



TESIS DOCTORAL

JUAN BAUTISTA GIMÉNEZ GARCÍA

ESTUDIO DEL TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES URBANAS EN BIORREACTORES DE MEMBRANAS



TESIS DOCTORAL
JUAN BAUTISTA GIMÉNEZ GARCÍA

Dirigida por: Dra. Aurora Seco Torrecillas
Dra. Nuria Martí Ortega



2014

VALENCIA, 2014



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria **ETSE-UV** 



Departament d'Enginyeria Química

**Estudio del tratamiento anaerobio de aguas residuales
urbanas en biorreactores de membranas.**

Memoria que, para optar al grado de Doctor por la Universitat de València, presenta
JUAN BAUTISTA GIMÉNEZ GARCIA.

Valencia, 2014

Directoras: Dra. Aurora Seco Torrecillas

Dra. Nuria Martí Ortega

Portada diseñada por Elisa López Carcel.

AGRADECIMIENTOS

La ciencia es la búsqueda de la naturaleza del ser humano y de todo lo que lo rodea; Es la herramienta de la que se sirve la humanidad para progresar, entendiendo por progreso el sentido de mejora en la condición humana. Según el naturalista Charles Darwin, “sin duda no hay progreso”, y esto es porque sin duda, no hay ciencia. Para poder hacer ciencia, es necesario poseer la curiosidad suficiente cómo para detenerse a observar, y el espíritu crítico necesario para pretender comprender los mecanismos que rigen aquello que observamos. La curiosidad nace del amor y el respeto hacia nosotros mismos y lo que nos rodea, mientras que el espíritu crítico tiene su origen en la visión nítida y desinteresada del que pretende entender y mejorar lo que ama y respeta; En definitiva, del que tiene afán por progresar. Es por esto que todo científico debería tener como objetivo progresar, comenzando por plantearse la duda de cómo ser mejor.

No obstante, en estas primeras líneas quiero expresar mi más profundo agradecimiento a todos aquellos que, voluntaria o inconscientemente, han sembrado en mí esta duda, porque también han sembrado el amor y el respeto por todo lo que me rodea, así como el afán por mejorar día a día.

En primer lugar, quiero agradecer a las doctoras Aurora Seco Torrecillas y Nuria Martí Ortega la confianza depositada en mí y la diligencia con la que, desde mi humilde opinión, han sabido dirigir este proyecto de tesis doctoral. Gracias por permitirme beber de la fuente de vuestra experiencia y sabiduría, que han hecho que aprender se convierta en una tarea gratificante.

Al doctor José Ferrer Polo por su inestimable aportación a esta tesis, por su inspirador interés por todo lo que le rodea, y por su contagiosa energía y entusiasmo al abordar cualquier tema que se le plantea.

Al Ministerio de Innovación y Ciencia, por el respaldo económico recibido durante estos cuatro años.

A la Universitat de València y a su Departamento de Ingeniería Química, por su cálida acogida durante estos años y por darme la oportunidad de descubrir la experiencia de la docencia universitaria.

A la Delft University of Technology, especialmente a los doctores Jules B. van Lier y Henri Spanjers, por permitirme comprender la importancia de colaborar para el progreso, y por hacerme sentir como en casa. Dank U well.

A mis compañeros del grupo de investigación Calagua, del que me siento orgulloso de formar parte, por arrojarme desde el inicio de mis andanzas en el mundo de la investigación:

A Ángel, Freddy y Laura C., con los que he compartido interminables jornadas en la planta, en las que hemos vivido tanto momentos de preocupación como de satisfacción intensa. En todos esos momentos me he sentido tranquilo por estar bien acompañado. Muchas gracias.

A Marcela, Vicky y Emérita por darme la mano para subir a este barco y por ayudarme a perder el miedo a afrontar los retos...y no me refiero únicamente a desmontar equipos.

A Alberto, Josep, Luis, Paqui, Joaquín, Daniel y Ramón por estar siempre dispuestos a atenderme, escucharme y hacer tuyas las dudas que se me han ido planteando durante el desarrollo de esta tesis, haciendo siempre gala de una profesionalidad excepcional y una calidad humana extraordinaria.

