores de microorganismos

Los sistemas de tratamiento por lodos activados convencionales constan, por lo menos, de dos etapas básicas y fundamentales: un tanque de aireación y un clarificador (sedimentador) secundario (López-Vázquez, 2009). En el primero, una mezcla de diversos cultivos de microorganismos que forman el lodo activado crece en suspensión en forma de flóculos. Por otro lado, en el sedimentador se requieren condiciones de reposo,

permitiendo la sedimentación y posterior remoción de los flóculos, produciendo un efluente con un bajo contenido de sólidos suspendidos (López-Vázquez, 2009). En la Figura 1, se muestra un esquema simple del sistema de tratamiento por lodos activados.

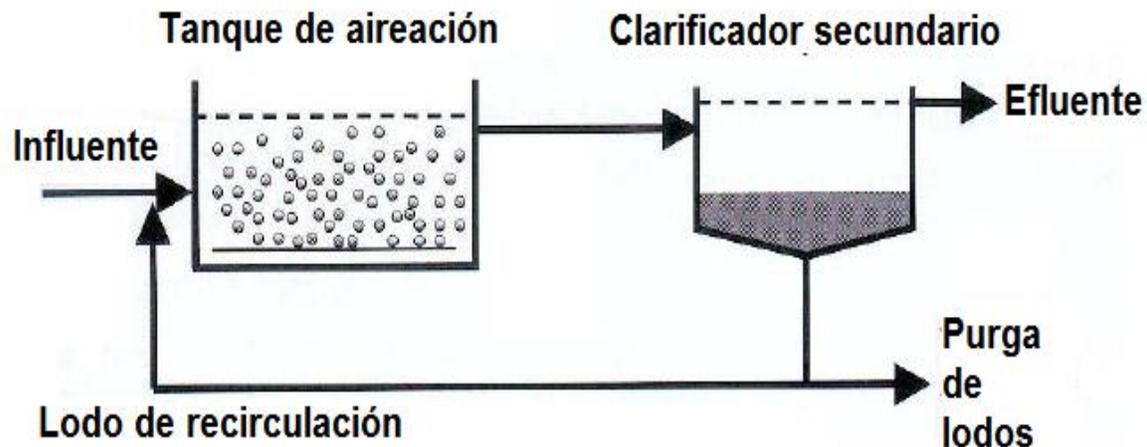


Figura 1. Esquema simple del tratamiento de aguas residuales por lodo activado (López-Vázquez, 2009).

Dentro del sistema de lodos activados, una de las características principales que se busca en la biomasa es una buena sedimentabilidad. La sedimentación del lodo es un aspecto de suma importancia en el tratamiento biológico de las aguas residuales. Uno de los principales problemas que se presentan en las plantas de tratamiento son precisamente en los clarificadores secundarios. El problema más común es el “bulking” (esponjamiento) de los lodos (Metcalf y Eddy, 2003). Este problema puede conducir a efluentes con un elevado contenido de sólidos suspendidos o un tratamiento deficiente.

En ocasiones se usa un selector para evitar el crecimiento de microorganismos que no sedimentan bien. Por lo general se ubican antes del tanque de aireación de los lodos activados (Metcalf y Eddy, 2003). Con ello se busca eliminar las bacterias filamentosas que generalmente provocan el “bulking”. El diseño de los selectores se basa principalmente en parámetros cinéticos de los microorganismos (Metcalf y Eddy, 2003). Un ejemplo básico de la configuración del tren de tratamiento se puede observar en la Figura 2.

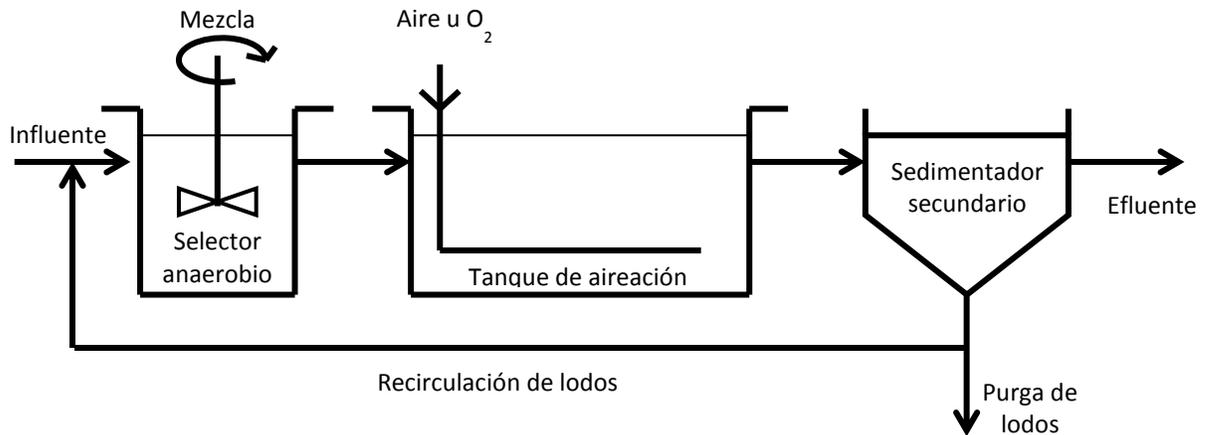


Figura 2. Ubicación del selector en el tren de tratamiento (Metcalf y Eddy, 2003).

Los selectores se caracterizan por una mezcla lenta y por una alta concentración de sustrato. En los sistemas de selector, los microorganismos son sometidos a períodos con y sin aireación. De igual manera, se les somete a entornos con alta concentración de sustrato y son capaces de acumular la materia orgánica como productos de almacenamiento interno en sus células (Martins et al., 2004). Lo anterior permite que las bacterias formadoras de flocs ganen la competencia contra los filamentosos.

Algunos otros sistemas de selector se basan en características metabólicas de la biomasa (Metcalf y Eddy, 2003). Estos incluyen dentro del tren de tratamiento una fase anaerobia y otra anóxica (ya sea de forma individual o la combinación de ambas), como mecanismo selector. El fundamento de este sistema es que las bacterias filamentosas no pueden utilizar nitrato o nitrito como aceptor de electrones, lo cual da ventaja significativa a las bacterias formadoras de flóculos sobre las filamentosas. Estas configuraciones se presentan en la Figura 3.

La configuración de un proceso convencional en el que se elimina solamente fosfato y sin nitrógeno, se muestra en la Figura 3a. Un reactor anaeróbico se coloca delante de un reactor aeróbico y el lodo de retorno se mezcla con el influente en la fase de reacción. Este proceso se llama el proceso de A/O, que significa anaeróbico / óxico, y se desarrolló en los años setenta en los Estados Unidos. Si la eliminación de nitrógeno tiene que ser incorporada en el proceso, se obtiene la configuración del proceso más simple cuando se coloca un reactor anóxico entre los reactores anaeróbico y aeróbico, ver Figura 3b. La

nitrificación tiene lugar en la fase aeróbica, y el nitrato producido durante esta fase, se devuelve al reactor de desnitrificación anóxica, donde se lleva a cabo. Una de las principales desventajas de esta configuración del proceso es la alta relación de recirculación entre el reactor aeróbico y anóxico que se requiere para mantener el contenido bajo de nitrato en el efluente. El nitrato todavía presente en el lodo de retorno hace perturbar la fase anaerobia, debido a que el consumo de DQO durante la desnitrificación interfiere con el consumo de DQO para la eliminación biológica de fósforo. La configuración que se encuentra en la Figura 3b se llama un proceso de A/O con remoción de nitrógeno y fue desarrollado por Barnard. Para eliminar el efecto de nitrato en la fase anaerobia, se añade el lodo de retorno al reactor anóxico y un adicional se introduce entre el reactor anóxico y anaeróbico. Este concepto fue desarrollado por primera vez por Ekama y fue llamado proceso de la Universidad de Ciudad del Cabo (UCT) (Figura 6c). El problema de la alta relación de recirculación requerido para la desnitrificación se evitó en el proceso bidenifho, véase la Figura 3d. Este proceso se basa en el mismo concepto como se representa en la Figura 3b, excepto que el reactor anóxico / aeróbico es alterno. Después de la nitrificación en la fase aeróbica, la aireación se detiene y todo el reactor se convierte en anóxico para la desnitrificación. La recirculación de grandes volúmenes de agua a través del proceso se evita de esta manera (Smolders, 1995).

Los selectores permiten establecer un control sobre el tipo de bacterias que crecen en un cultivo de lodos activados. Existen microorganismos que en condiciones no idóneas, en cuanto a requerimientos de oxígeno, para su crecimiento almacenan intracelularmente el sustrato presente en su medio, para su posterior utilización con las condiciones adecuadas para su crecimiento. Dentro de estos se encuentran los PAO y los GAO.

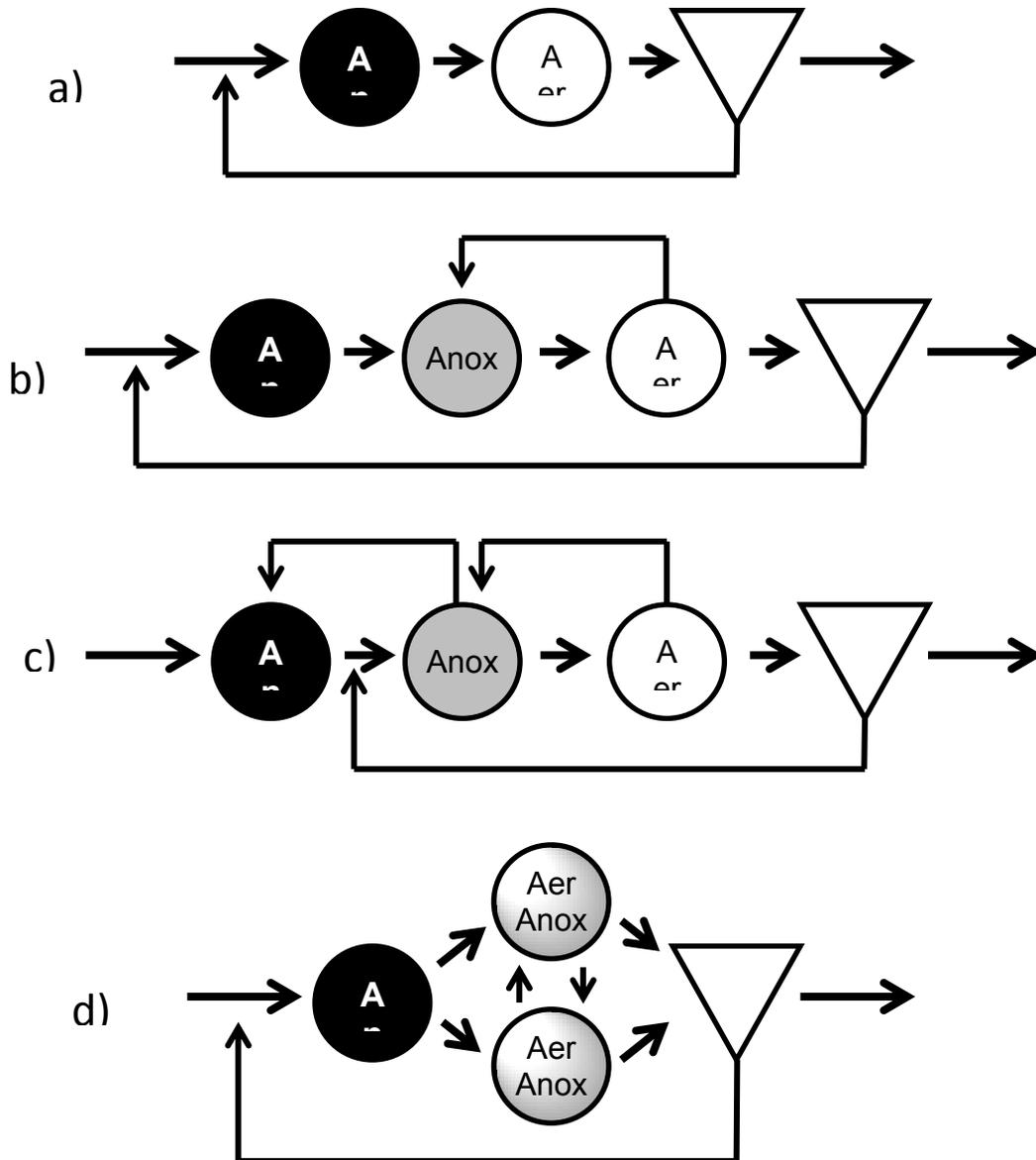


Figura 3. Principales configuraciones de trenes de tratamiento con incorporación de fases anaerobia/anóxica. a) Proceso aerobio/anaerobio; b) Proceso aerobio/anaerobio con remoción de nitrógeno; c) Proceso UCT; d) Proceso BioDenifro; An: anaerobio, Anox: anóxico, Aer: aerobio. Fuente: Smolders, 1995.

El reconocimiento de un mecanismo de almacenamiento de sustrato en la bacterias cobró una mayor importancia cuando, en 1998, se propuso el modelo No. 3 de lodo activado (ASM3) como alternativa al ASM1, creado en 1987 (Henze et al., 2000). El ASM1 considera que las bacterias crecen directamente consumiendo el sustrato mientras que el

ASM3 propone que, primero se almacena el sustrato como biopolímero y luego, éste es sintetizado como nueva biomasa (crecimiento diferido).

El almacenamiento de sustrato en polímeros puede ser acompañado o no con la capacidad de acumular otros tipos de compuestos, como el fósforo (en polifosfatos) o como el glucógeno. Estos mecanismos dieron lugar al reconocimiento de organismos heterótrofos acumuladores de fósforo (PAO) o de glucógeno (GAO) en los modelos ASM2 y ASM2d (Henze et al. 2000). Con utilizar selectores, los PAO y los GAO pueden estar presentes en una planta aun cuando el objetivo no es remover nutrientes. Éste mejoraría la sedimentabilidad.

1.2. El fósforo como nutriente y los PAO

En las aguas residuales se encuentra presente el fósforo en forma de polifosfatos, ortofosfatos y otras formas orgánicas. Este elemento es un nutriente utilizado por los microorganismos para el transporte de energía y síntesis celular. La presencia de fósforo en el agua para síntesis celular es imprescindible, contrario al nitrógeno que puede ser fijado desde la atmósfera por las cianobacterias sin requerir de amonio o nitrato disueltos (López-Vázquez, 2009). Sin embargo, el exceso de fósforo en las descargas de aguas residuales puede ser causante de daños ecológicos severos. La remoción de los fosfatos durante el tratamiento del agua residual es de suma importancia para proteger lagos y otros cuerpos de agua de la eutrofización (Fuhs y Chen, 1975).

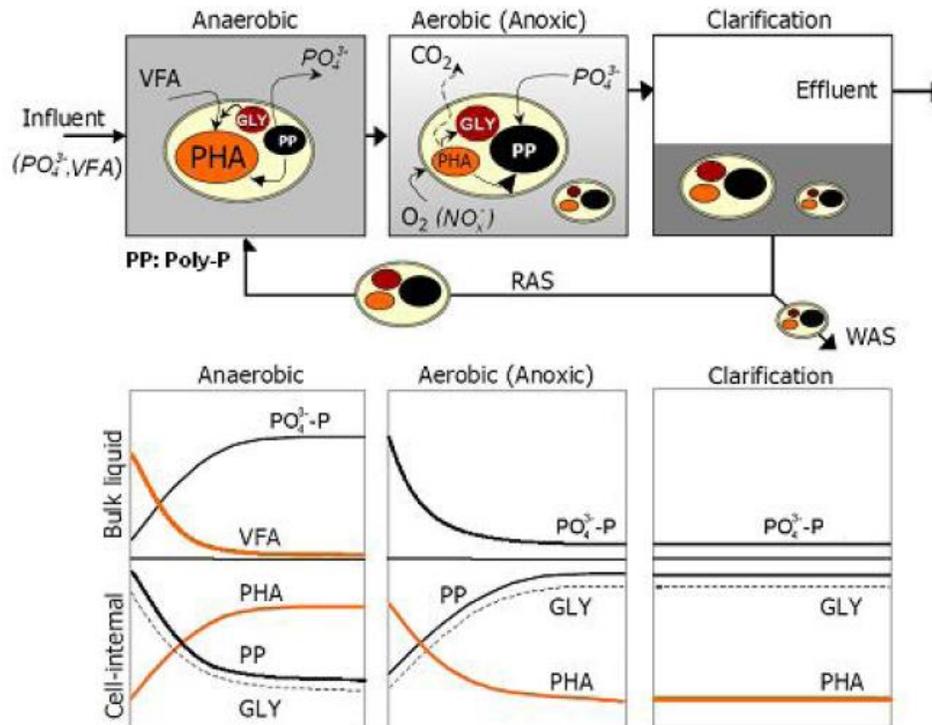
Para la remoción de este nutriente en las aguas residuales, se han empleado diversos métodos de los cuales la precipitación química y la remoción biológica son los más usados (Smolders, 1995). El crecimiento normal de los microorganismos permite eliminar entre el 10% y 30% de este nutriente durante el tratamiento biológico (Metcalf y Eddy, 2003), por simple asimilación, puesto que existe la necesidad de este nutriente para la síntesis de nuevas bacterias (Smolders, 1995). Por otro lado, algunos microorganismos, estando en condiciones aerobias o anóxicas, retienen una cantidad de fósforo más elevada de la que necesitan para su metabolismo, en influentes con una elevada concentración del nutriente. A este tipo de microorganismos se les denomina organismos acumuladores de polifosfatos (PAO por sus siglas en inglés).

Es posible enriquecer los sistemas de tratamiento con microorganismos PAO de una forma relativamente sencilla (Mino et al., 1998). La remoción biológica de fósforo se logra haciendo circular lodo activado hacia una etapa anaerobia seguida de una etapa anóxica/aerobia, y dirigiendo el influente rico en ácidos grasos volátiles (AGV) tales como acetato y propionato, hacia la etapa anaerobia (López-Vázquez, 2009) (ver Figuras 2 y 3).

Los PAO pueden crecer en condiciones aerobias o anóxicas. Para ello, oxidan sustratos orgánicos (generalmente AGV como acetato y propionato) y los almacenan en el interior celular en forma de poli-hidroxialcanoatos (PHA), tales como poli-b-hidroxibutirato y poli-b-hidroxivalerato, dependiendo del sustrato oxidado. Como se observa en la Figura 4, esta oxidación requiere de un consumo de fosfatos solubles como fuente energética, que son acumulados en el interior de la célula en forma de polifosfatos (Mino et al., 1998). En condiciones anaerobias (ausencia de oxígeno y nitratos), estos organismos pueden hidrolizar los polifosfatos acumulados para incrementar el almacenamiento de sustrato orgánico en forma de PHA (López-Vázquez, 2009). Como resultado de la hidrólisis de los polifosfatos, se liberan ortofosfatos ($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$) al medio, bajo condiciones anaerobias. El metabolismo de los PAO está resumido en la Figura 4.

Al final del proceso, el lodo contiene una gran cantidad de polifosfatos acumulados en su interior. La remoción global de fósforo del agua residual se obtiene en la purga del lodo, al final de la etapa aerobia.

La ventaja del proceso de eliminación biológica del fósforo por lodo activado es que permite bajar la concentración del nutriente en el efluente del tratamiento a un nivel mínimo, sin incrementar los costos. Sin embargo, existe la desventaja de que el proceso es complejo de entender (Smolders, 1995); además de que el proceso es reversible, pudiéndose llegar a la liberación del fósforo nuevamente al medio. Otra desventaja es la presencia y competencia por sustrato de otro tipo de microorganismos, llamados organismos acumuladores de glucógeno (GAO, por sus siglas en inglés).



VFA (Ácidos grasos volátiles); GLY (Glucógeno); PHA (Poli-hidroxialcanoatos); PP (Poli-fosfatos); RAS (Lodo activado de recirculación); WAS (Lodo activado de desecho)

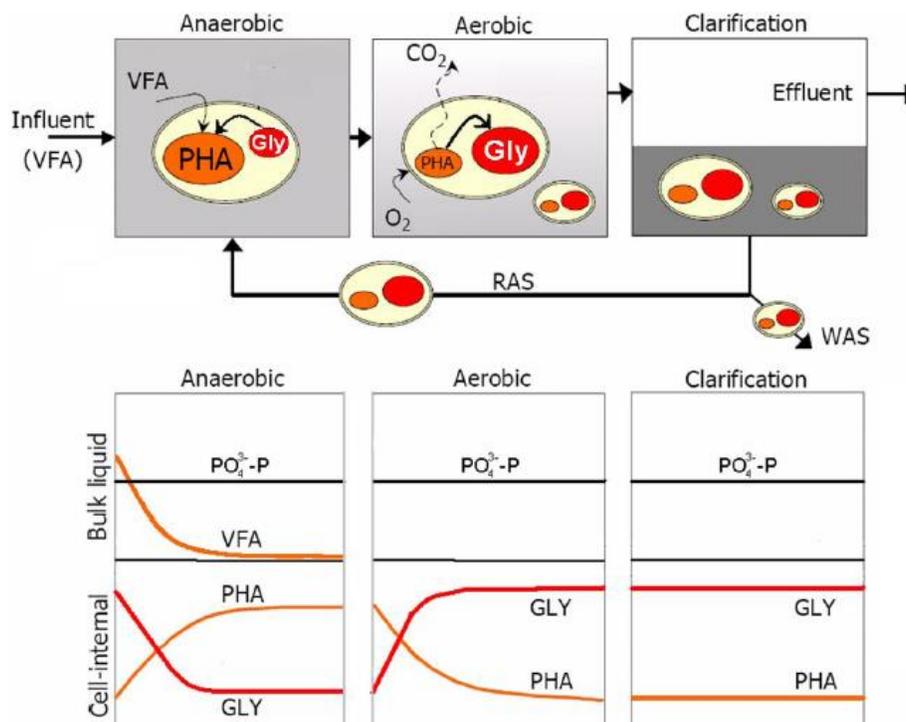
Figura 4. Esquema del comportamiento metabólico de los PAO y ruta del fósforo en el tren de tratamiento. Fuente: López-Vázquez, 2009.