A Javier C., Laura S., Javier E., Ana R., Rafa, Brenda y Luisa, con los que no he tenido el placer de compartir proyecto, pero sí un objetivo y muchos momentos llenos de buen humor y compañerismo.

A Ana María, Sara y Berta, por estar siempre dispuestas a echar una mano, haciendo mucho más llevadero el trabajo en el laboratorio.

A Antonio, Dani, Joana, Mónica, Patricia, Silvia, Ruth, Álex y Tao por estar siempre dispuestos a echar una mano y unas risas.

A mis eternos amigos, Jorge M., Jorge G., Jose María, Salva, Sergi, Jordi, Carlos, y Edu, por contar siempre conmigo a pesar de la distancia y las largas ausencias, y por recibirme siempre con una sonrisa bien cálida y una cerveza bien fría.

A mi amigo Bernabé, por ser el espejo en el que sé que puedo mirarme sin engaños.

A mi querida Elisa, cuya madre comió tomates de la misma tomatera que la mía, por estar siempre a mi lado.

A mi familia y a Charlie, porque el amor y el respeto que me alienta a mejorar es, indudablemente, el que siento hacia vosotros.

RESUMEN

RESUMEN

Las aguas residuales urbanas (ARU) constituyen la fuente puntual de contaminantes más importante a escala global. Actualmente, un elevado porcentaje de las aguas residuales producidas a nivel mundial son vertidas al medio sin haber recibido ningún tipo de tratamiento, con consecuencias inmediatas, y en algunas ocasiones desastrosas, para la salud pública y la calidad del entorno natural.

El tratamiento anaerobio está considerado como una de las alternativas más atractivas para el desarrollo de sistemas sostenibles de tratamiento de aguas residuales que ayuden a mitigar los efectos negativos de la urbanización y del desarrollo socioeconómico. El atractivo de estos sistemas reside en su mayor sostenibilidad, menor coste económico y energético, y menor impacto ambiental, comparado con los sistemas de tratamiento aerobios en los que se fundamenta el modelo actual de tratamiento de aguas residuales.

Este tipo de sistemas pueden ser operados bajo configuraciones con demandas energéticas neutras o incluso negativas, dado que, por una parte, no requieren de un aporte energético para aireación, y por otra, poseen la capacidad de recuperar parte de la energía contenida en la materia orgánica en forma de metano. Adicionalmente, los organismos que intervienen en la degradación anaerobia de la materia orgánica se caracterizan por poseer un bajo rendimiento celular, por lo que la producción de fangos en sistemas de tratamiento anaerobio de aguas residuales es muy inferior a la de sus análogos aerobios.

Los elevados caudales y bajas concentraciones de DQO típicas de las aguas residuales urbanas, junto con las reducidas velocidades de crecimiento de los microorganismos que llevan a cabo la degradación anaerobia de la materia orgánica a temperaturas típicas de climas templados de latitudes medias, exigen el desarrollo de sistemas que permitan combinar elevados tiempos de retención celular con tiempos de retención hidráulicos reducidos, mediante la aplicación de métodos que faciliten la retención de la biomasa en el interior del sistema.

Entre los diferentes sistemas anaerobios que cumplen con estas características, los biorreactores anaerobios de membranas (AnMBR) destacan por su excelente capacidad para

retener el material particulado en el interior del sistema, permitiendo alcanzar elevados tiempos de residencia que compensen la reducida velocidad de crecimiento de los diferentes grupos de microorganismos, incluso al operar el sistema a baja temperaturas, y ofreciendo un efluente con elevada calidad y libre de patógenos.

Como consecuencia del creciente interés suscitado por los AnMBR dentro de la comunidad científica, las referencias bibliográficas sobre este tipo de sistemas se han multiplicado en los últimos años. Sin embargo, la mayoría de estos estudios se han desarrollado en sistemas a escala laboratorio o piloto, utilizando aguas residuales sintéticas, por lo que la escalabilidad y reproducibilidad de los resultados obtenidos resulta cuestionable. Así pues, para poder avanzar en la implantación de este tipo de sistemas a escala industrial, es necesario disponer de datos del funcionamiento del proceso que proporcionen una base fiable sobre la que escalar el proceso de forma directa.

El objetivo principal de esta tesis ha sido evaluar la influencia de diferentes parámetros operacionales (tiempo de retención hidráulico y celular, y temperatura) sobre el funcionamiento del proceso de tratamiento anaerobio de ARU en AnMBR. Para ello se operó una planta AnMBR a escala demostración, tratando ARU real procedente de la estación depuradora de aguas residuales del Barranco del Carraixet (Valencia), durante un periodo total de más de 700 días de operación, que se subdividió en 10 periodos en función de las condiciones operacionales seleccionadas.

Una vez alcanzado el estado *pseudo-estacionario* en cada periodo, se caracterizó el funcionamiento del proceso mediante la obtención de diferentes parámetros indicadores (eficiencia de eliminación de DQO, producción de fangos, producción de metano y eficiencia de recuperación de metano), cuya selección se basó en las ventajas asociadas a los AnMBR con respecto a los sistemas aerobios convencionales para el tratamiento de ARU.

RESUM

Les aigües residuals urbanes (ARU) constitueixen la font puntual de contaminants més important a escala global. Actualment, un percentatge elevat de les aigües residuals produïdes a nivell mundial, encara son vessades al medi sense haver rebut cap tipus de tractament, amb conseqüències immediates, i en algunes ocasions desastroses, per a la salut pública i la qualitat de l'entorn natural.

El tractament anaerobi està considerat com una de les alternatives més atractives per al desenvolupament de sistemes sostenibles de tractament d'aigües residuals que ajuden a mitigar els efectes negatius de la urbanització i del desenvolupament socioeconòmic. L'atractiu d'aquests sistemes resideix en la seva major sostenibilitat, menor cost econòmic i energètic, i menor impacte ambiental, comparat amb els sistemes de tractament aerobis en els que es fonamenta el model actual de tractament d'aigües residuals.

Aquest tipus de sistemes poden ser operats sota configuracions amb demandes energètiques neutres o inclòs negatives, donat que, d'una banda no requereixen d'una aportació energètica per a aireig, i d'altra posseeixen la capacitat de recuperar part de l'energia continguda a la matèria orgànica en forma de metà. Addicionalment, els organismes que intervenen a la degradació anaeròbia de la matèria orgànica es caracteritzen per posseir un rendiment cel·lular reduït, per la qual cosa la producció de fangs a sistemes de tractament anaerobi d'aigües residuals és molt inferior que als seus anàlegs aerobis.

Les elevades taxes de producció i baixes concentracions de DQO típiques de les ARU, junt amb les reduïdes velocitats de creixement dels microorganismes que duen a terme la degradació anaeròbia de la matèria orgànica a temperatures típiques de climes temperats de latituds mitges, exigeixen el desenvolupament de sistemes que permeten combinar elevats temps de retenció cel·lular amb temps de retenció hidràulic reduïts, mitjançant l'aplicació de mètodes que faciliten la retenció de la biomassa a l'interior del sistema.

Entre els diferents sistemes anaerobis capaços de retenir la biomassa, els bioreactors anaeròbis de membranes (AnMBR) destaquen per la seua excel·lent capacitat per a retenir el

material particulat a l'interior del sistema, permetent assolir elevats temps de residència que compensen la reduïda velocitat de creixement dels diferents grups de microorganismes, inclòs a l'operar el sistema a baixes temperatures. A més a més, ofereixen un efluent amb elevada qualitat i lliure de patògens.

Com a conseqüència del creixent interès suscitat per els AnMBR dintre de la comunitat científica, les referències bibliogràfiques sobre aquest tipus de sistemes s'han multiplicat en els últims anys. No obstant això, la majoria d'aquests estudis s'han dut a terme en sistemes a escala laboratori o pilot, utilitzant aigües residuals sintètiques, per la qual cosa l'escalabilitat i reproductibilitat dels resultats obtinguts resulta qüestionable. Així, doncs, per a poder avançar en la implantació d'aquest tipus de sistemes a escala industrial, és necessari disposar de dades del funcionament del procés que proporcionen una base fiable sobre la qual escalar el procés de forma directa.