1.3. Los GAO y su competencia con los PAO

Los GAO también almacenan AGV en forma de PHA bajo condiciones anaerobias (López-Vázquez et al., 2006), siendo el acetato y el propionato las principales especies de AGV presentes en los influentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Oehmen et al., 2005a). Sin embargo, los GAO no almacenan polifosfatos. El glucógeno almacenado intracelularmente es utilizado como fuente de carbono y energía, consumen AGV pero no liberan polifosfatos en la fase anaerobia, ni los consumen durante la fase aerobia como lo hacen los PAO (Mino et al., 1998; Filipe et al., 2001; Zeng et al., 2002 y 2003; Oehmen et al., 2006).

Los GAO son microorganismos indeseables en el tratamiento biológico para la remoción de fósforo ya que no contribuyen a la remoción biológica del nutriente (López-Vázquez et al., 2006). Ambos microorganismos (PAO y GAO) tienen tasas de consumo de sustrato

similares por los AGV lo que los hace competir por dichos compuestos. Estudios recientes sugieren que los PAO tienen una ventaja sobre los GAO cuando se les provee propionato como fuente de carbono y no el acetato como indican la mayoría de los estudios en esta área de investigación (Oehmen et al., 2005a). Cuando no se trata de remover fósforo, la presencia de los GAO es útil para mejorar la sedimentabilidad del lodo. El metabolismo de los GAO se resume en la Figura 5. En ella se observa que, al igual que los PAO, los GAO son capaces de almacenar AGV como PHA en condiciones anaeróbicas. Pero, como no almacenan polifosfatos, el glucógeno intracelular se utiliza como fuente de energía y carbono para la captación de AGV sin tener la típica liberación de fósforo en la etapa anaeróbica y su posterior captación en la fase aerobia, tal como lo hacen los PAO (Mino et al., 1998; Filipe et al., 2001; Zeng et al., 2002, 2003a; Oehmen et al., 2006) En la fase aeróbica, los GAO utilizan los PHA almacenados previamente para: i) la reposición del glucógeno, ii) crecimiento de la biomasa y iii) cubrir los requisitos de mantenimiento (Zeng et al., 2003; Oehmen et al., 2006).



VFA (Ácidos grasos volátiles); GLY (Glucógeno); PHA (Poli-hidroxialcanoatos); PP (Poli-fosfatos); RAS (Lodo activado de recirculación); WAS (Lodo activado de desecho)

Figura 5. Esquema del comportamiento metabólico de los GAO y ruta del glucógeno en el tren de tratamiento. Fuente: López-Vázquez, 2009.

1.4. Proceso de eliminación biológica mejorada de fósforo (EBPR)

El proceso de eliminación biológica mejorada de fósforo (EBPR por sus siglas en inglés) ha sido implementado en varias plantas de tratamiento de aguas residuales (PTAR) en el mundo (van Loosdrecht et al., 1997; Mino et al., 1998; Oehmen et al., 2007). Aun cuando la intención no es forzosamente remover fósforo, se busca desarrollar este tipo de microorganismos (tanto PAO como GAO) en los selectores para lograr una buena sedimentación en las plantas de tratamiento.

A pesar de que la configuración del proceso EBPR crea un ambiente adecuado para el desarrollo y crecimiento de los PAO, diferentes reportes indican la presencia de GAO, haciendo que se deteriore y fracasen los sistemas EBPR en laboratorio y gran escala (Cech y Hartman, 1993; Satoh et al., 1994; Filipe et al., 2001; Oehmen et al., 2007). Esto debido a que para la perspectiva de los procesos EBPR, la presencia de estos microorganismos es considerada perjudicial ya que no contribuyen al proceso de eliminación de fósforo, pero compiten por el sustrato con los PAO (Satoh et al., 1994; Filipe et al., 2001; Saunders et al., 2003; Thomas et al., 2003).

Estudios microbiológicos identifican a los PAO y a los GAO como microorganismos con metabolismos muy cercanos, pero diferentes. Dada esta observación, se hipotetizó que el metabolismo acumulador de glucógeno era el proceso más dominante en los cultivos de PAO bajo ciertas condiciones operacionales (Schuler y Jenkins, 2003).

Muchos de los reportes sobre el deterioro de los procesos EBPR y la presencia de los GAO en PTAR a gran escala se han realizado en regiones donde la temperatura ambiente media anual se encuentra alrededor de los 25 °C (López-Vázquez et al., 2006). Algunos estudios concuerdan en que a mayor temperatura (>20 °C), la remoción biológica de fósforo se ve afectada y el crecimiento de los GAO se ve favorecido, convirtiéndolos en la especie mayoritaria (López-Vázquez et al., 2006). Sin embargo, estos estudios no han sido realizados en cultivos enriquecidos de PAO y GAO, lo que provoca que el efecto de la temperatura sobre el metabolismo de dichos microorganismos no sea claro. Por otro lado, hay consenso de que, en presencia de bajas concentraciones de fósforo en los influentes, los GAO se desarrollan más que los PAO.

1.5. Ventajas de los procesos EBPR

Cuando se le opera eficazmente, el proceso EBPR para remoción de fósforo es relativamente económico y representa una opción sustentable para la remoción del nutriente (Ohemen et al., 2007). Algunas ventajas del uso de estos sistemas son:

- a) Alta eficiencia de remoción (concentraciones de fósforo en el efluente menores a 1 mg/L)
- b) No hay incremento en la producción de lodo activado residual
- c) Es económico
- d) Es amigable con el ambiente
- e) Se puede recuperar el fósforo con la implementación de procesos alternos.

1.6. Identificación de PAO y GAO

Una técnica rápida para la identificación de bacterias se basa en su metabolismo y consumo de sustrato. Esto se logra por medio de la técnica de respirometría. La respirometría es la medición e interpretación de la tasa de consumo biológico de oxígeno bajo condiciones experimentales bien definidas (Copp et al., 2002). Dado que el consumo de oxígeno está directamente asociado a ambos, el crecimiento de la biomasa y la remoción de sustrato, la respirometría se ha consolidado como una técnica muy útil para obtener información de la actividad específica de cierto grupo de bacterias que forman parte de un lodo activado. Puede además generar información sobre como la biomasa interactúa con los componentes del agua residual (Copp et al., 2002).

Relacionando el consumo de sustrato por medio de respirometría con el análisis de fósforo liberado en el medio, así como el consumo del mismo, se puede determinar la presencia de microorganismos de tipo PAO. Sin embargo, esta técnica únicamente determina la presencia o ausencia de este tipo de microorganismos, más no el género específico de las bacterias.

Si se requiere la identificación específica de los PAO, se puede lograr por medio de técnicas de biología molecular tales como la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH, por sus siglas en inglés) o por electroforesis en gel con gradiente desnaturizante (DGGE, por sus siglas en inglés) (Seviour et al., 2003). Los PAO son microorganismos difíciles de aislar e identificar (Mino et al., 1998; Oehmen et al., 2007). Sin embargo,

usando FISH, se han logrado identificar especies tales como *Acinetobacter* (Wagner et al., 1994), *Betaproteobacteria* (Bond et al., 1999) o los *Accumulibacter*, que muestran el fenotipo característico de los PAO (Hesselman et al., 1999; Crocetti et al., 2000). El grupo de los *Accumulibacter* aparenta ser el único grupo PAO conocido hasta ahora (Oehmen et al., 2007).

Por otro lado, el fenotipo de los GAO muestra la acumulación de glucógeno bajo condiciones aerobias y el consumo de éste como fuente de carbono y energía bajo condiciones anaerobias para el almacenamiento de PHA (Mino et al., 1998; Oehmen et al., 2007). Al igual que los PAO, los GAO muestran una dificultad para su aislamiento e identificación. Sin embargo, por medio de las mismas técnicas (FISH, DGGE) se han identificado microorganismos *Grammaproteobacteria*, los cuales muestran el clásico fenotipo de los GAO (Nielsen et al., 1999; Crocetti et al., 2002).

CAPÍTULO 2

JUSTIFICACIÓN,

HIPÓTESIS Y

OBJETIVOS

2.1. Justificación

La remoción de fósforo del agua residual tiene gran interés a nivel mundial debido a la eutrofización que causa este nutriente presente en el agua residual tratada descargada en los cuerpos de agua. Estas descargas ponen en riesgo la vida de los ecosistemas acuáticos por lo que la normatividad a nivel mundial exige la remoción de este elemento. Aunque en México esto último aún no ocurre, las tendencias globales indican que en un futuro las normas tendrán que modificarse y ser más exigentes en este ámbito. Pese a que hoy en día existen conocimientos muy avanzados en materia de remoción biológica del fósforo (método más utilizado), el tema aún requiere investigación en varios de sus aspectos, sobre todo un mejor conocimiento de las variantes microbianas involucradas y sus comportamientos particulares en diversos ambientes.

Es más, dentro del estudio del proceso de lodo activado, un factor muy importante, y que además es un problema real en las plantas de tratamiento de aguas residuales, es la composición apropiada del lodo para tener una buena sedimentabilidad. Aparentemente las bacterias de tipo acumuladoras se aprovechan también en los reactores selectores, que se suelen usar para mejorar la decantabilidad, por lo que el estudio de estas bacterias mejoraría conocimiento en sedimentabilidad de lodos biológicos. En este sentido, el lodo modelo con el que se trabajó en esta investigación presentó este problema y luego de hacerle algunas modificaciones se logró una buena sedimentación. Sin embargo, al no conocer la composición y comportamiento bacteriano con claridad, no es posible operar el reactor de la mejor manera. Por lo anterior, resulta sobresaliente estudiar el metabolismo de este cultivo, así como sus características cinéticas y estequiométricas para poder optimizar el ciclo con el que trabaja el reactor. Analizando el comportamiento metabólico es posible determinar el tipo de bacterias presentes en el cultivo y lograr un mayor control del proceso. En lo particular esta investigación ayudó a resolver los problemas de sedimentación que se tuvieron en el lodo modelo de estudio. Teniendo en cuenta que se piensa que la mayor composición de los cultivos en este lodo corresponde a organismos acumuladores de polifosfatos o glucógeno, se tendrán las bases para aplicar este tipo de lodo en la remoción de fósforo.

2.2. Hipótesis

El lodo modelo estudiado alimentado en condiciones no aireadas y con alta concentración de sustrato es un cultivo enriquecido de bacterias acumuladoras (PAO y/o GAO).

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general

Caracterizar el metabolismo y determinar los parámetros cinéticos y estequiométricos principales de un cultivo de bacterias acumuladoras de sustratos (DQO y/o polifosfatos) durante sus fases aireadas y no aireadas.

2.3.2. Objetivos específicos

- Optimizar el ciclo del reactor biológico secuencial con base en la cinética del consumo de acetato.
- Conocer las características generales del lodo modelo.
- Caracterizar el metabolismo típico del cultivo de bacterias, durante su fase no aireada mediante el análisis del consumo de sustrato y liberación de fósforo.
- Caracterizar el metabolismo típico del cultivo de bacterias, durante su fase aireada mediante el análisis de la remoción de fósforo.
- Identificar si existe limitación de nitrógeno en el proceso a causa de la nitrificación en el lodo activado.
- Obtener el cociente estequiométrico de fosfatos liberados por acetato consumido (P/Ac) durante la fase no aireada.
- Obtener la tasa máxima de consumo de acetato (q_{max}) en la fase no aireada y la tasa de utilización de oxígeno (OUR).
- Evaluar la remoción de fósforo, controlando el pH en una corrida del reactor biológico.

CAPÍTULO 3

METODOLOGÍA

3.1. Plan experimental

En la Figura 6 se muestra un resumen del plan experimental llevado a cabo en este trabajo.

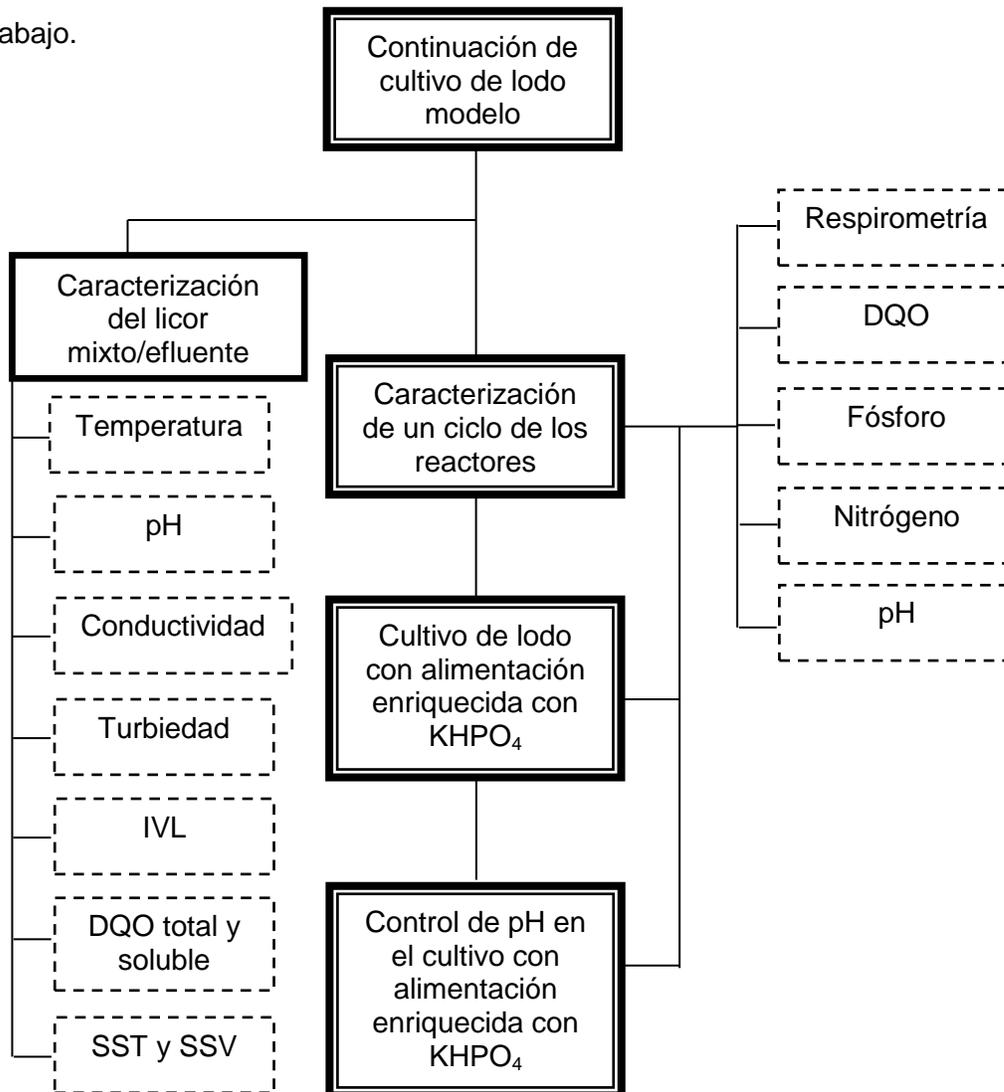


Figura 6. Plan experimental

3.2. Cultivo y caracterización del lodo modelo

Se continuó con el cultivo de lodo modelo en dos reactores batch secuenciales, A y B, operados en duplicado y tal como se describe a continuación.

Se trabajó con dos reactores tipo batch secuencial (RBS) con un volumen $V = 30$ L, tiempo de retención celular TRC = 15 días, tiempo de retención hidráulico TRH = 1.5 días

como es mostrado en la Figura 7, el ciclo de operación comenzó realizando una purga de 2 L de licor mixto (con una duración de 15 minutos o manualmente). Posteriormente comenzó la fase de sedimentación de 1 hora para luego continuar con la fase de extracción de sobrenadante, la cual tuvo una duración de 5 minutos y en ésta se dejaron 10 L de biomasa sedimentada en el reactor (estos últimos representaron el lodo recirculado en un proceso de lodo activado en continuo).

La etapa siguiente fue la fase de alimentación, y para ello se preparó agua residual sintética concentrada (con una DQO alrededor de 5000 mg/L). Se alimentaron 2 L de esta agua al reactor comenzando una fase no aireada, donde se hizo una mezcla lenta por una hora. Esta última etapa fue para provocar un efecto selector que favorezca el desarrollo de bacterias acumuladoras y con ello lograr tener una buena sedimentación en el reactor. Al término de la fase no aireada se agregaron 18 L de agua de la llave al reactor para alcanzar su volumen total y se inició con la fase aerobia por el resto del día. La concentración resultante del agua residual en el reactor se muestra en el Anexo 1. La concentración equivalente de sustrato inicial en el reactor fue 333 mg/L DQO soluble (acetato), basado en el volumen de 30 L del reactor.

Para caracterizar el lodo modelo, se hicieron cada semana análisis de DQO, sólidos suspendidos volátiles (SSV), sólidos suspendidos totales (SST), IVL (índice volumétrico de lodos), en el licor mixto; y análisis de DQO, pH, temperatura, conductividad y turbiedad en el efluente.

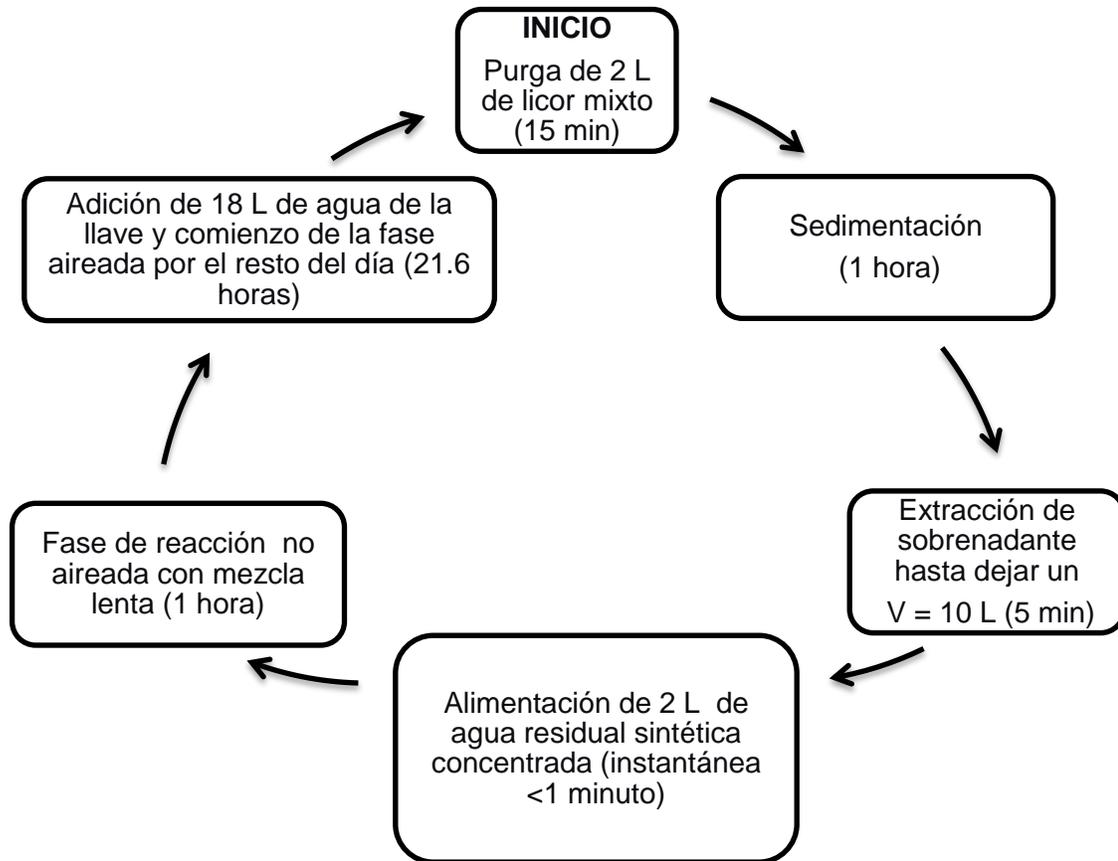


Figura 7. Etapas del ciclo de operación en los reactores secuenciales (RBS).

3.3. Caracterización metabólica de la fase no aireada y de la fase aireada

Se realizaron tres corridas de degradación en batch partiendo de las purgas de los reactores A y B. El material purgado fue mantenido en aireación mientras inician las pruebas sobre ellas. En estas corridas se simuló la operación que se realiza en los reactores A y B, por lo que se calcularon las cantidades a utilizar de agua residual y agua de relleno, de tal manera que se tuvieran las mismas proporciones empleadas en los reactores. Los protocolos de las corridas están ilustrados en los Anexos 2, 3 y 4. De los 4 L de purga se muestrearon aproximadamente 50 mL. De esta muestra se filtró una parte y se midió DQO soluble, ortofosfatos, nitratos y nitrógeno amoniacal. Al resto de la muestra se le midió DQO total y fósforo total.

El licor mixto restante se concentró por sedimentación hasta un volumen de 1260 mL para iniciar un ciclo de degradación en batch, en cuatro pequeños reactores, los cuales se observan en la Figura 8; igual como se realiza en los RBS de cultivo, este primer paso

representó la etapa de sedimentación en los reactores A y B. Se colocaron 180 mL del lodo concentrado en R1, R3 y R4 y 210 mL en R2 simulando la etapa de extracción de sobrenadante. A los cuatro reactores se les añadieron la proporción de agua residual sintética concentrada correspondiente (DQO de 5000 mg/L en el concentrado) para comenzar la fase de alimentación. Para R1, R3 y R4 se siguió la corrida sin muestrear en ningún momento, sólo se midió la tasa de respirometría (rO_2). En R2 se colocó más volumen para poder hacer el muestreo, además de medir el rO_2 .



Figura 8. Reactores utilizados en las corridas de degradación y respirometría.

Al colocar el agua residual se dio comienzo a la fase anaerobia, la cual tuvo una duración de una hora y media en total. Se tomaron varias muestras y realizaron diferentes análisis según el protocolo seguido en cada corrida, los cuales se muestran en los Anexos 2, 3 y 4. Al terminar la fase anaerobia se añadieron 510 mL de agua de la llave a R2 y 470 mL a R1, R3 y R4 para diluir la concentración, tener el volumen total de operación y así dar comienzo a la etapa aerobia y se muestreó hasta un tiempo total de 24 horas. En la Tabla 1 se listan los parámetros medidos durante la prueba.

Tabla 1. Parámetros medidos en prueba de seguimiento de los RBS A y B.

Muestra total	Muestra filtrada (0.1 μm , soluble)
DQO (mg/L)	DQO (mg/L)
Fósforo total (mg/L)	Ortofosfatos (mg/L)
Tasa de consumo de oxígeno (mg/L-h)	Nitratos (mg/L)
pH	Nitrógeno amoniacal (mg/L)

Las tres corridas que se hicieron fueron muy similares. Se midieron casi los mismos parámetros pero con diferentes frecuencias, según se consideró conveniente. En la primera corrida (Protocolo 5, Anexo 2) no se midió pH. En la segunda corrida (Protocolo 6, Anexo 3) la alimentación se hizo en fase aireada solamente.

3.4. Cultivo en un reactor (D) con alimentación modificada

Se montó otro RBS (No. D) a partir de seis litros de licor mixto de los reactores A y B con el objetivo de incrementar la cantidad de fósforo alimentado, pasando de 2.8 mg/L a 18 mg/L. Esto último con la finalidad de favorecer el crecimiento de bacterias PAO sobre GAO, teniendo el fósforo suficiente para que lo puedan acumular. Para lo anterior se preparó una solución extra de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) al 5.44%, del cual se suministraban 5 mL en el reactor al momento de alimentarlo con la solución de agua sintética. La composición total del agua residual enriquecida con fósforo se encuentra en el Anexo 5.

La operación de este reactor (RD) es la siguiente. Se purgaron 400 mL de licor mixto, se detuvo la aireación y se sedimentó una hora. Posteriormente se retiró el sobrenadante (3.6 L). Se agregaron aproximadamente 3 L de agua de la llave, después 400 mL de agua residual sintética de la misma composición con la que se alimentaron los reactores A y B, 5 mL de KH_2PO_4 al 5.44% y se aforó hasta alcanzar un volumen total de seis litros. A partir de este momento comenzó una fase no aireada con una mezcla suave. Al terminar esta última se inició la aireación hasta cuando se volvió a purgar, al siguiente día. La secuencia de operación era similar a la operación de RA y RB, excepto que se alimentó más fósforo.

A este reactor RD se le hicieron pruebas semanalmente, de ortofosfatos al inicio y final de la fase anaerobia, aproximadamente 3.5 horas después de iniciada la aireación y en el efluente. La finalidad era detectar si existe liberación y posterior remoción de fósforo. Adicionalmente, se le hizo un seguimiento de DQO total y soluble, SST y SSV, temperatura, DQO total, pH, conductividad y turbiedad en el efluente, también semanalmente.

3.5. Caracterización de un ciclo del RBS-D

Además del seguimiento de rutina (medición de P al inicio y al final del día) se realizó una corrida cinética en el reactor D, similar a las que se hicieron en los RBS A y B, durante todo un ciclo de operación. En ésta se estuvo muestreando, durante la operación del reactor, a partir de la fase de alimentación hasta culminar las 24 horas. Se midieron DQO total, DQO soluble, fósforo total, ortofosfatos solubles, nitratos, nitrógeno amoniacal y pH. La frecuencia de muestreo y los parámetros medidos en cada uno se encuentran en el Anexo 6.

3.6. Control de pH del lodo cultivado en el RBS-D

La última fase de la etapa experimental fue controlar el pH a 7.0. Se tomaron dos litros del RBS-D y se comenzó en control en un bioreactor de la compañía Applikon Biotechnology. La operación de este reactor fue la misma que se siguió para el RBS-D. Para controlar el pH se utilizaron soluciones de HCl 1M y NaOH 1M. El objetivo de la corrida era detectar si el pH de más de 8.5 del RBS-D jugaba un papel en la remoción del fósforo (por precipitación).

Al igual que en el RBS-D, se hicieron pruebas de ortofosfatos solubles al inicio y final de la fase no aireada, después de 3.5 h de aireación y en el efluente. Esto último cada dos semanas, aproximadamente. Además, se realizaron mediciones de DQO total y soluble, así como SST y SSV.

3.7. Métodos de análisis

Los métodos utilizados en los análisis realizados en la etapa experimental se muestran en la Tabla 2. Todos fueron conforme a los métodos estándar internacionales (APHA, 2005) y/o a normas mexicanas (NMX).

Tabla 2. Métodos de análisis utilizados en la etapa experimental

Análisis	Método utilizado
pH	NMX-AA-008-SCFI-2000
Turbiedad	NMX-AA-038-SCFI-2001
Conductividad	NMX-AA-093-2000
Temperatura	NMX-AA-007-SCFI-2013
IVL	Standard method 2710D
SST y SSV	Standard method 2540
DQO total	Método 8000 de Hach
DQO soluble (0.45 µm para seguimientos semanales)	Método 8000 de Hach
DQO soluble (0.1 µm para corridas)	Método 8000 de Hach
Nitrógeno amoniacal (0.1 µm)	Método 10031 de Hach
Nitratos (0.1 µm)	Método 10210 de Hach, TNTplus 835
Fósforo total	Método 10210 de Hach, TNTplus 845
Ortofosfatos solubles (0.1 µm)	Método 10210 de Hach, TNTplus 845 y TNTplus 843

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y

DISCUSIÓN

En esta sección, se exponen los resultados obtenidos de las actividades que se desarrollaron en la etapa experimental.

4.1. Seguimiento de reactores RBS-A y RBS-B

El primer punto en el que se trabajó fue en la operación de los reactores A y B para continuar su funcionamiento adecuado y monitorear parámetros como DQO, sólidos suspendidos volátiles (SSV), sólidos suspendidos totales (SST), IVL, pH, conductividad y turbidez. Los valores promedios reportados toman en cuenta las mediciones de junio de 2014 a abril de 2015. Las concentraciones promedio alcanzadas en fase estacionaria son resumidas en las tablas 3 y 4. Todos los datos obtenidos de los análisis se encuentran en el Anexo 8.

Tabla 3. Parámetros medidos en fase estacionaria del licor mixto de los reactores RA y RB

	SST mg/L	SSV mg/L	DQO total mg/L	DQO soluble mg/L	IVL mL/g
Promedio	1291	1100	1634	22	55
Desviación Estándar	182.9	154	343	12	18

Tabla 4. Parámetros medidos en fase estacionaria del efluente de los reactores RA y RB

	DQO total mg/L	Temperatura °C	pH	Turbidez UTN	Conductividad µS/cm	SST mg/L	SSV mg/L
Promedio	35	21	8.94	1.85	1331	50	24.5
Desviación Estándar	11	1.2	0.27	0.65	50	14	7.12

4.1.1. Sólidos suspendidos totales y sólidos suspendidos volátiles

Como es mostrado en las tablas 3 y 4, los reactores alcanzaron un régimen casi estacionario (desde septiembre de 2014) con promedios de 1291 ± 183 mg/L de SST y 1100 ± 154 mg/L de SSV. Los valores promedios en el efluente fueron de 50 ± 14 mg/L de SST y 24.5 ± 7.12 mg/L de SSV.

La Figura 9 muestra los promedios mensuales de SST y SSV en los reactores RA y RB, respectivamente. En el RA, los SST oscilaron entre 1060 y 1458 mg/L con desviaciones estándar que van de 46 a 319 mg/L por mes; mientras que para el RB, variaron entre 1080 y 1840 mg/L con desviaciones estándar de 60 a 162 mg/L. En cuanto a SSV, en el RA se tuvieron valores de 913 a 1275 mg/L, teniendo desviaciones estándar de 34 a 304 mg/L. Para el RB, los SSV variaron de 900 a 1540 mg/L con desviación estándar entre 29 y 185 mg/L.

En los meses en donde se aprecia menor variación entre los valores en RA y RB son en los primeros del 2015, ya que en éstos se estuvo mezclando la biomasa de ambos reactores cada semana. A lo largo de todo el seguimiento se tuvo un coeficiente de variabilidad menor al 20% y a partir de enero éste fue menor del 10%, lo que indica una estabilidad en el sistema.

La relación SSV/SST en ambos reactores se mantuvo arriba de 0.80. El valor típico de esta relación para un tratamiento biológico es de un 0.70 de biomasa viable (Vielma, 1993), la cual es entendida como la cantidad de biomasa presente en el reactor referida al contenido celular. En esta investigación, la relaciones alcanzadas sugieren una aceptable retención de biomasa dentro del reactor y una aceptable sedimentación de la biomasa que garantiza un desempeño eficiente de los reactores utilizados en esta investigación

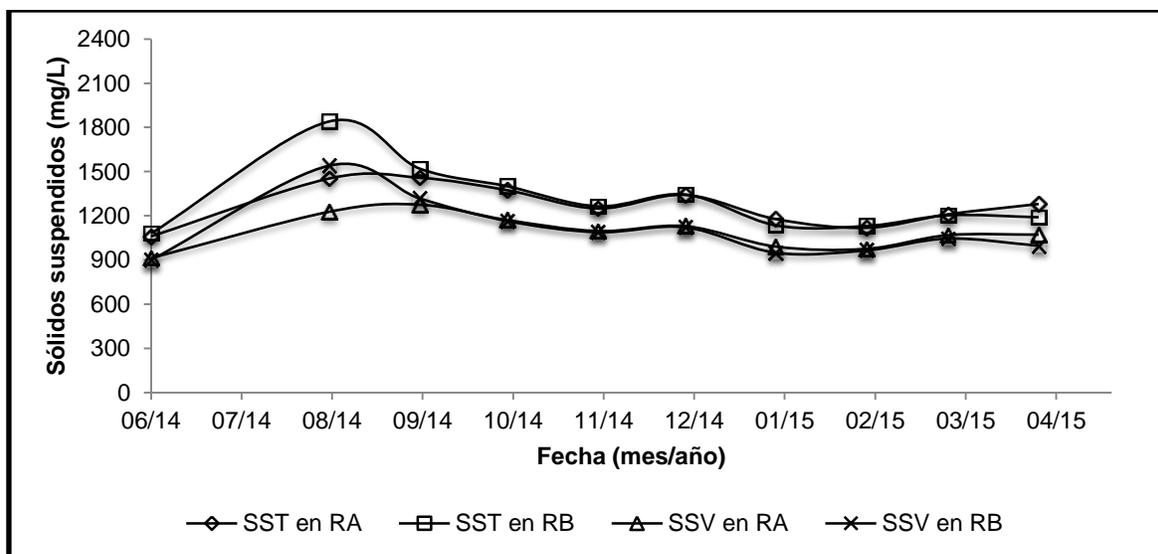


Figura 9. Sólidos presentes en el licor mixto de RA y RB

Los sólidos de los efluentes de cada reactor se pueden observar en la Figura 10. En RA se tuvieron promedios de SST de 40 a 79 mg/L con desviación de 5 a 46 mg/L y los SSV variaron entre 16 y 36 mg/L con desviación estándar de 7 a 26 mg/L. En el reactor RB, los SST oscilaron entre 34 y 66 mg/L con desviaciones estándar entre 3 y 34 mg/L, mientras que los SSV fueron de 14 a 31 mg/L con desviación de 5 a 28 mg/L. Se aprecia que a partir de enero se tuvo una mejor calidad en el efluente, al disminuir la cantidad de sólidos suspendidos presentes.

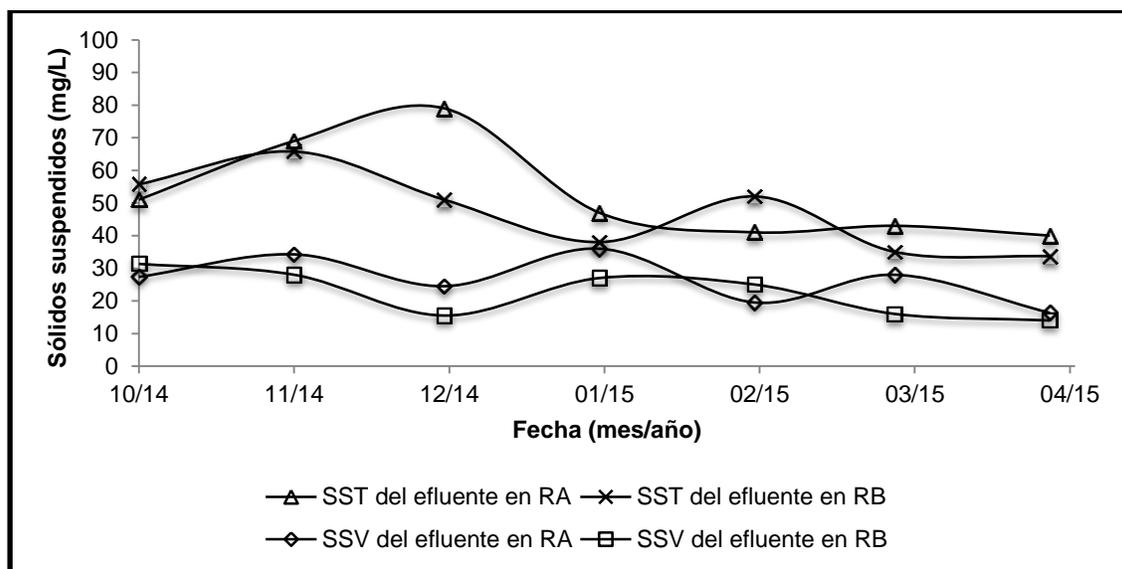


Figura 10. Sólidos presentes en el efluente de RA y RB

4.1.2. Demanda química de oxígeno

La DQO total del licor mixto para RA varió a lo largo del seguimiento entre 1277 y 2410 mg/L, mientras que para RB fue de entre 1306 y 2463 mg/L, teniendo desviaciones estándar entre 18 y 877 mg/L en cada mes (Figura 11). En promedio, no se tuvo una variación mayor del 20% y sólo al inicio del seguimiento. Luego esta concentración fue más estable.

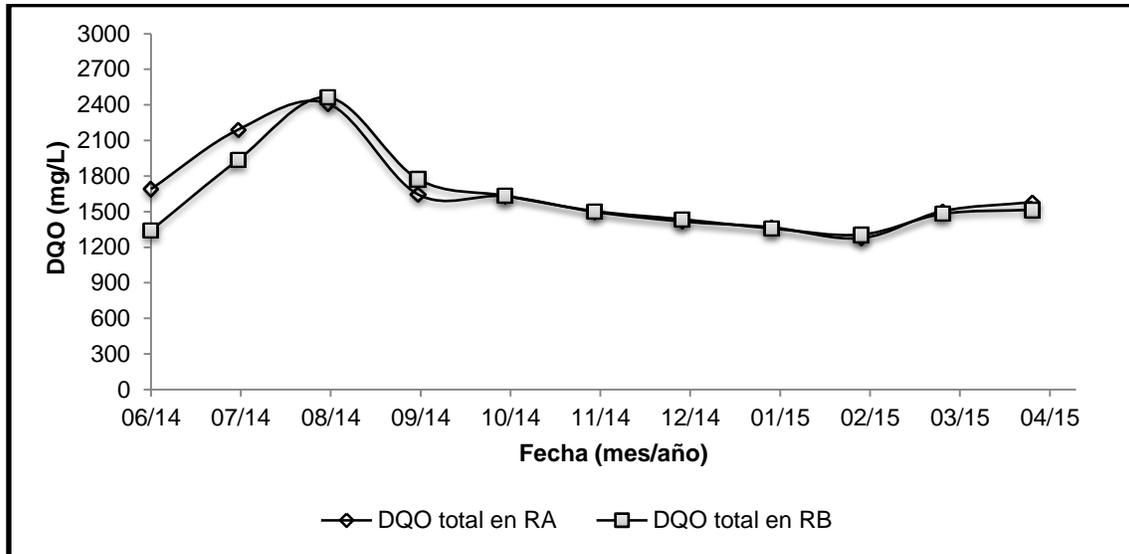


Figura 11. DQO total del licor mixto en RA y RB

Para la DQO soluble del licor mixto, se tuvieron promedios mensuales entre 5 y 56 mg/L en RA y de 11 a 46 mg/L en RB, con desviaciones estándar que oscilaron entre 0 y 13 mg/L. En cuanto a la DQO total del efluente en RA se tuvo promedios de 13 a 52 mg/L y en RB de 18 a 46 mg/L con el mismo rango de desviación estándar que la DQO soluble. Las variaciones anteriores pueden observarse en la Figura 12. Con lo anterior, se aprecia que los reactores tuvieron altos porcentajes de remoción de sustrato, entre 97% y 99%.

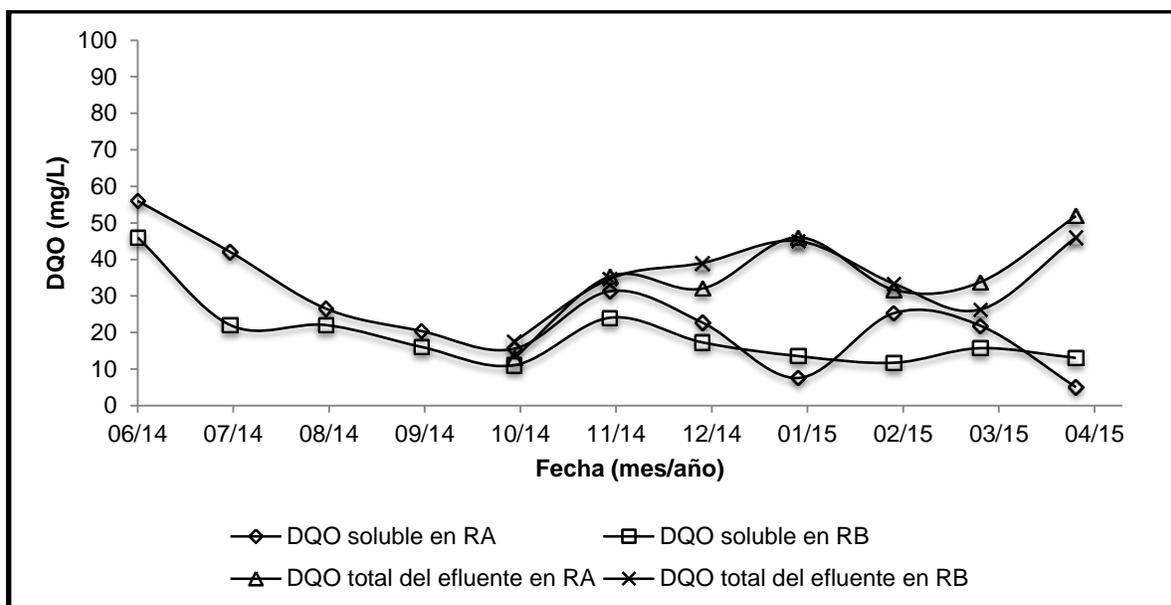


Figura 12. DQO soluble del licor mixto y DQO total del efluente en RA y RB

4.1.3. Índice volumétrico de lodos

El promedio de IVL para el RA varió de 34 mL/g a 79 mL/g con desviación estándar mensual de 5 a 7 mL/g. Para el RB varió de 35 a 84 mL/g con desviación estándar entre 6 y 10 mL/g. Estos valores pueden apreciarse en la Figura 13. Según von Sperling (1999), el lodo de ambos reactores tuvo una sedimentabilidad de buena a muy buena. En los meses de enero y febrero se tuvieron valores más altos de IVL, probablemente por falta de oxígeno en la fase crítica de alimentación.