L'objectiu principal d'aquesta tesi ha estat avaluar la influència de diferents paràmetres operacionals (temps de retenció hidràulic i cel·lular, i temperatura) sobre el funcionament del procés de tractament anaerobi d'ARU en AnMBR. Per a això, es va operar una planta AnMBR a escala demostració, tractant ARU real procedent de l'estació depuradora d'aigües residuals del barranc del Carraixet, durant un període total de més de 700 dies d'operació, que es va subdividir en 10 períodes en funció de les condicions operacionals seleccionades.

Una vegada assolit l'estat pseudo-estacionari en cada període, es va caracteritzar el funcionament del procés mitjançant l'obtenció de diferents paràmetres indicadors (eficiència d'eliminació de DQO, producció de fangs, producció de metà i eficiència de recuperació de metà), la selecció dels quals es va basar en els beneficis associats als AnMBR respecte als sistemes aerobis convencional per al tractament d'ARU.

ABSTRACT

Municipal wastewater is the most important punctual source of pollutants at global scale. Currently, a high percentage of globally produced wastewaters are still discharged without any treatment, causing immediate, and sometimes disastrous, consequences for public health and environmental quality.

Anaerobic treatment is regarded as one of the most attractive options for the development of sustainable wastewater treatment systems for the mitigation of the negative effects derived from urbanization and socioeconomic development. Higher sustainability, lower economic and energetic costs, as well as a lower carbon footprint make these systems more attractive than the current aerobic-based ones.

These systems can be operated under neutral to negative energy-demand configurations, since on the one hand, an external energy input for aeration is not required, and on the other hand, a fraction of the energy contained in the organic matter can be recovered as methane. Furthermore, microorganisms involved in the anaerobic degradation of organic matter have low growth yields, producing less sludge than their aerobic analogues.

Municipal wastewater typically exhibits high flow-rates and low COD-concentrations. On the other hand, given the low growth rates of organisms carrying out anaerobic degradation of organic matter at moderate temperatures (medium latitude temperate climates), large sludge retention times are required. Therefore, the success of the anaerobic treatment of municipal wastewater at low temperature depends on an efficient uncoupling of both solids and hydraulic retention time, by means of the application of biomass retention methods.

Among the different systems able to retain biomass, anaerobic membrane bioreactors (AnMBR) exhibit an outstanding capacity for particulate matter retention. Therefore, AnMBR enable high residence times which offset the low growth rates of microorganisms, even at low temperature operation, as well as a pathogen-free, high-quality effluent.

Literature references on AnMBR have increased in recent years as a result of the growing scientific interest in this subject. However, scaling-up and reproducibility of results is still

questionable since most of these studies have been carried out treating synthetic wastewater in lab- or pilot-scale systems. Therefore, in order to increase knowledge at implementing AnMBR at industrial scale, it is necessary to have reliable process performance data that allow direct scaling-up.

The main objective of this thesis has been to evaluate the influence of different operational parameters (solids and hydraulic retention times, and temperature) over the anaerobic municipal wastewater-treatment process performance in membrane bioreactors. To this aim, a demonstration-scale AnMBR treating real municipal wastewater coming from the Barranco del Carraixet wastewater treatment plant was operated for more than 700 days. The experimental period was subdivided in 10 periods depending on the selected operational conditions.

Once a *pseudo-steady* state was achieved at each period, the process performance was characterized by means of different process performance indicators (COD removal efficiency, excess sludge production, methane production and methane recovery efficiency with biogas), which were selected based on the benefits of AnMBR compared to aerobic conventional systems for wastewater treatment.

ÍNDICE

ÍNDICE

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 NECESIDAD DE TRATAMIENTO DE LAS ARU.....	2
1.2 SITUACIÓN ACTUAL DEL TRATAMIENTO DE LAS AGUAS RESIDUALES.	3
1.3 TECNOLOGÍAS ACTUALES PARA EL TRATAMIENTO SOSTENIBLE DE LAS ARU.	4
1.4 TRATAMIENTO ANAEROBIO.	6
1.4.1 HISTORIA DE LA TECNOLOGÍA	6
1.4.2 VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL TRATAMIENTO ANAEROBIO DE LAS ARU	7
1.4.3 APLICACIONES ACTUALES DEL TRATAMIENTO ANAEROBIO.....	9
1.4.4 PROCESOS INVOLUCRADOS EN LA DEGRADACIÓN ANAEROBIA DE LA MATERIA ORGÁNICA.	16
1.4.5 MICROBIOLOGÍA DE LA DEGRADACIÓN ANAEROBIA.....	38
1.4.6 PARÁMETROS AMBIENTALES Y OPERACIONALES INFLUYENTES SOBRE LOS PROCESOS ANAEROBIOS. ...	40
1.5 TRATAMIENTO ANAEROBIO DE AGUAS RESIDUALES CON ELEVADO CONTENIDO EN SULFATO.....	54
1.5.1 PROBLEMAS ASOCIADOS CON LA REDUCCIÓN DISIMILATIVA DEL SULFATO.	55
1.5.2 COMPETICIÓN POR LOS SUSTRATOS DISPONIBLES.	56
CAPITULO 2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO	71
CAPITULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS	75
3.1 DESCRIPCIÓN DE LA PLANTA A ESCALA DEMOSTRACIÓN.	75
3.1.1 ROTOFILTRO (RF)	77
3.1.2 TANQUE DE REGULACIÓN (TR)	77
3.1.3 BIORREACTOR ANAEROBIO (RAN)	77
3.1.4 TANQUES DE MEMBRANA (TM)	77
3.1.5 TANQUE DE ALMACENAMIENTO DE PERMEADO	79
3.1.6 SISTEMA DE IMPULSIÓN DE AGUA Y FANGO.....	79
3.1.7 SISTEMA DE DISTRIBUCIÓN DE BIOGÁS	79
3.1.8 INSTRUMENTACIÓN PARA LA AUTOMATIZACIÓN Y CONTROL.....	80
3.2 OPERACIÓN DE LA PLANTA A ESCALA DEMOSTRACIÓN	81

ÍNDICE

3.3	PROGRAMACIÓN DE EXPERIMENTOS.	84
3.4	MÉTODOS ANALÍTICOS	86
3.4.1	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS VOLÁTILES DE CADENA CORTA Y ALCALINIDAD.	87
3.4.2	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN ORTOFOSFATO, NITRÓGENO AMONIA CAL Y SULFATO.	87
3.4.3	DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO.	88
3.4.4	DETERMINACIÓN DE LA DEMANDA BIOLÓGICA DE OXÍGENO.	89
3.4.5	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN NITRÓGENO TOTAL	89
3.4.6	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN FÓSFORO TOTAL	90
3.4.7	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN SÓLIDOS.	90
3.4.8	DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN SULFURO TOTAL	91
3.4.9	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CH ₄ DISUELTO EN EL EFLUENTE	93
3.5	BALANCE DE DEMANDA QUÍMICA DE OXÍGENO.	95
3.5.1	BALANCE DE DQO: VALIDACIÓN DE DATOS.	95
3.5.2	BALANCE DE DQO A UN ANMBR.	96
3.5.3	EVALUACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO DE UN BRM ANAEROBIO	105
3.6	BALANCE DE SÓLIDOS VOLÁTILES.	108
<u>CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.</u>		<u>115</u>
4.1	CARACTERIZACIÓN DEL AGUA RESIDUAL AFLUENTE	115
4.1.1	CORRELACIÓN ENTRE LA DQO _T Y LOS SST DEL AFLUENTE.	116
4.1.2	CORRELACIÓN ENTRE LA DQO _T Y LOS SV EN EL LICOR MEZCLA	123
4.2	APLICACIÓN DEL BALANCE DE DQO.	130
4.2.1	DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE SATURACIÓN DEL CH ₄ EN EL EFLUENTE.	131
4.3	PUESTA EN MARCHA DE LA PLANTA A ESCALA DEMOSTRACIÓN.	134
4.3.1	INÓCULO.	134
4.3.2	EVOLUCIÓN DEL SISTEMA DURANTE LA PUESTA EN MARCHA.	134
4.4	INFLUENCIA DEL TRH SOBRE EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA	139
4.4.1	INFLUENCIA DEL TRH SOBRE LA ELIMINACIÓN DE DQO.	145
4.4.2	INFLUENCIA DEL TRH SOBRE LA PRODUCCIÓN DE FANGOS.	148
4.4.3	INFLUENCIA DEL TRH SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO.	152
4.5	INFLUENCIA DEL TRC SOBRE EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA	163
4.5.1	INFLUENCIA DEL TRC SOBRE LA ELIMINACIÓN DE DQO.	169