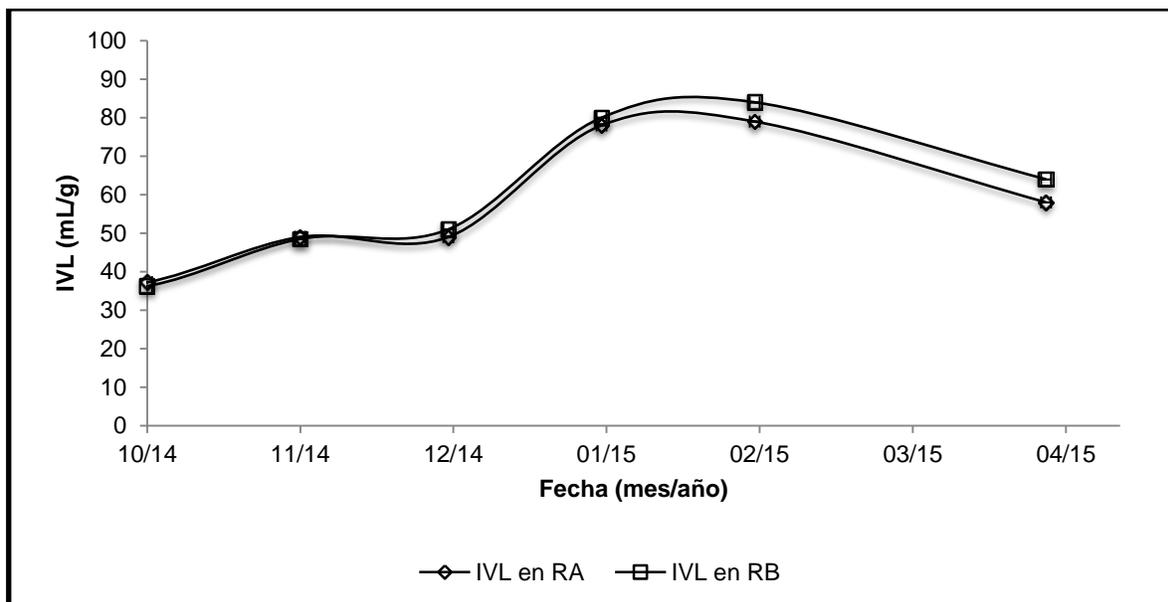


Figura 13. IVL de RA y RB

4.1.4. Otros parámetros físico-químicos del efluente

En las Tablas 5 y 6 se muestran los rangos de promedios y desviaciones estándar que se tuvieron para los otros parámetros monitoreados en cada reactor.

En cuanto a temperatura, los valores se mantuvieron muy constantes, alrededor de 21°C. El mes de diciembre fue en donde se registraron las temperaturas más bajas pero a partir de ahí se comenzó a utilizar resistencias eléctricas para controlarla, evitando que descendiera la temperatura. La conductividad en ambos reactores también se mantuvo relativamente constante, alrededor de 1300 μ S/cm.

El pH, a partir del mes de septiembre del 2014, no ha tenido ningún cambio significativo, manteniéndose en un valor promedio de 9 para ambos reactores. Esta es una característica específica observada en el cultivo desde el inicio. El alto pH se origina desde el agua de llave local, el cual es >8.5 con una alcalinidad alta también.

En el caso de la turbidez, para ambos reactores, se mantuvo siempre por debajo de las 5 UTN. La baja turbidez del efluente confirma la calidad del mismo y la buena sedimentabilidad del lodo.

Tabla 5. Temperatura y conductividad en el efluente de RA y RB

Parámetro	Temperatura (°C)				Conductividad (µS/cm)			
	RA		RB		RA		RB	
	Valor	Desv.	Valor	Desv.	Valor	Desv.	Valor	Desv.
Promedio mensual menor	18.5	0.17	18.7	0.38	1263	6	1250	4
Promedio mensual mayor	22.3	1.77	22.7	2.12	1490	130	1360	143

Tabla 6. pH y turbidez en el efluente de RA y RB

Parámetro	pH				Turbidez (UTN)			
	RA		RB		RA		RB	
	Valor	Desv.	Valor	Desv.	Valor	Desv.	Valor	Desv.
Promedio mensual menor	8.2	0.02	8.3	0.02	0.8	0.37	0.8	0.26
Promedio mensual mayor	9.1	0.27	9.1	0.26	2.8	0.76	2.4	0.96

4.2. Pruebas de seguimiento de los RBS A y B

Se realizaron tres pruebas de seguimiento de DQO, fósforo, nitrógeno y consumo de oxígeno en los reactores RA y RB, los resultados de éstas se muestran a continuación. Los datos obtenidos de todos los análisis realizados, en las tres corridas, se encuentran en el Anexo 9.

4.2.1. Corrida 1 (Protocolo 5)

En la Figura 14 se aprecia el comportamiento metabólico de la DQO soluble y ortofosfatos a lo largo de un ciclo de los RBS A y B. En comparación con el modelo propuesto para los PAO (López-Vázquez, 2009) se puede ver que no se ajusta, ya que no existe una liberación notable en la fase no aireada y tampoco una total remoción de sustrato. La relación estequiométrica de P liberado/Ac consumido durante la fase no aireada fue de 0.0038 mmol P/mmol C. Esta relación resultó ser muy baja en comparación a los valores reportados en la literatura, los cuales van de 0.01 hasta 0.80 mmol P/mmol C (Acevedo et al., 2012).

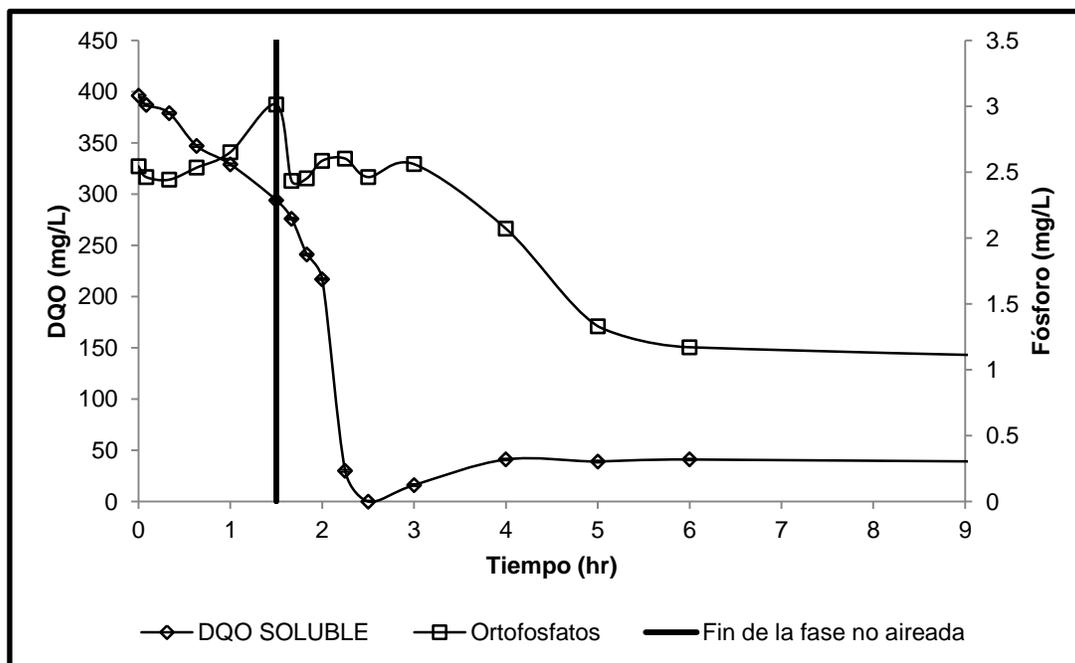


Figura 14. Comportamiento metabólico de DQO y P en la corrida 1

4.2.1.1. Seguimiento de DQO

Se graficó la DQO soluble para observar el comportamiento a lo largo del ciclo del RBS, la cual se muestra en la Figura 15. La DQO en la fase anaerobia se consumió alrededor de 100 mg/L. La mayor degradación de la DQO comenzó en la fase aerobia a partir de 1.5 horas y hasta las 2.25 horas. Lo anterior denota una velocidad de remoción alta, ya que generalmente se degradaría en 6 horas (Henze et al., 2000).

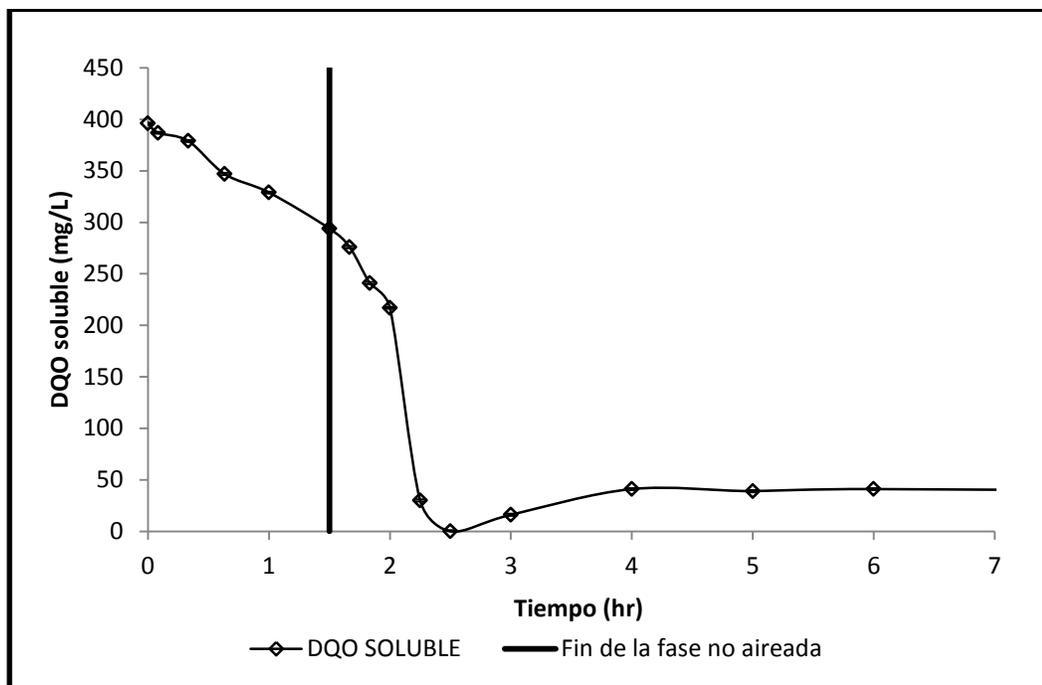


Figura 15. DQO soluble a través del tiempo

Normalmente la fase no aireada duró una hora en los RBS de 30 L pero ésta fue extendida hasta 1.5 h en la prueba para ver si su aumento removería mucho más DQO, lo que no fue el caso.

4.2.1.2. Seguimiento de fósforo

El comportamiento de los ortofosfatos solubles se observa en la Figura 16. Éstos se mantuvieron en un rango de 2.5 a 3 mg/L durante las primeras cuatro horas de la prueba (no se aprecia liberación típica para un PAO) para después tener una ligera bajada. Al

calcular la relación de fósforo entre SSV (P_x/SSV) se obtiene un valor entre 1.5 y 2 % a lo largo de toda la prueba. Lo anterior confirma que sólo existía fósforo suficiente para asimilación pero no para acumulación ya que la relación P_x/SSV es alrededor de 2% típico en OHO (Metcalf & Eddy, 2013), comparado con hasta 30% para PAO (López-Vázquez, 2009).

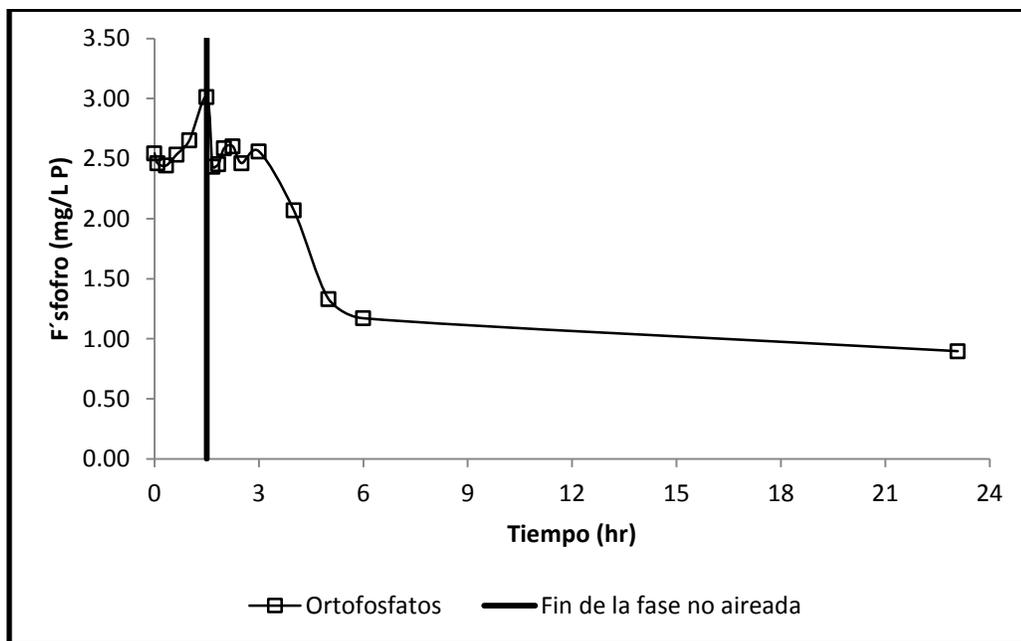


Figura 146. Ortofosfatos solubles a través del tiempo

4.2.1.3. Seguimiento de nitrógeno

El consumo de nitrógeno amoniacal y la nitrificación pueden observarse en la Figura 17. Se obtuvo por regresión lineal que el nitrógeno amoniacal se consumió a una tasa de 1.635 mg N/L-h en la fase no aireada, mientras que, en la fase aerobia, hubo formación de nitratos a una tasa de 0.577 mg N/L-h. Durante la fase no aireada hubo desnitrificación con la poca cantidad de nitratos que había al inicio de la prueba. Se aprecia una nitrificación aún con presencia de ATU en concentración de 5 mg/L. La diferencia entre las tasas de remoción de nitrógeno amoniacal (1.635 mg N/L-h) y de producción de nitratos (0.577 mg N/L-h) informa sobre un proceso de volatilización del amonio debido al alto pH en el reactor (>8.5). Aun cuando existe la volatilización, jamás hubo falta de nitrógeno en

el sistema. La concentración residual aún era muy alta (>8 mg/L) a las 6 h (fase de reacción).

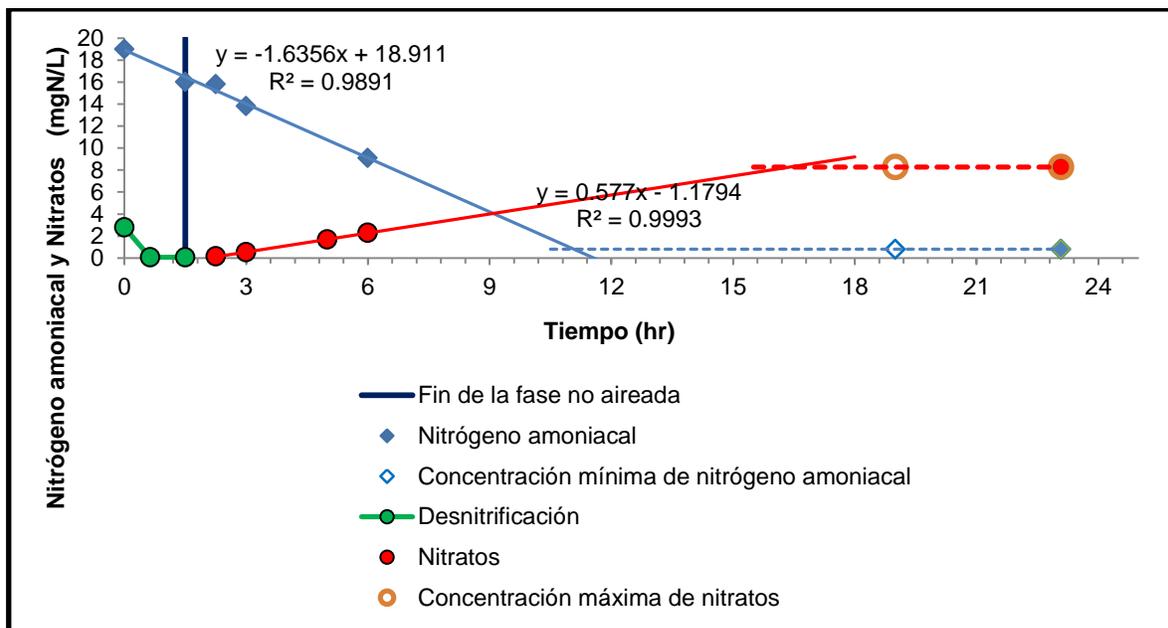


Figura 17. Nitrógeno amoniacal y nitratos a través del tiempo

4.2.1.4. Seguimiento de la tasa de consumo de oxígeno

La tasa de consumo de oxígeno durante la fase aerobia a partir de la hora 1.5, en las cuatro réplicas, se aprecia en la Figura 18. En promedio para las cuatro réplicas, el mayor consumo fue de 74.2 ± 1.1 mg/L-h. Después de la primera meseta alta, la cual corresponde a la fase de acumulación del sustrato en la bacteria, se observó otra meseta a 13 ± 0.3 mg/L-h. Esta segunda fase corresponde a la etapa de crecimiento, cuando la bacteria utiliza el sustrato ya almacenado para sintetizar nueva biomasa. Entre las horas 5 y 7, ocurre otro escalón (no visible en la gráfica) en el que ya se agota el sustrato almacenado y que la bacteria entra en respiración endógena. Ésta es la prueba de que se trata de una bacteria acumuladora. En el decaimiento se tuvo una tasa de consumo promedio de 2.9 ± 0.1 mg/L-h. Aunque fueron pruebas muy similares no fueron réplicas exactas por el hecho de que en una se estuvo muestreando constantemente por lo que la operación fue ligeramente diferente. Aun así, el comportamiento es similar.

La tasa de respiración permite ver también el momento que se termina el sustrato y éste coincidió con la información provista por la DQO.

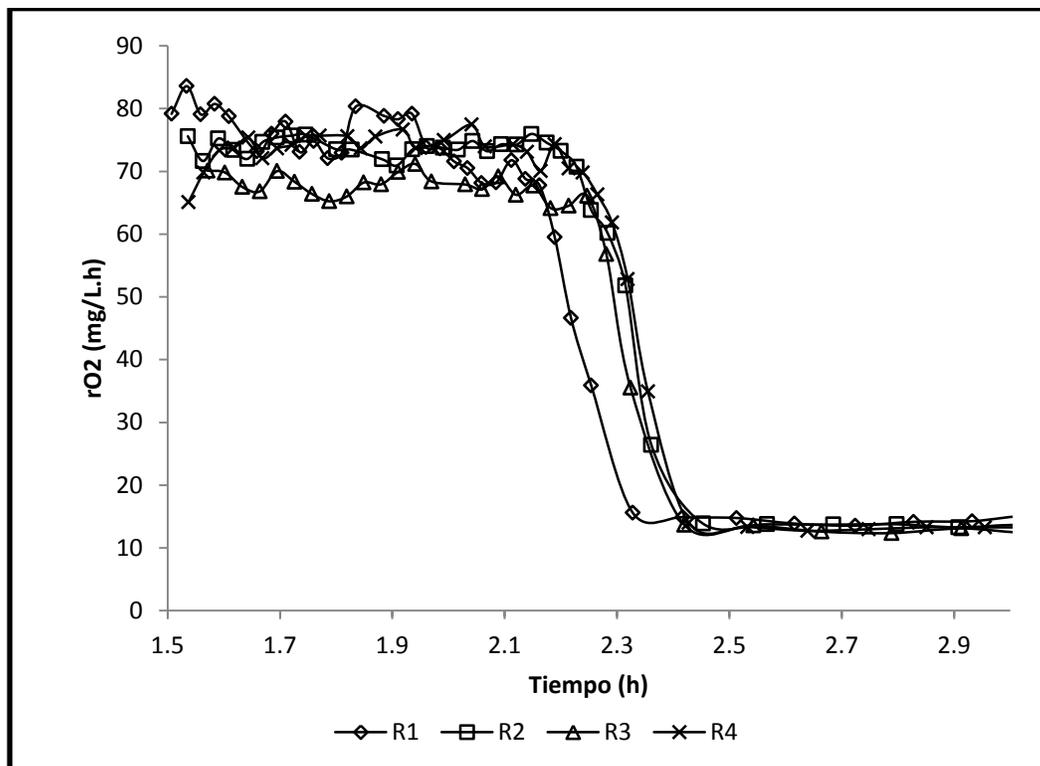


Figura 158. Tasa de consumo de oxígeno en R1, R2, R3 y R4

La muy alta tasa de consumo de oxígeno durante el consumo del sustrato hizo que en algún momento de la investigación, la concentración de OD en los reactores fuera deficiente (<0.5 mg/L). Más tarde, éste fue diagnosticado como la causa de la pérdida de sedimentabilidad del lodo que se registró al final de 2013. Después de esta cinética y con base en los resultados, se optimizó la aireación en los RBS A y B, teniendo mayor vigilancia al inicio de ésta. Para ello se colocaron más bombas de aireación y se tuvo especial cuidado en la medición del oxígeno para verificar que no estuviera en valores muy bajos durante esa fase, tratando de mantener este valor siempre por arriba de 1 mg/L.

4.2.2. Corrida 2 (Protocolo 6)

En esta corrida no se tuvo fase sin aireación y se tuvo un promedio de pH de 8.81 con una desviación estándar de 0.34 unidades.

4.2.2.1. Seguimiento de DQO

El comportamiento de la DQO se muestra en la Figura 19. Aquí se aprecia que se consumió casi en su totalidad durante la primera hora de la prueba, al igual que en la primera parte de la fase aerobia, durante la corrida 1. Aunque no se tuvieron muestreos en el intervalo de la primera hora, más adelante se puede ver que la caída de consumo de oxígeno coincide con la de DQO, poco antes de los 50 minutos de iniciada la alimentación. Con esta corrida se confirmó que el almacenamiento de sustrato de la biomasa que se tiene es principalmente durante la fase no aireada.

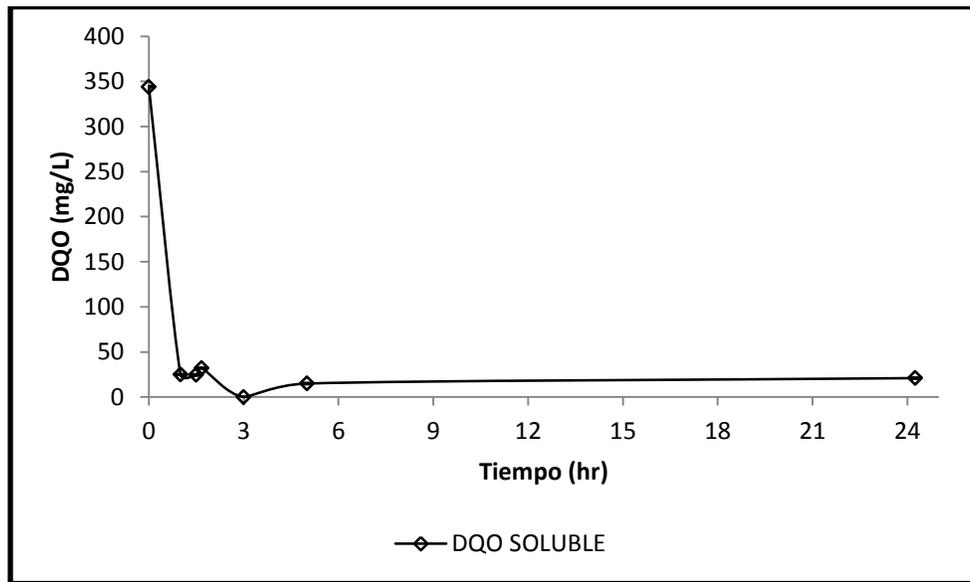


Figura 19. DQO soluble a través del tiempo

4.2.2.2. Seguimiento de fósforo

El comportamiento de los ortofosfatos (solubles) se observa en la Figura 20. Éstos mantuvieron una bajada a lo largo de la prueba hasta llegar a un valor aproximado de 1 mg/L de P. Al no tener la fase no aireada, no se esperaba ninguna liberación de fósforo correspondiente a un PAO. Al calcular la relación de fósforo entre SSV (Px/SSV) no se obtuvo un valor mayor a 2 % a lo largo de toda la prueba, así como en la corrida anterior. Entonces la remoción de P se debió únicamente a la síntesis.

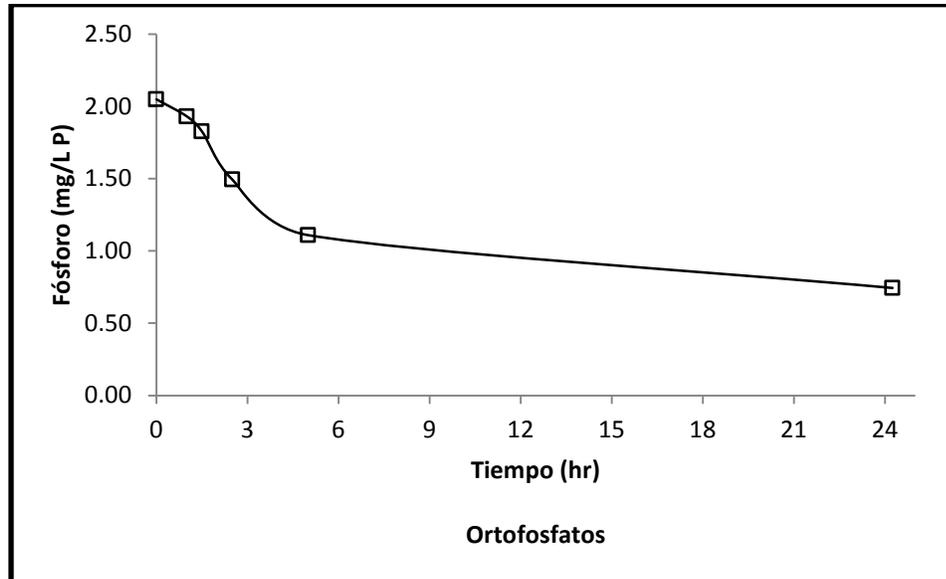


Figura 20. Ortofosfatos solubles a través del tiempo

4.2.2.3. Seguimiento de nitrógeno

El consumo de nitrógeno amoniacal y la nitrificación pueden observarse en la Figura 21. El nitrógeno amoniacal se consumió a una tasa de 0.6813 mg N/L-h, mientras que hubo formación de nitratos a una tasa de 0.4316 mg N/L-h. En esta prueba, al no haber fase no aireada, no se observó desnitrificación y, por lo tanto, se comenzó con mayor concentración de nitratos. Una vez más hubo volatilización, pero nunca hubo limitación de nitrógeno durante el uso de la DQO, ya que al degradarse la mayor parte de ésta aún se tenía una concentración de nitrógeno mayor a 15 mg/L.

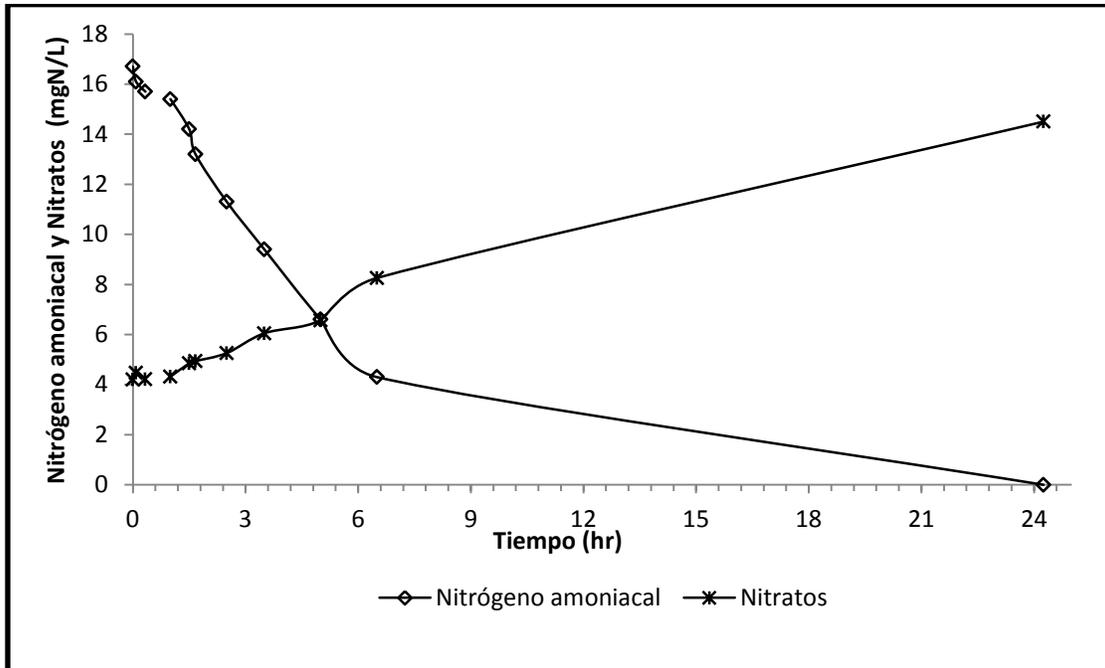


Figura 21. Nitrógeno amoniacal y nitratos a través del tiempo

4.2.2.4. Seguimiento de la tasa de consumo de oxígeno

La tasa de consumo de oxígeno durante la fase aerobia, en R2, se aprecia en la Figura 22. En promedio para las cuatro réplicas, el mayor consumo fue de 81 mg/L-h. En el decaimiento, al día siguiente se tuvo una tasa de consumo promedio de 2.3 mg/L-h. Después de la primera caída en el consumo de oxígeno, se tuvo un promedio de 13.9 mg/L-h. La primera meseta a 81 mg/L-h representa la fase de almacenamiento del sustrato para transformarla en PHA. La fase intermedia a 13.9 mg/L-h es cuando la bacteria crece, consumiendo el PHA, mientras que la etapa a 2.3 mg/L-h es la fase de respiración endógena. Lo anterior confirma que se trata de una biomasa con capacidad de acumular el sustrato sin acumular P.

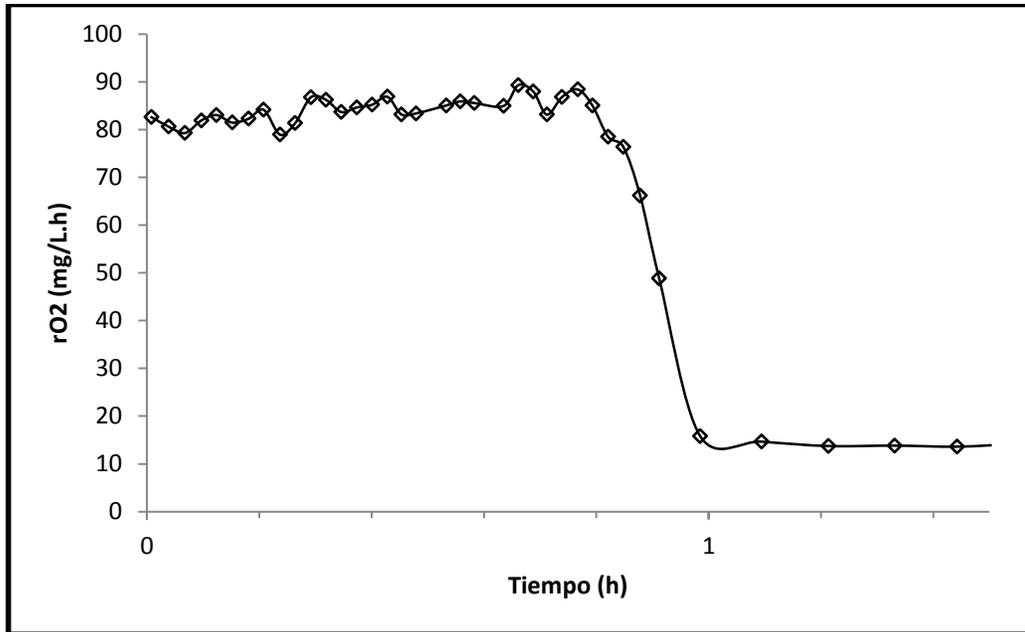


Figura 22. Tasa de consumo de oxígeno en el reactor R2

4.2.3. Corrida 3 (Protocolo 7)

En esta corrida se tuvo un promedio de pH de 8.87 con una desviación estándar de 0.28 unidades. En la Figura 23 se observa el comportamiento metabólico para esta corrida. Con la cual se confirman los resultados de la corrida 1, es decir, que el modelo no se ajusta al comportamiento típico de los PAO. Esto al no apreciarse la liberación de fósforo y el consumo de DQO en la fase no aireada.

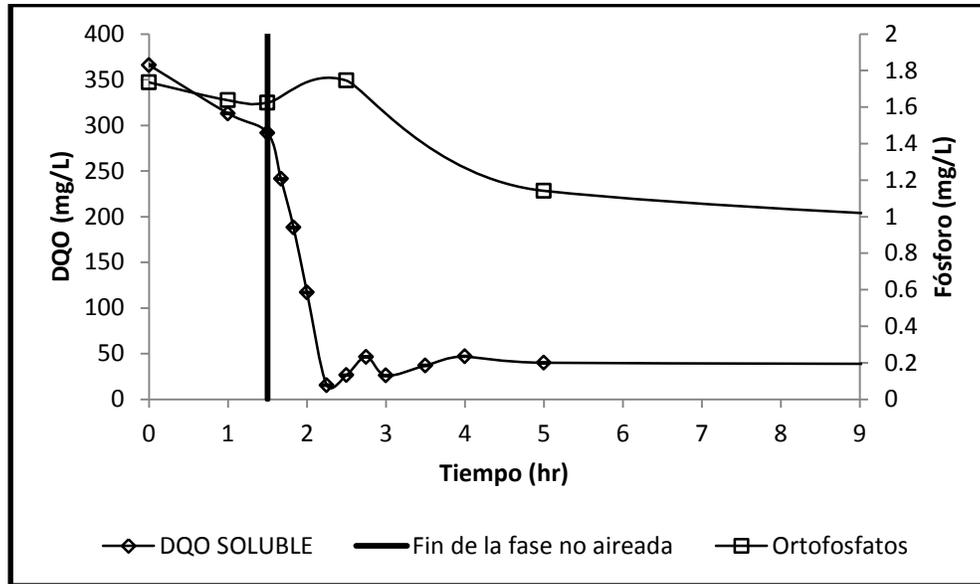


Figura 23. Comportamiento metabólico de DQO y P en la corrida 3

4.2.3.1. Seguimiento de DQO

El comportamiento de la DQO se muestra en la Figura 24. Aquí se aprecia que la caída de DQO se dio a las 2.25 horas de iniciada la prueba, al igual que en la corrida 1. Durante la fase no aireada se consumió sólo alrededor de 75 mg/L de DQO. El restante fue removido muy rápidamente durante la fase aerobia (270 mg/L en poco más de 30 minutos). La rapidez del fenómeno confirma que se trata de simple almacenamiento, sabiendo que el crecimiento requiere más tiempo ($\mu_{max} = 6 \text{ h}^{-1}$). Lo que es conforme al modelo ASM3 y no al ASM1 (Henze et al., 2000).

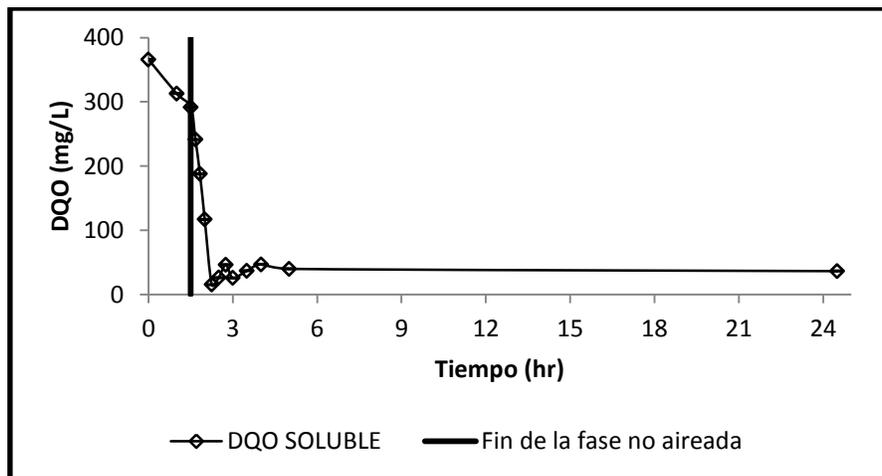


Figura 24. DQO soluble a través del tiempo

4.2.3.2. Seguimiento de fósforo

El comportamiento de los ortofosfatos solubles se observa en la Figura 25. Éstos mantuvieron un valor menor a 2 mg/L durante el experimento. Al calcular la relación de fósforo entre SSV (P_x/SSV) no se obtuvo un valor mayor a 1 % a lo largo de toda la prueba, comprobando así que el alimento suministrado en los reactores sólo cubre los requerimientos básicos de las bacterias. Además, en ninguna de las corridas se observó la cantidad de fósforo liberada, típica para un PAO, que puede estar alrededor de los 3 mmol/L de P (Acevedo et al., 2012). En esta primera etapa de la investigación sólo se alcanzaron valores menores a 0.01 mmol/L de P.

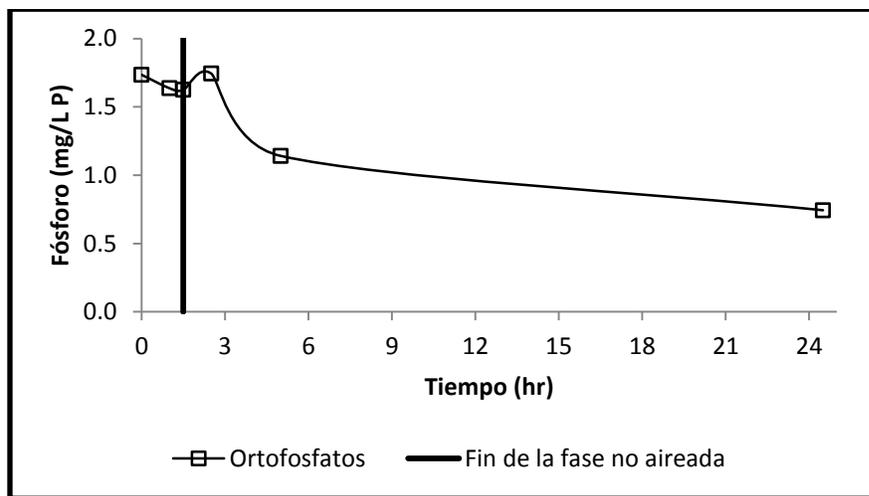


Figura 25. Ortofosfatos solubles a través del tiempo

4.2.3.3. Seguimiento de nitrógeno

El consumo de nitrógeno amoniacal y la nitrificación pueden observarse en la Figura 26. El nitrógeno amoniacal se consumió a una tasa de 0.6846 mg N/L-h en la fase no aireada, mientras que hubo formación de nitratos a una tasa de 0.3405 mg N/L-h a partir de la fase aireada. En esta prueba, al igual que en la corrida 1, se observó una desnitrificación en la fase no aireada y el proceso de nitrificación comenzó hasta después de 1.5 horas de iniciar la aireación. La diferencia entre las tasas confirma la existencia de un mecanismo de volatilización, aunque jamás hubo limitación de N durante el consumo de la DQO, teniendo una concentración de N mayor a 13 mg/L al final de la remoción de DQO. Gracias a estos resultados se descartó que un déficit de nutriente pudiera ser la causa de no sedimentabilidad en el 2013.

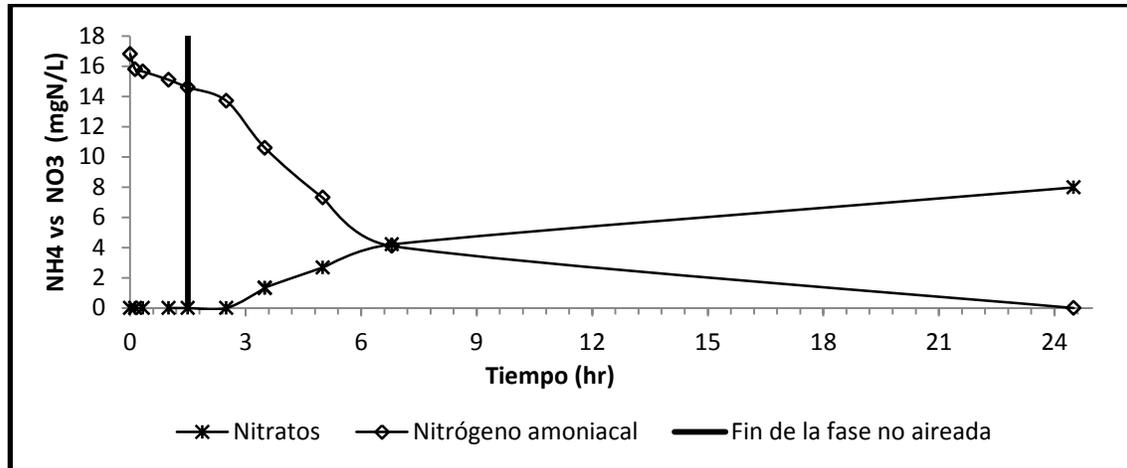


Figura 166. Nitrógeno amoniacal y nitratos a través del tiempo

4.2.3.3. Seguimiento de la tasa de consumo de oxígeno

La tasa de consumo de oxígeno durante la fase aerobia, en R2, se aprecia en la Figura 27. En promedio para las cuatro réplicas, el mayor consumo fue de 79.6 mg/L-h. En el decaimiento al día siguiente se tuvo una tasa de consumo promedio de 2.7 mg/L-h. Después de la primera caída en el consumo de oxígeno, se tuvo un promedio de 15.2 mg/L-h. Se confirmaron las tres fases de almacenamiento-crecimiento-decaimiento siendo bacteria acumuladora de sustrato sin acumular P, pudiendo ser GAO y no PAO (López, 2009). El respirograma detecta muy bien el agotamiento del sustrato, por lo que ya se podría omitir la medición de DQO.