ÍNDICE

4.5.2	INFLUENCIA DEL TRC SOBRE LA PRODUCCIÓN DE FANGOS.....	171
4.5.3	INFLUENCIA DEL TRC SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO.....	173
4.6	INFLUENCIA DE LA T SOBRE EL FUNCIONAMIENTO DEL SISTEMA.	179
4.6.1	INFLUENCIA DE LA T SOBRE LA ELIMINACIÓN DE DQO.	185
4.6.2	INFLUENCIA DE LA T SOBRE LA PRODUCCIÓN DE FANGOS.	191
4.6.3	INFLUENCIA DE LA T SOBRE LA PRODUCCIÓN DE METANO.....	194
4.7	INFLUENCIA DE LAS CONDICIONES OPERACIONALES SOBRE EL PROCESO DE HIDRÓLISIS.	203
4.7.1	INFLUENCIA DEL TRH SOBRE EL PROCESO DE HIDRÓLISIS.	203
4.7.2	INFLUENCIA DEL TRC SOBRE EL PROCESO DE HIDRÓLISIS.	205
4.7.3	INFLUENCIA DE LA T SOBRE EL PROCESO DE HIDRÓLISIS.	208
<u>CAPITULO 5. CONCLUSIONES.....</u>		<u>213</u>
<u>CAPITULO 6. BIBLIOGRAFÍA.....</u>		<u>227</u>
<u>ANEXO I</u>	<u>CARACTERIZACIÓN VARIABILIDAD DEL AFLUENTE.....</u>	<u>243</u>
<u>ANEXO II</u>	<u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</u>	<u>249</u>
A II.1	MÉTODOS ESTADÍSTICOS UTILIZADOS.....	249
A II.1.1	MÉTODOS GRÁFICOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO	249
A II.1.2	MÉTODOS MATEMÁTICOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO	251
A II.2	CARACTERIZACIÓN DEL AFLUENTE	267

INTRODUCCIÓN



CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

El agua es un recurso natural sobre el que se sustenta la actividad de cualquier ecosistema, afectando y trascendiendo más aspectos de la vida de los que pueden ser listados o categorizados. El agua es en sí una necesidad básica para la vida, pero también es un recurso indispensable para otras necesidades básicas. La demanda hídrica global suele desglosarse en cinco grandes sectores demandantes (Coates y otros, 2012):

- *Alimentación y agricultura*, que precisa de grandes cantidades de agua dulce para irrigación, así como de agua con buena calidad para varios procesos productivos. El consumo de agua en este sector es de aproximadamente el 70 % del consumo global, ejerciendo una de las mayores presiones sobre los recursos de agua dulce.
- *Energía*, que precisa de agua para varios procesos productivos (i.e., alimentar turbinas, refrigerar procesos térmicos, cultivo de biomasa para biocombustibles, extracción de materias primas). A su vez, los humanos precisamos de energía para hacer uso del agua: bombear, procesar o tratar en cualquier fase de su extracción, distribución y uso.
- *Industria*, que cubre un amplio rango de actividades que generan ingresos, pero que produce un impacto igual de amplio tanto en la cantidad como en la calidad de los recursos hídricos locales, y en el medio ambiente.
- *Asentamientos humanos*, en los que además de para la hidratación fisiológica (aproximadamente el 60 % en peso de nuestro cuerpo es agua), el agua es necesaria para cubrir la mayoría de las necesidades fisiológicas básicas y proporcionar un sinnúmero de beneficios adicionales. El acceso a un servicio de suministro seguro de agua potable y al saneamiento básico, es necesario para mantener la salud y el bienestar público, y el desarrollo socio-económico.
- *Ecosistemas*, que necesitan agua para su correcto funcionamiento y que a cambio proporcionan bienes y servicios medioambientales como: la producción de alimentos, madera, medicinas y fibras, la regulación climática, el reciclado de nutrientes, y la formación y deposición del suelo. El suministro de agua para su uso directo es también un servicio proporcionado por ecosistemas, tanto en términos de cantidad como de calidad, mediante su implicación en el ciclo hidrológico.

Así pues, el agua es un recurso natural cuya disponibilidad, en la cantidad y calidad adecuada, es crítica para el desarrollo socio-económico.

Al contrario que otros muchos recursos naturales, el agua es un recurso inherentemente renovable. De hecho, en el ciclo hidrológico existen mecanismos naturales de restauración del agua que han estado renovándola incesantemente desde el origen de la vida. Cuando el vertido de aguas residuales al medio excede la velocidad natural de renovación se produce el estrés hídrico (Daigger, 2008), que puede verse agravado por una mala práctica en la gestión del agua (vertido de aguas residuales sin tratar al medio acuático, alteración de los procesos de restauración natural).

A nivel mundial, entre el 90 y el 95 % de las aguas residuales producidas son vertidas al medio sin haber recibido ningún tipo de tratamiento, con consecuencias inmediatas, y en algunas ocasiones desastrosas, para la salud pública y la calidad del entorno natural.

Actualmente, el estrés hídrico afecta a una pequeña fracción de la población humana, pero se espera que afecte al 45 % de la población para 2025 (Daigger, 2007). Esta situación puede magnificarse a causa del cambio climático global, el cual está alterando los patrones de suministro y almacenamiento de agua, menoscabando la eficiencia de las infraestructuras existentes para la gestión del agua.

1.1 Necesidad de tratamiento de las ARU.

El término aguas residuales urbanas (ARU) hace referencia a las aguas residuales producidas por una comunidad y constituyen la fuente puntual de contaminantes más importante a escala global (Gijzen, 202). Según su origen, pueden distinguirse tres fracciones diferentes:

- *Agua residual doméstica*, que a su vez comprende las aguas negras generadas en aseos (orina, heces y agua de descarga de cisterna), y las aguas grises procedentes de cuartos de baño y de actividades habituales en hogares como, cocina, lavado de vajilla, etc.
- *Aguas residuales industriales*, procedentes de industrias que utilizan el mismo sistema de vertido para aguas residuales tratadas o no.

- *Agua de lluvia*, en sistemas combinados para la colección de aguas residuales y aguas de tormenta.

El caudal y composición de las ARU varía considerablemente de un lugar a otro, y depende entre otras variables del nivel económico y el comportamiento social de la comunidad que las produce, del tipo y número de industrias situadas en el área de colección, de las condiciones climáticas, y del tipo y condiciones del sistema colector (Seghezzi, 2004).

Algunos aspectos negativos del desarrollo y la urbanización pueden minimizarse, o incluso eliminarse, a través de un tratamiento holístico y racional de las aguas residuales urbanas, con beneficios directos e inmediatos sobre la calidad del medio.

El uso de tecnologías sostenibles y apropiadas para el tratamiento de ARU, puede ayudar a preservar la biodiversidad y a mantener ecosistemas (de agua dulce) saludables, que proporcionen agua limpia, medidas para el control de las inundaciones, pesca abundante, y otros servicios de interés vital para las sociedades humanas.

1.2 Situación actual del tratamiento de las aguas residuales.

A pesar de que la percepción sobre la sostenibilidad evoluciona constantemente, el diseño actual de los procesos de tratamiento de las aguas residuales todavía radica en costumbres ingenieriles establecidas a principios del siglo XX. No hay que menospreciar este tipo de procesos, dado que han aportado enormes beneficios económicos y sanitarios a la sociedad y han sido reconocidos como uno de los 20 mayores logros ingenieriles del siglo XX (Constable y Somerville, 2003). Sin embargo, a medida que nos adentramos en el siglo XXI, existe mayor consenso sobre la necesidad de adaptar las prácticas actuales a una sociedad en continuo crecimiento y con mayores estándares de vida, cuyas necesidades de recursos naturales superan los límites sostenibles (Wallace, 2005).