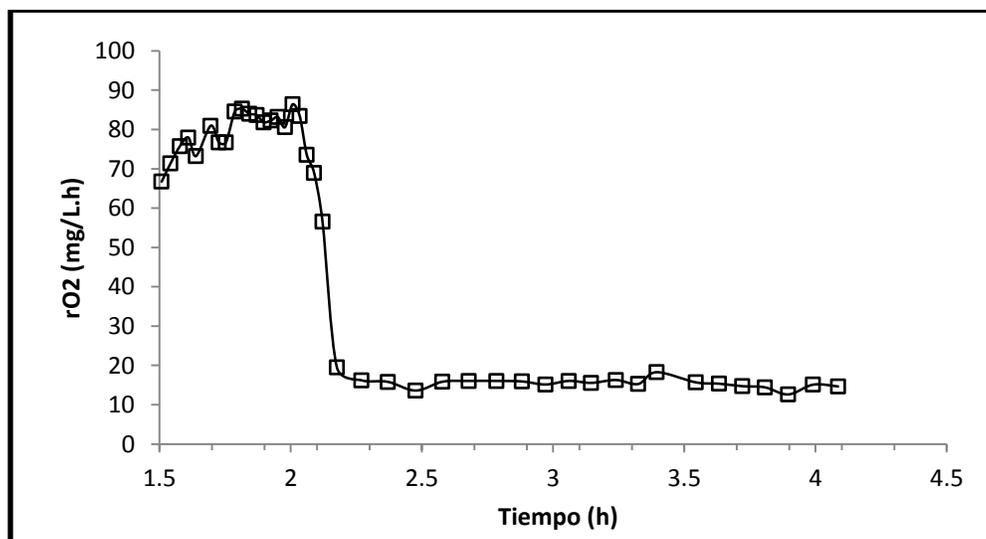


Figura 177. Tasa de consumo de oxígeno en R2

4.3. Seguimiento en los ciclos del RBS-D

En esta sección se exponen los resultados de pruebas que se hicieron en el RBS-D, el cual fue montado a partir de lodo de los reactores A y B pero se enriqueció el alimento con una solución extra de KH_2PO_4 al 5%. Lo anterior para estimular el desarrollo de las bacterias que potencialmente pudieran ser PAO.

4.3.1. Comportamiento del fósforo, semana tras semana

Se realizaron pruebas de ortofosfatos solubles durante el ciclo del reactor. Los resultados son mostrados en la Tabla 7.

Como es mostrado en la tabla 7, en promedio al inicio de la fase no aireada se tuvieron 13.19 mg P/L, al final de la fase no aireada fueron 12.97 mg P/L, después de 3.5 horas de aireación se tienen 8.8 mg P/L y en el efluente (después de 23 horas de aireación) 8.36 mg P/L. Con lo anterior se observa que existe una remoción de alrededor de 32% de fósforo en promedio pero, como se esperaría en un cultivo de PAO, no se tiene una notable liberación de éste elemento durante la fase no aireada, por lo que esta remoción podría estarse debiendo a otro fenómeno. Al parecer los PAO podrían almacenar fósforo en la fase aerobia sin que se libere éste en la fase anaerobia.

La Tabla 7 muestra que P se removió más allá de lo esperado si era solamente por asimilación (alrededor de 2 mg/L, lo mismo que removieron RA y RB), de 13.19 a 8.36 mg/L al final, lo que es más del doble de lo esperado (5 mg/L). La concentración de P liberado en la fase no aireada se calculó restandole a la concentración que hubo al final de esta fase, la que hubo al iniciar la fase. Los valores negativos indican que no hubo una liberación, si no una remoción de este nutriente.

Tabla 7. Comportamiento del fósforo en el RBS-D

	mg/L P	mg/L P	mg/L P	mg/L P	mg/L P	mg/L P
Fecha	Inicio fase no aireada	Fin fase no aireada	Después de 3.5 h de aireación	Efluente	Liberado en F. no aireada	Acumulado en la F. Aerobia
11/03/15	15.7	15.8	10.1	9.9	0.1	5.7
18/03/15	12.9	14.4	9.8	9.6	1.5	4.6
26/03/15	14.5	13.8	9.5	8.7	-0.7	4.3
22/04/15	15.5	15.1	9.4	8.8	-0.4	5.7
28/04/15	15.3	13.9	9.4	8.8	-1.4	4.5
29/04/15	14.2	14.2	9.6	8.9	0	4.6
30/04/15	10.1	9.6	7.3	6.7	-0.5	2.3
01/05/15	8.7	9.2	7	6.5	0.5	2.2
08/05/15	13.4	12.8	8.4	8.3	-0.6	4.4
08/06/15	12.1	12.8	9.2	8.5	0.7	3.6
12/06/15	13.1	12.7	7.6	7.6	-0.4	5.1
16/05/15	12.8	11.3	8.3	8	-1.5	3
Promedio	13.19	12.97	8.80	8.36	-0.23	4.17
Desviación estándar	2.1	2.0	1.0	1.0	0.9	1.2

4.3.2. Comportamiento de la DQO en el RD

En la Figura 28 puede observarse el comportamiento de la DQO soluble a través de un ciclo en el reactor D. Durante la fase no aireada se consumió menos de 50 mg/L de DQO. Luego, al iniciar la fase aireada, se degradaron aproximadamente 280 mg/L de DQO durante la primera media hora de aireación, lo cual podría indicar que en esta fase sólo acumulan el sustrato pero no lo degradan para utilizarlo en su crecimiento desde el principio. Lo observado en el reactor D, fue similar a lo notado anteriormente en las otras corridas (reactores A y B).

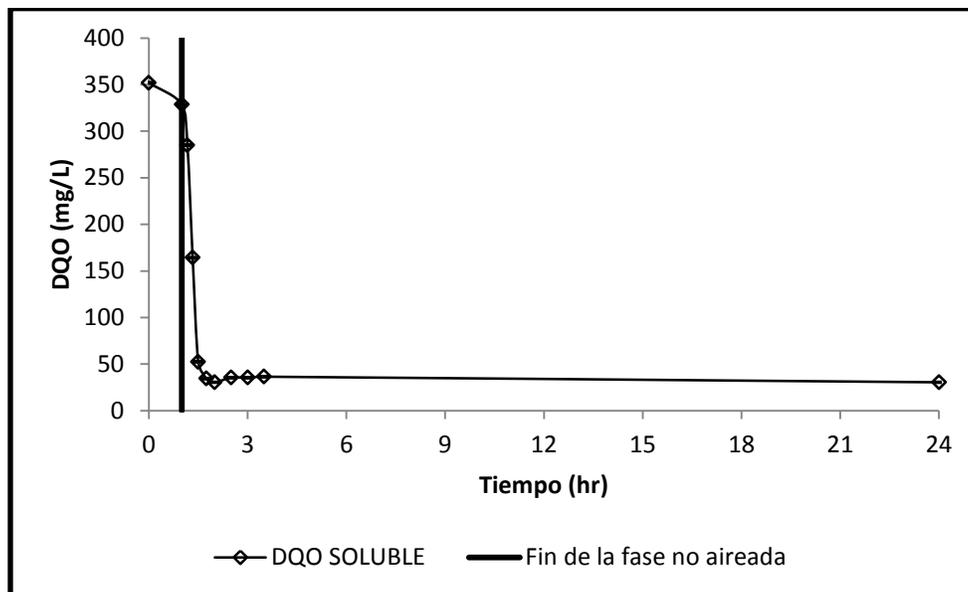


Figura 28. DQO soluble en un ciclo de RBS-D

4.3.3. Comportamiento del fósforo en el RD

En la Figura 29 se graficaron los ortofosfatos medidos en un ciclo del RBS-D. En ésta se puede observar que durante la primera hora (fase no aireada) se tiene una ligera liberación de fósforo. En esta primera fase, para bacterias acumuladoras de fósforo, se esperaría una mayor liberación de ortofosfatos. Sin embargo, existe una remoción de fósforo de alrededor de 4 mg/L en las primeras dos horas, lo que equivale a un 28% de remoción, y en total de 6.4 mg/L al finalizar el ciclo de 24 horas, aproximadamente un 42% de remoción total en la fase aireada, lo que es muy alto.

Al calcular la relación de Px/SSV se obtienen valores entre 7 y 8.3%, esto es tres veces más de lo que se obtenía en los reactores RA y RB. Con estos valores se confirma que hay remoción alta de P, pudiendo ser PAO. Sin embargo, hubo poco fósforo liberado en la fase no aireada, lo que no es común para PAO según el estado del arte actual. Esta remoción podría deberse a otro tipo de fenómeno, posiblemente por precipitación química.

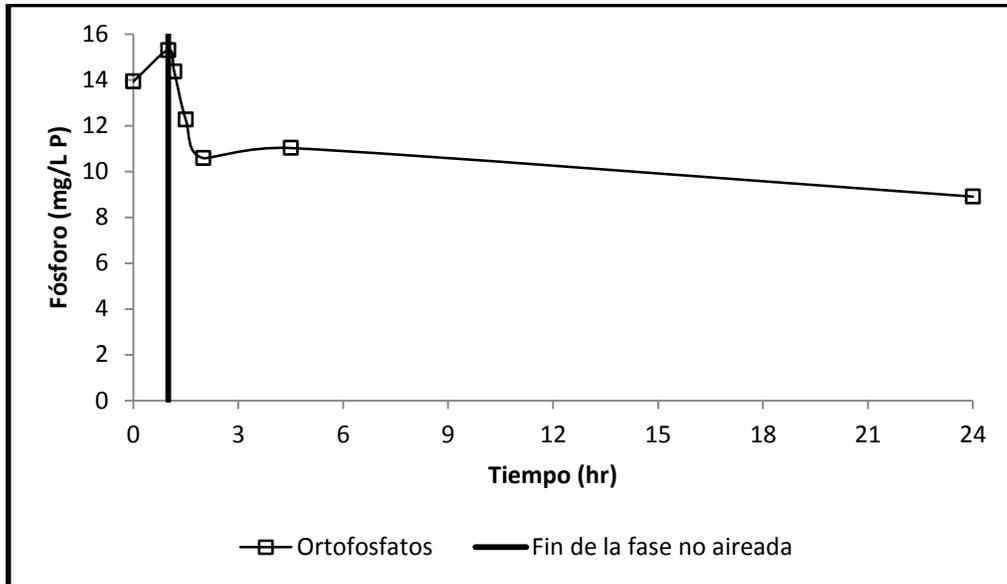


Figura 189. Ortofosfatos solubles en un ciclo del RBS-D

En la Figura 30 se observa el comportamiento metabólico de la DQO y ortofosfatos en un ciclo del reactor D, aquí se aprecia mayor remoción de P que en los ciclos de RA y RB, sin embargo, no se ajusta completamente al modelo planteado para las bacterias acumuladoras de polifosfatos (López-Vázquez, 2009),

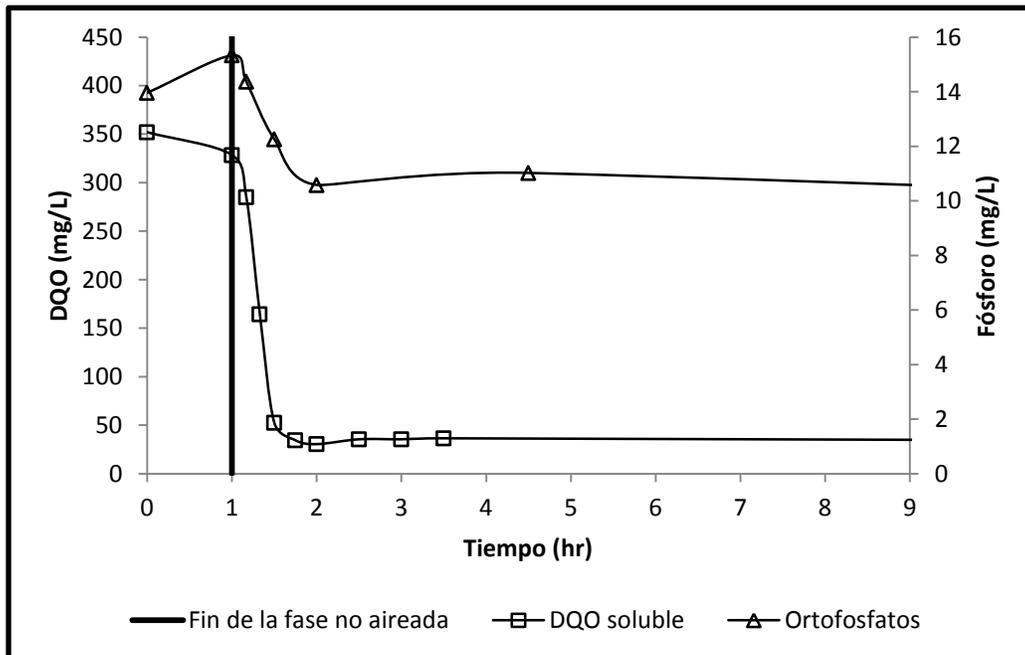


Figura 30. Comportamiento metabólico de DQO y P en RD

4.3.4. Comportamiento del nitrógeno en el RD

Las mediciones de nitrógeno amoniacal y nitratos se representan en la Figura 31. Aquí se puede ver que durante la fase no aireada existe desnitrificación de los pocos nitratos que existen al inicio del ciclo. Luego, en la fase aireada, se aprecia que existe una ligera nitrificación. Utilizando regresión lineal para calcular la tasa de consumo y formación de nitrógeno amoniacal y nitratos, respectivamente, y estimando la cantidad de nitrógeno que se asimila en la biomasa (ver Anexo 7) se puede ver la distribución del nitrógeno amoniacal durante el ciclo (Figura 32). En promedio, 78% del nitrógeno amoniacal fue volatilizado, mientras que el 17% fue asimilado y 5% nitrificado. Gracias a estas pruebas se pudo comprobar que jamás hubo falta de nutriente, aun cuando el pH ocasiona volatilización.

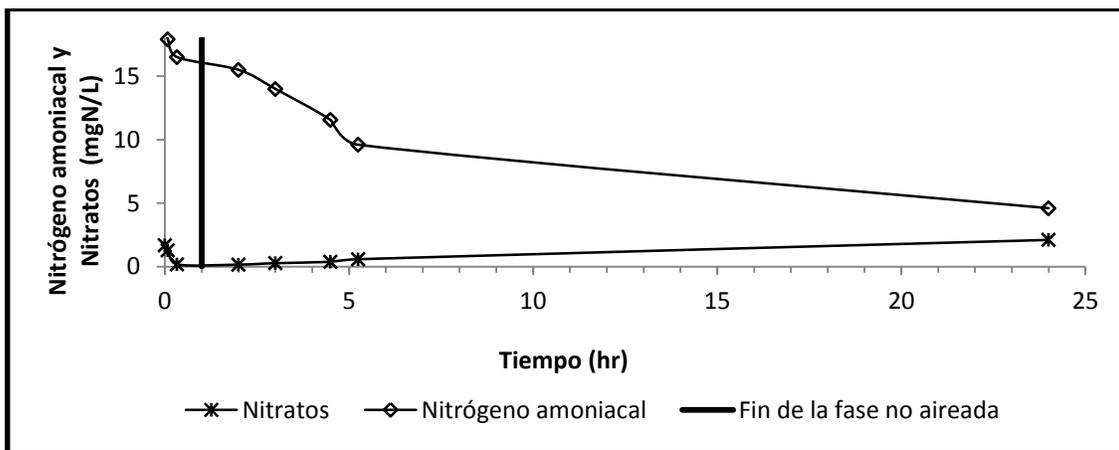


Figura 31. Nitrógeno en un ciclo del RBS-D

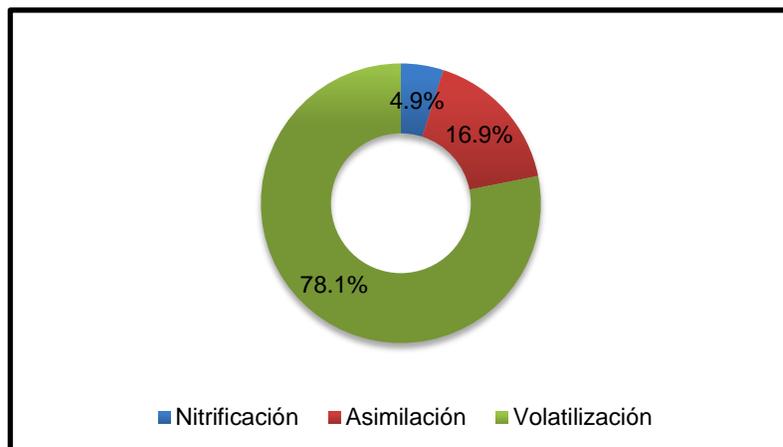


Figura 32. Distribución del nitrógeno en un ciclo del RBS-D

4.3.5. Comportamiento del pH en el RD

El pH se mantiene casi constante a lo largo del ciclo con un promedio de 8.96, sólo existe una ligera subida al iniciar la fase aerobia. Esto puede verse en la Figura 33. Lo anterior comprueba que los procesos de precipitación química de P podrían ser importantes en el reactor. Ya que, de acuerdo a Yunfeng et al. (2015), en pH alcalino se observa una disminución en la concentración de P por precipitación con algunos metales como aluminio, calcio, hierro y magnesio.

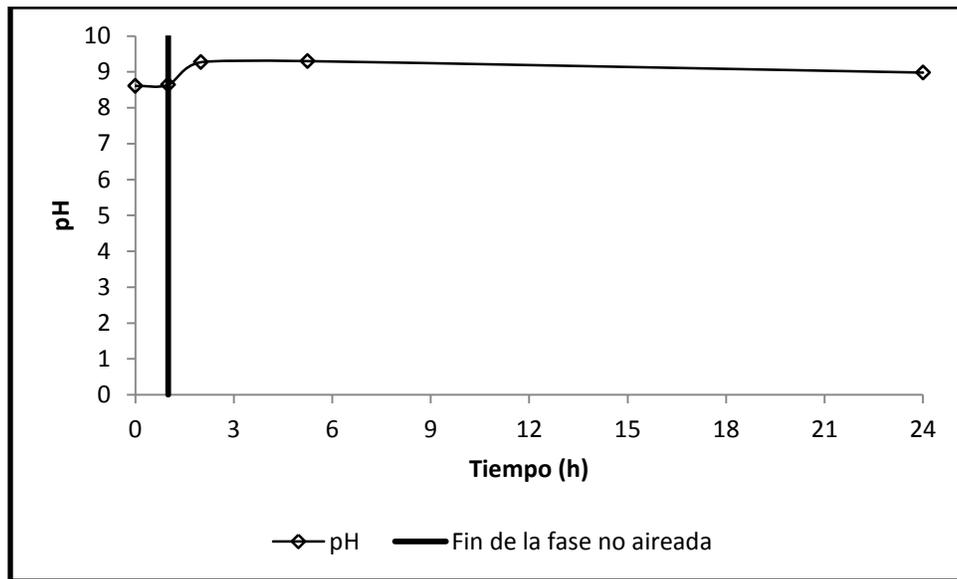


Figura 33. pH en un ciclo del RBS-D

4.4. Seguimiento del reactor Applikon (control de pH a 7.0)

Se montó el reactor Applikon a partir del licor mixto del RBS-D, siguiendo las mismas etapas de operación y con alimentación enriquecida en fósforo para estimular el desarrollo de PAO. La única diferencia con el RBS-D fue que aquí se controló el pH a un valor de 7.0 unidades.

En este reactor se hicieron pruebas de seguimiento, aproximadamente por un mes, sobre todo de ortofosfatos. Las mediciones de éstos se muestran en la Tabla 8. La primera medición dio valores muy altos porque fue después de un fin de semana donde no se retiró el efluente y se acumuló el fósforo en el reactor. Para las demás mediciones, se tiene un promedio de liberación de fósforo en la fase no aireada de 0.9 mg/L y misma cantidad de remoción en la fase aireada, es decir, sólo alrededor de un 7% de remoción.

Tabla 8. Comportamiento del fósforo en el reactor Applikon

Fecha	mg/L P Inicio fase no aireada	mg/L P Fin fase no aireada	mg/L P Después de 3.5 h de aireación	mg/L P Efluente	mg/L P Liberado en F. no aireada	mg/L P Acumulado en la F. Aerobia
08/06/15	53.1	25.4	25.5	25.9	-27.7	-0.1
12/06/15	19	16.4	16.4	12.1	-2.6	0
16/06/15	14.2	12.7	13.5	7.4	-1.5	-0.8
19/06/15	7.7	13.1	9	12.6	5.4	4.1
23/06/15	12.6	12.7	11.4	11	0.1	1.3
26/06/15	7.7	9.6	10.4	12	1.9	-0.8
03/07/15	10.9	12.8	11	10.6	1.9	1.8
Promedio	12	12.9	12	11	0.9	0.9
Desviación estándar	4.3	2.2	2.6	1.9	2.9	1.9

Como se ve en la última columna de la Tabla 8, en general, durante la fase aerobia la acumulación de P fue siempre baja (1.9 mg/L en promedio) sin que haya tampoco una liberación fuerte de P, en la fase anaerobia. Con lo anterior, se puede decir que la remoción fuerte de fósforo obtenido en el anterior reactor D era probablemente una precipitación química a pH alto (Yunfeng et al., 2015). También se concluye que aumentar P en el influente no basta para que los PAO predominen sobre los GAO.

Otras mediciones que se realizaron fueron de DQO total, DQO soluble, SST y SSV medidos en la purga del reactor (ver Tabla 9). La cantidad de sólidos suspendidos se mantuvo constante pero la DQO tuvo un descenso durante el seguimiento, probablemente debido a un proceso de estabilización por el cambio de pH con el que se trabajó. En promedio se tuvo una buena remoción de sustrato, aproximadamente del 97%.

Tabla 9. DQO y sólidos del licor mixto en el reactor Applikon

Fecha	DQO total (mg/L)	DQO soluble (mg/L)	SST (mg/L)	SSV (mg/L)
19/06/15	1518	32	1300	1033
26/06/15	1224	46	1260	1013
03/07/15	1077	38	1253	1007
Promedio	1273	39	1271	1018
Desviación estándar	224.5	7.0	25.2	13.9

CAPÍTULO 5

CONCLUSIONES Y

RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- ✓ La duración de la fase no aireada, de los reactores A y B, fue la adecuada. Al incrementar el tiempo de ésta no hubo una mayor remoción de sustrato por lo que el tiempo de esta fase no se modificó. Con los resultados de las corridas de respirometría se concluyó que hubo mayor requerimiento de OD al inicio de la fase aireada y fue lo que se optimizó en la operación, logrando mantener una concentración mínima de 1 mg/L.
- ✓ Hubo evidencia clara de que el cultivo acumula sustrato (de acuerdo al modelo ASM3 y no al ASM1), teniendo una remoción de sustrato en menor tiempo que el que se establece en el modelo ASM1 ($\mu_{\text{máx}} = 6 \text{ h}^{-1}$).
- ✓ Los reactores A y B no están acumulando fósforo debido a que la cantidad de éste proporcionada en el alimento es baja (2 mg/L) y con ella sólo pueden satisfacer sus requerimientos básicos. Con base en los resultados obtenidos de las cinéticas se tuvo un cultivo donde la ruta metabólica predominante fue la de los GAO (remoción de sustrato pero no de fósforo).
- ✓ El cociente estequiométrico, en los reactores A y B, de P liberado/ Ac consumido durante la fase no aireada fue de 0.0038 mmol P/mmol C. La tasa máxima de consumo de sustrato fue de 68 mg/L-h en la fase no aireada y la tasa máxima de utilización de oxígeno en la fase aireada fue, en promedio, de 81 mg/L-h.
- ✓ Existe nitrificación en los reactores A y B aunque es algo lenta como consecuencia de la utilización de 5 mg/L de ATU en el agua residual sintética utilizada como sustrato. Hubo volatilización por pH alto, pero nunca hizo falta nitrógeno.
- ✓ En el reactor D con alimento modificado (de concentración de 2.7 mg/L de P a 18 mg/L de P) tuvo una remoción promedio de fósforo, a lo largo de un ciclo, de 42%.
- ✓ Al controlar el pH en el cultivo del reactor D, utilizando el reactor Applikon, no se tuvo una remoción notable y constante de fósforo, por lo que se puede concluir que al aumentar la cantidad de fósforo en el alimento no se logró tener un cultivo predominante en PAO y que la remoción de P obtenida en el reactor D se debió a precipitación química.

5.2. Recomendaciones

- Prolongar el tiempo de seguimiento del cultivo del reactor D controlando el pH para tener resultados más certeros.
- Para poder tener un cultivo con PAO's predominantes, se recomienda automatizar la operación del reactor y, por lo menos, agregar otra fase de alimentación durante el día y así las bacterias no se queden sin reservas de energía, necesaria para poder acumular fósforo al iniciar un nuevo ciclo. También podría resultar conveniente hacer una siembra nueva con diferentes lodos para tener una mayor variedad de organismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, A., Oehmen, A., Carvalho, G., Seco, A., Borrás, L., Barat, R. (2012). Metabolic shift of polyphosphate-accumulating organisms with different levels of polyphosphate storage. *Water Research* 46, 1889-1900.
- APHA/AWWA (2012). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. E.E.U.U.: Port City Press.
- Barat, R., Montoya, T., Borrás, L., Ferrer, J., Seco, A., (2008). Interactions between calcium precipitation and the polyphosphate-accumulating bacteria metabolism. *Water Research*. 42 (13), 3415-3424.
- Barat, R., Montoya, T., Borrás, L., Seco, A., Ferrer, J., (2006). Calcium effect on enhanced biological phosphorus removal. *Water Science and Technology*. 53 (12), 29-37.
- Cech, J.S., Hartman, P. (1993). Competition between phosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphorus removal systems. *Water Research*. 27, 1219-1225.
- Copp, J. B., Spanjers, H., y Vanrolleghem, P. A. (Eds.). (2002). *Respirometry in control of the activated sludge process: benchmarking control strategies* (No. 11). IWA publishing.
- Crocetti, G.R., Banfield, J.F., Keller, J., Bond, P.L. y Blackall, L.L. (2002). Glycogen accumulating organisms in laboratory-scale and full-scale wastewater treatment processes. *Microbiology* 148, 3353-3364.
- Crocetti, G.R., Hugenholtz, P., Bond, P.L., Schuler, A., Keller, J., Jenkins, D. y Blackall, L.L. (2000). Identification of polyphosphate-accumulating organisms and design of 16S rRNA-directed probes for their detection and quantitation. *Applied Environmental Microbiology* 66(3), 1175–1182.
- Erdal, U., Erdal, Z., Daigger, G., Randall, C. (2008). Is it PAO-GAO competition or metabolic shift in EBPR system? Evidence from an experimental study. *Water Science and Technology*. 58 (6), 1329-1334.
- Erdal, U.G., Erdal, Z.K., Randall, C.W. (2003). The competition between PAO (phosphorus accumulating organisms) and GAO (glycogen accumulating

- organisms) in EBPR (enhanced biological phosphorus removal) systems at different temperatures and the effects on system performance. *Water Science and Technology*. 47 (11), 1-8.
- Filipe, C.D.M., Daigger, G.T., Grady Jr., C.P.L. (2001). A metabolic model for acetate uptake under anaerobic conditions by glycogen-accumulating organisms: stoichiometry, kinetics and effect of pH. *Biotechnology Bioengineering* 76 (1), 17-31
- Fuhs, G.W. y Chen, M. (1975) Microbiological basis of phosphate removal in the activated sludge process for the treatment of wastewater. *Microbial Ecology* 2 (2), 119-138.
- Henze M., Gujer W., Mino T., Van Loosdrecht M. (2000). Activated sludge models ASM1, ASM2 and ASM3. *IWA publishing, International Water Association (IWA)*, London, UK.
- Henze, M. (1995). Activated Sludge Model: No. 2. London: *IWA Publishing*.
- Henze, M., van Loosdrecht, M.C.M., Ekama, G.A. (2008). Biological Wastewater Treatment: Principles, Modeling and Design. *Intl Water Assn*.
- Hesselmann, R.P.X., Werlen, C., Hahn, D., van der Meer, J.R. y Zehnder, A.J.B. (1999). Enrichment, phylogenetic analysis and detection of a bacterium that performs enhanced biological phosphate removal in activated sludge. *Systematic and Applied Microbiology* 22(3), 454–465.
- Jiménez, B. (2001). *La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada*. México: Limusa, Colegio de Ingenieros Ambientales de México, A.C., Instituto de Ingeniería de la UNAM y FEMISCA.
- Lanham, A. B., Ricardo, A. R., Coma, M., Fradinho, J., Carvalheira, M., Oehmen, A., Carvalho, G., Reis, A. M. M. (2012). Optimisation of glycogen quantification in mixed microbial cultures. *Bioresource Technology* 118, 518-525.
- Liu, W.T., Nakamura, K, Matsuo, T., Mino, T. (1997). Internal energy-based competition between polyphosphate- and glycogen- accumulating bacteria

in biological phosphorus removal reactors-effect of P/C feeding ratio. *Water Research*. 31, 1430-1438.

López-Vázquez, C.M. (2009). *The competition between Polyphosphate-Accumulating Organisms and Glycogen-Accumulating Organisms: Temperature Effects and Modelling*. Tesis de doctorado no publicada. Delft University of Technology, Delft, Países Bajos.

López-Vázquez, C.M., Song, Y., Hooijmans, C.M., Brdjanovic, D., Moussa, M.S., Gijzen, H.J. y van Loosdrecht, M.M.C. (2006). Short-Term Temperature Effects on Anaerobic Metabolism of Glycogen Accumulating Organisms. *Biotechnology and Bioengineering* 97 (3). 483-495.

Martins, A.M.P., Pagilla, K., Heijnen, J.J., van Loosdrecht, M.C.M. (2004). Filamentous bulking sludge - a critical review. *Water Research*. 38, 793-817.

Metcalf y Eddy (2003). *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. New York: McGraw-Hill.

Mino, T., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J. (1998). Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphorus removal process. *Water Research*. 32 (11), 3193-3207.

Mulkerrins, D., Dobson, A.D.W., Colleran, E. (2004). Parameters affecting biological phosphate removal from wastewaters. *Environmental International*. 30, 249-259.

Nielsen, A.T., Liu, W.T., Filipe, C., Grady, L., Molin, S. y Stahl, D.A. (1999). Identification of a novel group of bacteria in sludge from a deteriorated biological phosphorus removal reactor. *Applied Environmental Microbiology* 65(3), 1251–1258.

Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L.L., Keller, J. (2004). Short-term effects of carbon source on the competition of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Science and Technology*. 50, 139-144.

Oehmen, A., Keller-Lehmann, B., Zeng, R.J., Yuan, Z y Keller, J. (2005a). Optimisation of poly- β -hydroxyalkanoate analysis using gas

- chromatography for enhanced biological phosphorus removal systems. *Journal of Chromatography A*, 1070. 131-136.
- Oehmen, A., Yuan, Z., Blackall, L.L., Keller, J. (2005b). Comparison of acetate and propionate uptake by polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Biotechnology Bioengineering*. 91, 162-168.
- Oehmen, A., Lemos, P.C., Carvalho, G., Yuan, Z., Keller, J., Blackall, L.L., Reis, M.A.M. (2007). Advances in enhanced biological phosphorus removal: from micro to macro scale. *Water Research*. 41 (11), 2271-2300.
- Oehmen, A., Lopez-Vazquez, C.M., Carvalho, G., Reis, M.A.M., van Loosdrecht, M.C.M. (2010a). Modelling the population dynamics and metabolic diversity of organisms relevant in anaerobic/anoxic/aerobic enhanced biological phosphorus removal processes. *Water Research*. 44 (15), 4473-4486.
- Oehmen, A., Carvalho, G., Lopez-Vazquez, C.M., van Loosdrecht, M.C.M., Reis, M.A.M. (2010b). Incorporating microbial ecology into the metabolic modeling of polyphosphate accumulating organisms and glycogen accumulating organisms. *Water Research*. 44 (17), 4992-5004.
- Panswad, T., Doungchai, A., Anotai, J., (2003). Temperature effect on microbial community of enhanced biological phosphorus removal system. *Water Research*. 37, 409-415.
- Petersen, B., Vanrolleghem, P., Gernaey, K., Henze, M. (2002). Evaluation of an ASM1 Model Calibration Procedure on a Municipal – Industrial Wastewater Treatment Plant. *Journal of Hydroinformatics*. 4: 15 – 38.
- Satoh, H., Mino, T., Matsuo, T. (1994). Deterioration of enhanced biological phosphorus removal by the domination of microorganisms without polyphosphate accumulation. *Water Science and Technology*. 30, 203-211
- Saunders, A.M., Oehmen, A., Blackall, L.L., Yuan, Z., Keller, J. (2003). The effect of GAOs (glycogen accumulating organisms) on anaerobic carbon requirements in full-scale Australian EBPR (enhanced biological phosphorus removal) plants. *Water Science and Technology*. 47, 37-43.

- Schuler, A.J., Jenkins, D. (2002). Effects of pH on enhanced biological phosphorus removal metabolisms. *Water Science and Technology*. 46, 171-178.
- Schuler, A.J., Jenkins, D. (2003). Enhanced biological phosphorus removal from wastewater by biomass with different phosphorus contents, part II: anaerobic adenosine triphosphate utilization and acetate uptake rates. *Water Environmental Research* 75 (6), 512-522.
- Seviour, R.J., Mino, T. y Onuki, M. (2003). The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems. *FEMS Microbiology Reviews* 27 (1). 99-127.
- Smolders, G.J.F. (1995). *A metabolic model of the biological phosphorus removal. Stoichiometry, kinetics and dynamic behavior*. Tesis de doctorado. Delft, University of Technology. Delft, Países Bajos
- Sudiana, I.M., Mino, T., Satoh, H., Nakamura, K., Matsuo, T. (1999). Metabolism of enhanced biological phosphorus removal and non- enhanced biological phosphorus removal sludge with acetate and glucose as carbon source. *Water Science and Technology*. 39, 29-35.
- Thomas, M., Wright, P., Blackall, L.L., Urbain, V., Keller, J. (2003). Optimization of Noosa BNR plant to improve performance and reduce operating costs. *Water Science and Technology*. 47, 141-148.
- van Loosdrecht, M.C.M., Hooijmans, C.M., Brdjanovic, D., Heijnen, J.J. (1997). Biological phosphorus removal processes: a mini review. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 48, 289-296.
- Vielma K. Estudio de Factibilidad de Tratamiento Biológico de las Aguas de Producción de la Formación Bachaquero. Trabajo de Grado. División de Postgrado. Facultad de Ingeniería. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela, 1993.
- Whang, L.M., Park, J.K. (2006). Competition between polyphosphate- and glycogen- accumulating organisms in enhanced biological phosphorus removal systems: effect of temperature and sludge age. *Water Environment Research*. 78 (1), 4-11.

Yunfeng, X., Hui, H., Jianyong, L., Jinghuan, L., Guangren, Q., Aijie, W. (2015). pH dependent phosphorus release from waste activated sludge: contributions of phosphorus speciation. *Chemical Engineering Journal* 267, 260-265.

Zhou, Y., Pijuan, M., Zeng, R., Huabing, L., Yuan, Z. (2008). Could polyphosphate-accumulating organisms (PAOs) be glycogen-accumulating organisms (GAOs)? *Water Research*. 42 (10-11), 2361-2368.

ANEXOS

Anexo 1. Composición del agua residual sintética en RBS-AB

Medio		
Nombre	Composición	Concentración nominal (mg/L)
Fosfato de potasio monobásico	KH_2PO_4	12
Allythiourea		5
Cloruro de calcio bi hidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	14
Extracto de levadura		1
EDTA		1
Acetato sódico	CH_3COONa	641
Cloruro de amonio	NH_4Cl	107
Sulfato de magnesio hepta hidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	90
Cloruro de potasio	KCl	36
Cloruro de hierro hexa hidratado	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5
Solución de elementos traza (mL/L)		3

Elementos traza

Nombre	Composición	mg/L
Ácido bórico	H_3BO_3	150
Sulfato de zinc hepta hidratado	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	120
Cloruro de manganeso tetra hidratado	$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	120
Sulfato cúprico penta hidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	30
Yoduro de potasio	KI	180
Molibdato de sodio bi hidratado	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	60
Cloruro de cobalto hexa hidratado	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	150

Anexo 2. Protocolo No. 5 de seguimiento en RBS-AB

4 L purga RA y RB sin pausar aireación			DQOt	P-tot	DQOs	Orto-PO4	NO3	N-NH3
muestrear 50 mL	M0	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X				
		Filtrar y sin diluir			X	X	X	X
Tomar 3800 mL de licor mixto y concentrar a 1260 mL								
Respirometro								
Del concentrado poner 180 mL en R1, R3 y R4; y 210 mL en R2								
R1, R3 y R4 añadir 470 ml agua llave y 50 mL de agua residual	R2 añadir 560 mL agua llave y 58 mL de agua residual	<ul style="list-style-type: none"> - Poner baño - Mezcladores - Sondas - Desconectar bombas de aire - Poner sonda de O2 - Iniciar software 						
t=0	M1	Filtrar y sin diluir			X	X		X
t= 5 min	M2	Filtrar y sin diluir			X	X		
t= 20 min	M3	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X				
		Filtrar y sin diluir			X	X		
t= 35 min	M4	Filtrar y sin diluir			X		X	
t= 1 h	M5	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X				
		Filtrar y sin diluir			X	X		
t= 1h 30 min	M6	Filtrar y sin diluir			X	X	X	X
Empezar fase aerobia Conectar aireador ON/OFF								
t= 1h 40 min	M7	Filtrar y sin diluir			X	X		
t= 1h 50 min	M8	Filtrar y sin diluir			X	X		
t= 2h	M9	Filtrar y sin diluir			X	X		
t= 2h 15 min	M10	Filtrar y sin diluir			X	X	X	X
t= 2h 30 min	M11	Filtrar y sin diluir			X	X		
t=3h	M12	Filtrar y sin diluir			X	X	X	X
t= 4h	M13	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X				
		Filtrar y sin diluir			X	X		
t= 5h	M14	Filtrar y sin diluir			X	X	X	
t= 6h	M15	Filtrar y sin diluir			X	X	X	X
t= 24h	M16	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X				
		Filtrar y sin diluir			X	X	X	X

Anexo 3. Protocolo No. 6 de seguimiento en RBS-AB

4 L purga RA y RB sin pausar aireación			DQOt	P-tot	DQOs	Orto-PO4	NO3	N-NH3	pH	
muestrear 50 mL	↓	M0	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X				X	
			Filtrar y sin diluir			X		X		X
			Filtrar y diluir 1+1				X			
Tomar 3800 mL de licor mixto y concentrar a 1260 mL										
↓		Respirometro								
Del concentrado poner 180 mL en R1, R3 y R4; y 210 mL en R2										
↓	↓		R1, R3 y R4 añadir 470 ml agua llave y 50 mL de agua residual							
			R2 añadir 560 mL agua llave y 58 mL de agua residual							
			<ul style="list-style-type: none"> - Poner baño - Mezcladores - Sondas - Poner sonda de O2 - Iniciar software Empezar fase aerobia <ul style="list-style-type: none"> - Conectar aireador ON/OFF 							
	t=0	M1	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X				X	
			Filtrar y sin diluir			X		X		X
			Filtrar y diluir 1+1				X			
	t= 5 min	M2	Filtrar y sin diluir				X	X		
	t= 20 min	M3	Filtrar y sin diluir				X	X		
	t= 1 h	M4	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					
			Filtrar y sin diluir			X		X	X	
			Filtrar y diluir 1+1				X			
	t= 1h 30 min	M5	Filtrar y sin diluir			X		X	X	X
			Filtrar y diluir 1+2			X				
			Filtrar y diluir 1+1				X			
	t= 1h 40 min	M6	Filtrar y sin diluir			X		X	X	
			Filtrar y diluir 1+2			X				
	t= 1h 50 min	M7	Filtrar y sin diluir			X				
			Filtrar y diluir 1+2			X				
	t= 2h	M8	Filtrar y diluir 1+2			X				
	t= 2h 15 min	M9	Filtrar y sin diluir			X				
	t= 2h 30 min	M10	Filtrar y sin diluir			X		X	X	
			Filtrar y diluir 1+1				X			
	t=2h 45 min	M11	Filtrar y sin diluir			X		X	X	
t= 3h	M12	Filtrar y sin diluir			X					
t= 3h 30 min	M13	Filtrar y sin diluir			X		X			
t= 4h	M14	Filtrar y sin diluir			X		X	X		
t= 5h	M15	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X						
		Filtrar y sin diluir			X		X	X		
		Filtrar y diluir 1+1				X				
t= 7h	M16	Filtrar y sin diluir				X	X	X		
t= 24 h	M17	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X						
		Filtrar y sin diluir			X		X	X		
		Filtrar y diluir 1+1				X				

Anexo 4. Protocolo No. 7 de seguimiento en RBS-AB

4 L purga RA y RB sin pausar aireación			DQOt	P-tot	DQOs	Orto-PO4	NO3	N-NH3	pH
muestrear 50 mL	M0	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					X
		Filtrar y sin diluir			X (150)		X	X	
		Filtrar y diluir 1+1				X			
Tomar 3800 mL de licor mixto y concentrar a 1260 mL									
Respirometro									
Del concentrado poner 180 mL en R1, R3 y R4; y 210 mL en R2									
R1, R3 y R4 añadir 470 ml agua llave y 50 mL de agua residual	R2 añadir 560 mL agua llave y 58 mL de agua residual	<ul style="list-style-type: none"> - Poner baño - Mezcladores - Sondas - Desconectar bombas de aire - Poner sonda de O2 - Iniciar software 							
t=0	M1	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					X
		Filtrar y sin diluir			X (1500)		X	X	
		Filtrar y diluir 1+1				X			
t= 5 min	M2	Filtrar y sin diluir					X	X	
t= 20 min	M3	Filtrar y sin diluir					X	X	
t= 1 h	M4	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					
		Filtrar y sin diluir			X(1500)		X	X	
		Filtrar y diluir 1+1				X			
t= 1h 30 min	M5	Filtrar y sin diluir			X(1500)		X	X	X
		Filtrar y diluir 1+2			X(150)				
		Filtrar y diluir 1+1				X			
Empezar fase aerobia Conectar aireador ON/OFF									
t= 1h 40 min	M6	Filtrar y sin diluir			X(1500)		X	X	
		Filtrar y diluir 1+2			X(150)				
t= 1h 50 min	M7	Filtrar y sin diluir			X(1500)				
		Filtrar y diluir 1+2			X(150)				
t= 2h	M8	Filtrar y diluir 1+2			X(150)				
t= 2h 15 min	M9	Filtrar y sin diluir			X				
t= 2h 30 min	M10	Filtrar y sin diluir			X		X	X	X
		Filtrar y diluir 1+1				X			
t=2h 45 min	M11	Filtrar y sin diluir			X				
t= 3h	M12	Filtrar y sin diluir			X				
t= 3h 30 min	M13	Filtrar y sin diluir			X		X	X	
t= 4h	M14	Filtrar y sin diluir			X				
t= 5h	M15	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					
		Filtrar y sin diluir			X		X	X	
		Filtrar y diluir 1+1				X			
t= 7h	M16	Filtrar y sin diluir					X	X	X
t= 24 h	M17	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					X
		Filtrar y sin diluir			X		X	X	
		Filtrar y diluir 1+1				X			

Anexo 5. Composición del agua residual sintética en RBS-D

Medio		
Nombre	Composición	Concentración nominal (mg/L)
Fosfato de potasio monobásico	KH_2PO_4	80
Allythiourea		5
Cloruro de calcio bi hidratado	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	14
Extracto de levadura		1
EDTA		1
Acetato sódico	CH_3COONa	641
Cloruro de amonio	NH_4Cl	107
Sulfato de magnesio hepta hidratado	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	90
Cloruro de potasio	KCl	36
Cloruro de hierro hexa hidratado	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5
Solución de elementos traza (mL/L)		3

Elementos traza

Nombre	Composición	mg/L
Ácido bórico	H_3BO_3	150
Sulfato de zinc hepta hidratado	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	120
Cloruro de manganeso tetra hidratado	$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	120
Sulfato cúprico penta hidratado	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	30
Yoduro de potasio	KI	180
Molibdato de sodio bi hidratado	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	60
Cloruro de cobalto hexa hidratado	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	150

Anexo 6. Protocolo No. 9 de seguimiento en RBS-D

			DQOt	P-tot	DQOs	Orto-PO4	NO3	N-NH3	pH
Purga de RD sin pausar aireación									
muestrear 50 mL	M0	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					X
		Filtrar y sin diluir			X (150)	X	X	X	
Pausar aireación en RD y sedimentar durante 1 h. Extraer 3.6 L de sobrenadante.									
Agregar 400 mL de agua residual sintética, 5 mL de KH ₂ PO ₄ al 5.44% y aforar el reactor. Comenzar fase anaerobia.									
t=0	M1	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					X
		Filtrar y sin diluir			X (1500)	X	X	X	
t= 5 min	M2	Filtrar y sin diluir					X	X	
t= 20 min	M3	Filtrar y sin diluir					X	X	
t= 1 h	M4	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					X
		Filtrar y sin diluir			X(1500)	X	X	X	
Empezar fase aerobia Conectar aireadores									
t= 1h 10 min	M5	Filtrar y sin diluir			X(1500)	X	X	X	
		Filtrar y diluir 1+2			X(150)				
t= 1h 20 min	M6	Filtrar y sin diluir			X(1500)				
		Filtrar y diluir 1+2			X(150)				
t= 1h 30 min	M7	Filtrar y diluir 1+2			X(150)	X			
t= 1h 45 min	M8	Filtrar y sin diluir			X				
t= 2h	M9	Filtrar y sin diluir			X	X	X	X	X
t=2h 15 min	M10	Filtrar y sin diluir			X				
t= 2h 30 min	M11	Filtrar y sin diluir			X				
t= 3h	M12	Filtrar y sin diluir			X		X	X	
t= 3h 30 min	M13	Filtrar y sin diluir			X				
t= 4h 30 min	M14	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					
		Filtrar y sin diluir			X	X	X	X	
t= 6h 30 min	M15	Filtrar y sin diluir					X	X	X
t= 24 h	M16	Sin filtrar y diluir 1+2	X	X					X
		Filtrar y sin diluir			X	X	X	X	

Anexo 7. Nitrógeno que se incorpora a la biomasa en el sistema RBS-D

El nitrógeno que se incorpora a la biomasa (f_N) se considera de $f_N = 0.1 \frac{\text{mg N}}{\text{mg SSV}}$, el cual queda dentro del rango que recomiendan Metcalf y Eddy (2003) $(0.09 \frac{\text{mg N}}{\text{mg SSV}} - 0.12 \frac{\text{mg N}}{\text{mg SSV}})$.

La masa de SSV purgada por día es $\frac{SSVLMxV_{reactor}}{\theta_c}$, o bien, $SSVLMxV_{purga}$, sustituyendo el valor promedio de SSV de $1110 \frac{\text{mg SSV}}{\text{L}}$ y el volumen de la purga de 0.4 L, en la segunda ecuación se tiene $= 1110 \frac{\text{mg SSV}}{\text{L}} \times 0.4\text{L} = 444 \text{ mg SSV}$.

La masa total de N (masa N) incorporada es $masa N = f_N \times 444 \text{ mg SSV} = 0.1 \frac{\text{mg N}}{\text{mg SSV}} \times 444 \text{ mg SSV} = 44.4 \text{ mg N}$.

En términos de concentración (C_N) respecto al influente $C_{N \text{ asimilado}} = \frac{masa N}{V_{reactor}} = \frac{44.4 \text{ mg N}}{6 \text{ L}} = 7.4 \frac{\text{mg N}}{\text{L}}$.

Es decir, un equivalente de $7.4 \frac{\text{mg N}}{\text{L}}$ pasa por vía asimilación y no por vía de nitrificación.

Anexo 8. Seguimiento de los RBS A y B.

Fecha	LICOR MIXTO										EFLUENTE														
	SST (mg/L)		SSV (mg/L)		DQOT (mg/L)		DQOs (mg/L)		IVL (mL/g)		DQOT (mg/L)		Temperatura °C		pH		Turbidez (UTN)		Conductividad µS/cm		SST (mg/L)		SSV (mg/L)		
	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	
09/06/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	20.8	8.14	8.47	-	-	1500	1296	-	-	-	-
11/06/14	1060	1080	913	900	1199	1232	56	46	-	-	-	-	-	-	-	8.17	8.5	-	-	1479	1284	-	-	-	-
16/06/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17/06/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	-	8.04	-	-	-	1322	-	-	-	-
24/06/14	-	-	-	-	2180	1451	-	-	-	-	-	-	22	22.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10/07/14	-	-	-	-	2190	1935	42	22	47	62	-	-	21.5	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08/08/14	1453	1840	1227	1540	1790	1887	21	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21/08/14	-	-	-	-	3030	3038	32	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04/09/14	1873	-	1647	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.4	22.8	9.07	-	-	-	-	1376	-	-	-	-	-
19/09/14	1140	1553	960	1393	1190	1779	12	5	31	24	-	-	21.8	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22/09/14	-	-	-	-	2085	1887	-	-	-	-	-	-	21.8	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23/09/14	1527	1580	1387	1400	1854	1772	13	14	31	38	-	-	22	22.3	8.9	9	-	-	-	1226	-	-	-	-	-
25/09/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.8	23	9.14	9.13	0.6	0.8	1337	1323	-	-	-	-	-
26/09/14	1293	1427	1107	1160	1455	1662	36	29	41	43	-	-	22.3	22.5	9.1	9.15	0.5	0.4	1316	1334	-	-	-	-	-
29/09/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.5	23	9.16	9.18	1.36	1.23	1356	1346	-	-	-	-	-
30/09/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.8	23	9.26	9.15	0.88	0.89	1213	1216	-	-	-	-	-
01/10/14	1227	1427	1100	1173	1412	1743	21	8	-	-	-	-	23	23	9.08	9.07	0.6	0.75	1257	1289	-	-	-	-	-

02/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	22.5	8.2	8.29	0.55	0.78	1201	1150	-	-	-	-
03/10/14	1460	1440	1193	1213	1614	1605	15	16	42	43	-	-	22	22.8	9.08	9.1	0.58	0.62	1310	1300	-	-	-	-
06/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	22	-	-	2.5	2.45	-	-	-	-	-	-
07/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.8	23	9.01	9.03	1.02	1.46	1280	1289	-	-	-	-
08/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.99	9.06	0.48	0.6	1362	1364	-	-	-	-
09/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	23	9.08	9.07	0.41	0.46	1385	1395	-	-	-	-
10/10/14	1440	1380	1180	1133	1791	1556	21	16	42	41	-	-	22.5	23	9.04	9.04	0.85	0.93	1386	1375	42	53	27	38
14/10/14	1373	1380	1180	1160	1565	1622	10	4	34	31	13	19	21.2	22	8.85	8.94	0.97	1.06	1361	1345	17	15	2	0
15/10/14	-	-	-	-	1754	1691	-	-	-	-	-	-	-	-	9.19	9.25	0.65	0.55	1390	1391	-	-	-	-
21/10/14	1440	1500	1187	1193	1638	1646	16	-	31	30	-	-	20.8	21.2	9.22	9.23	2.65	1.76	1330	1331	-	-	-	-
23/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20.7	22	9.18	9.26	0.97	1.28	1409	1419	-	-	-	-
24/10/14	1427	1440	1213	1153	1679	1668	10	-	-	-	-	16	20.7	22	9.23	9.15	1.58	1.06	1407	1414	76	64	-	-
25/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.7	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27/10/14	1313	1287	1160	1127	-	-	-	-	-	-	-	-	21.5	22	-	-	-	-	-	-	69	91	53	56
28/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22.2	22.2	8.99	9	2.9	2.73	1312	1302	-	-	-	-
30/10/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31/10/14	1307	1347	1153	1160	1583	1539	-	-	-	-	-	-	20.6	20.9	-	-	-	-	1419	1420	-	-	-	-
01/11/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20.7	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
03/11/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
04/11/14	1307	1320	1127	1127	1451	1434	-	-	-	-	-	-	20	20	8.85	8.82	1.24	1.03	1276	1248	69	42	33	22
07/11/14	1200	1227	1020	1027	1412	1484	34	14	44	43	35	32	22.1	22.1	8.91	8.9	1.31	1.43	1395	1382	120	107	47	33

13/11/14	1213	1180	1133	1040	1530	1521	23	18	-	-	38	43	20.8	21	9.13	9.04	1.12	1.21	1275	1269	-	-	-	-
14/11/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21.8	21.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21/11/14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.5	19.9	8.96	8.93	1.12	1.28	1475	1488	-	-	-	-
25/11/14	1240	1280	1080	1127	1572	1569	38	38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47	71	20	27
28/11/14	1287	1313	1120	1120	1523	1512	30	26	54	54	33	29	18.5	18	9.02	9.01	2.4	2.15	1383	1402	40	43	37	30
02/12/14	1247	1280	1080	1093	1352	1421	32	20	-	-	-	-	19	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
05/12/14	1327	1327	1113	1153	1446	1411	-	16	49	51	32	39	18.7	18.9	9	8.9	-	-	1409	1453	47	40	31	27
09/12/14	1193	1253	987	1047	1374	1386	8	14	-	-	-	-	18	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16/12/14	1473	1413	1173	1067	1497	1523	28	19	-	-	32	39	18.5	18.5	8.88	8.93	2.8	2.18	1251	1251	111	62	18	4
19/12/14	1467	1447	1293	1247	-	-	-	-	-	-	-	-	18.5	19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
08/01/15	1307	1220	1187	1027	1478	1464	8	6	-	-	-	-	19.8	20	9.05	9.07	1.35	1.3	1285	1285	-	-	-	-
13/01/15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16/01/15	1167	1100	1053	980	1506	1404	12	18	-	-	-	-	21	21	9.2	9.1	2.4	1.8	1417	1411	-	-	-	-
23/01/15	1167	1120	907	890	1267	1301	8	22	-	-	46	45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26/01/15	-	-	-	-	-	-	-	-	78	80	-	-	20.2	20.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27/01/15	1053	1047	773	793	-	-	-	-	-	-	-	-	20	20.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30/01/15	1193	1187	1033	1053	1218	1264	2	8	-	-	-	-	20.3	20.7	9.03	9.04	2.69	1.44	1395.0	1383	47	38	36	27
05/02/15	1160	1120	1067	1007	1283	1290	24	11	-	-	-	-	21.8	22	-	-	-	-	-	-	82	82	49	47
13/02/15	1220	1180	1160	1093	1233	1260	25	13	79	84	40	37	19.3	19.2	8.97	9.03	3.3	2.78	1350.00	1340	40	-	27	-
20/02/15	1073	1107	780	887	1302	1330	31	-	-	-	37	33	-	-	-	-	-	-	-	-	18	16	0	4
27/02/15	1020	1113	893	873	1288	1343	21	11	-	-	18	30	-	-	9.17	9.14	1.68	1.38	1292.00	1287	24	58	2	24

06/03/15	1147	1073	1040	967	-	-	-	-	-	-	-	-	21	22	9.11	9.14	1.35	1.42	1276.00	1248	35	17	23	0
13/03/15	1193	1233	1013	1040	1498	1453	20	24	-	-	-	-	18	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20/03/15	1193	1173	1053	1013	1489	1480	18	13	-	-	30	29.5	21	22.2	9.03	8.95	1.92	1.33	1261.00	1255	41	39	17	9
27/03/15	1307	1333	1167	1160	1524	1509	27.5	10	-	-	37.5	23	19.8	19	8.98	9.01	3.98	3.1	1251.00	1247	53	49	44	39
10/04/15	1213	1087	927	887	1571	1480	-	20.5	58	64	51.5	49	21.5	21.5	9.02	9.03	4.09	3.98	1240.00	1256	19	28	5	16
17/04/15	1247	1260	1060	1033	1539	1548	4.5	8	-	-	59	42	20.2	22	8.94	8.94	2.72	2.36	1240.00	1266	72	41	43	19
24/04/15	1247	1213	1093	1040	1629	1518	6	10.5	-	-	45	47	22	21.8	9.06	8.94	1.73	1.92	1379.00	1343	29	32	1	7
30/04/15	1413	1200	1207	1027	-	-	-	-	-	-	-	-	20	19.8	9.01	9.04	2.52	1.27	1316.00	1335	-	-	-	-

Mes	LICOR MIXTO										EFLUENTE														
	SST (mg/L)		SSV (mg/L)		DQOT (mg/L)		DQOs (mg/L)		IVL (mL/g)		DQOT (mg/L)		Temperatura °C		pH		Turbidez (UTN)		Conductividad µS/cm		SST (mg/L)		SSV (mg/L)		
	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA	RB	RA
06/14	1060	1080	913	900	1690	1342	56	46	-	-	-	-	21.5	22.7	8.15	8.33	-	-	1489.5	1300.67	-	-	-	-	
07/14	-	-	-	-	2190	1935	42	22	47	-	-	-	21.5	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
08/14	1453	1840	1227	1540	2410	2463	26.5	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
09/14	1458	1520	1275	1318	1646	1775	20.3	34.3	-	-	-	-	22.3	22.58	9.10	9.12	-	-	-	-	-	-	-	-	
10/14	1373	1400	1171	1164	1630	1634	3	16	3	35	-	-	21.79	22.23	5	2	0.835	0.83	1319.6	1289	-	-	-	-	
11/14	1249	1264	1096	1088	1498	1504	31.2	5	24	49	48.5	13	17.5	20.55	20.56	9.01	9.03	1343.5	1341.71	51	5	55.7	27.3		
12/14	1341	1344	1129	1121	1417	1435	22.6	17.2	49	51	32	39	18.54	18.68	8.97	8.94	1.438	1.42	1360.8	1357.8	69	5	65.7	34.2	
01/15	1177	1135	6	6	1367	1358	7	5	78	80	46	45	20.26	20.5	4	8.94	8.91	2.147	1.513	1365.67	1359.67	47	38	5	28
02/15	1118	1130	975	965	1277	1306	25.2	11.6	79	84	31.6	33.3	20.55	20.6	3	9.07	9.08	2.49	2.08	1321	1313.5	41	52	19.5	25
03/15	1210	1203	1068	1045	1504	1481	21.8	15.6	-	-	33.7	26.2	19.95	20.3	5	9.03	9.03	2.417	1.95	1262.67	1250	43	35	28	16
04/15	1280	1190	1072	8	1580	1515	3	7	-	-	51.8	5	20.93	21.28	9.00	8.98	2.417	1.95	1262.67	1250	43	35	28	16	
							24.8	19.2	53.9	56.9	34.5				8.93	8.94					52.8	47.3	26.5		
Promedio	1272	1311	1092	1109	1655	1613	9	8	5	6	34.8	4	20.79	21.14	3	7	2.011	1.692	1342.94	1318.26	6	1	6	22.4	
Desviación estándar	135.	230.	113.	194.	345.	339.	14.5	9.89	16.8	19.7	12.3	10.1			0.29	0.23					15.1	12.0	7.18		
Coefficiente de variabilidad	0.11	0.18	0.10	0.18	0.21	0.21	0.59	0.51	0.31	0.35	0.35	0.29	0.05	0.06	0.03	0.03	0.38	0.32	0.05	0.03	0.29	0.25	0.27	0.31	

Anexo 9. Resultados de las corridas 1, 2 y 3 en los reactores A y B.
- Corrida 1 (Protocolo 5)

TIEMPO (hr)	DQO sol mg/L	Ortofosfatos solubles (mg P/L)	Nitrógeno amoniacal (mg N/L)	Nitratos (mg N/L)
licor no concentrado	45	0.91	-	-
0.00	396	2.54	19	2.79
0.08	387	2.46	-	-
0.33	379	2.44	-	-
0.63	347	2.53	-	0.06
1.00	329	2.65	-	-
1.50	294	3.01	16	0.065
1.67	276	2.43	-	-
1.83	241	2.45	-	-
2.00	217	2.59	-	-
2.25	30	2.60	15.8	0.146
2.50	0	2.46	-	-
3.00	16	2.56	13.8	0.52
4.00	41	2.07	-	-
5.00	39	1.33	-	1.69
6.00	41	1.17	9.1	2.3
23.08	30	0.90	0.8	8.27

- Corrida 2 (Protocolo 6)

TIEMPO (hr)	DQO sol mg/L	Ortofosfatos solubles (mg P/L)	Nitrógeno amoniaco (mg N/L)	Nitratos (mg N/L)	pH
licor no concentrado	2	1.27	0	12.6	8.96
0.00	344	2.05	16.7	4.2	8.85
0.08	-	-	16.1	4.47	-
0.33	-	-	15.7	4.21	-
1.00	25	1.93	15.4	4.32	-
1.50	24.5	1.83	14.2	4.85	9.06
1.67	32	-	13.2	4.94	-
2.00	23	-	-	-	-
2.50	-	1.49	11.3	5.26	8.83
3.00	0	-	-	-	-
3.50	-	-	9.4	6.05	-
5.00	15	1.11	6.6	6.57	-
6.50	-	-	4.3	8.26	8.23
24.25	21	0.74	0	14.5	9.08

- Corrida 3 (Protocolo 7)

TIEMPO (hr)	DQO sol mg/L	Ortofosfatos solubles (mg P/L)	Nitrógeno amoniaco (mg N/L)	Nitratos (mg N/L)	pH
licor no concentrado	32	1.33	0	2.23	8.95
0.00	366	1.74	16.8	0	8.77
0.13	-	-	15.8	0	-
0.33	-	-	15.65	0	-
1.00	313	1.64	15.1	0	-
1.50	291.75	1.62	14.6	0	-
1.67	241.33	-	-	-	-
1.83	188	-	-	-	-
2.00	117	-	-	-	-
2.50	26.5	1.74	13.7	0	9.15
2.75	46.5	-	-	-	-
3.00	26	-	-	-	-
3.50	37	-	10.6	1.32	-
4.00	47	-	-	-	-
5.00	40	1.14	7.3	2.68	-
6.80	-	-	4.1	4.21	8.53
24.50	36.5	0.74	0	7.98	9.03