Los efectos más obvios del modelo actual son: i) el crecimiento generalizado del estrés hídrico (suministros hídricos insuficientes), ii) la preocupación creciente sobre el consumo de recursos (energía y reactivos químicos) y la dispersión de los nutrientes en el medio acuático, y iii) la frecuente falta de recursos económicos para proporcionar un suministro adecuado de agua

y para costear los servicios de tratamiento de los residuos generados en las instalaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas (Daigger, 2009).

El desarrollo sostenible aplicado al tratamiento de las aguas residuales implica cambiar el prisma bajo el que se observa. El modelo actual, basado en qué debe ser eliminado de las aguas residuales, debería ser sustituido por el reconocimiento de las mismas como recurso renovable. Los sistemas de saneamiento deberían empezar a ser descritos como sistemas de recuperación de recursos (SRR) de los que se pueden recuperar agua, energía, y materiales como biofertilizantes, bioplásticos, biopesticidas, biofloculantes, y otros productos de valor añadido (Kleerebezem y van Loosdrecht, 2007; Daigger, 2008; Larsen y otros, 2009; Li y Yu, 2011).

La recuperación de los recursos contenidos en las aguas residuales requiere el desarrollo, optimización y aceptación, por las partes implicadas, de tecnologías, nuevas y/o ya existentes, que lo posibiliten.

1.3 Tecnologías actuales para el tratamiento sostenible de las ARU.

Un sistema de tratamiento adecuado de las aguas residuales debería reunir los siguientes requisitos:

- Diseño simple y robusto.
- Eliminación eficiente de contaminantes.
- Bajo consumo energético.
- Elevada recuperación de recursos.
- Uso de equipamiento simple.

Estos requisitos son deseables tanto en países en vías de desarrollo, donde las tecnologías actualmente en uso en países industrializados resultan demasiado caras y complejas, como en países industrializados, donde los costes de inversión y el consumo energético deben ser reducidos, y la eficiencia de tratamiento optimizada.

Entre las tecnologías actuales para el tratamiento sostenible del ARU destacan los sistemas bioelectroquímicos y los sistemas de tratamiento anaerobio.

Los sistemas bioelectroquímicos son celdas electroquímicas que utilizan microorganismos electroquímicamente activos (con capacidad para crecer intercambiando electrones con un electrodo) como catalizadores en uno o en ambos electrodos. Las reacciones de oxidación-reducción que tienen lugar en los electrodos están catalizadas por microorganismos, mientras que los electrones son transferidos desde los sustratos oxidados hasta el ánodo del sistema bioelectroquímico, que actúa como aceptor de electrones. Posteriormente, los electrones fluyen a través de un resistor hasta el cátodo, donde el aceptor final de electrones es reducido.

Las reacciones que se llevan a cabo en el ánodo son similares en todos los sistemas bioelectroquímicos (oxidación de material orgánico o inorgánico reducido), sin embargo, en función del tipo de reacción que se lleve a cabo en el cátodo, puede distinguirse entre celdas microbianas de combustible (CMC) y celdas microbianas de electrólisis (CME). En las celdas microbianas de combustible, la reacción global es termodinámicamente favorable, por lo que se produce energía eléctrica. Por el contrario, en las celdas microbianas de electrólisis, la reacción global no es termodinámicamente favorable, sin embargo, un aporte de energía externo permite obtener productos reducidos con elevado valor añadido.

Hasta la fecha no ha sido posible obtener cátodos que permitan a las CMC reducir su resistencia interna lo suficiente como para obtener una densidad de corriente que las haga ser rentables. Sin embargo, la rentabilidad de las CME ya ha sido demostrada gracias al mayor rédito de los productos con valor añadido obtenidos (Sleutels y otros, 2012). Esta diferencia en el funcionamiento puede ser explicada mediante el hecho que la densidad de corriente en CME siempre puede incrementarse mediante el incremento del voltaje externo aplicado, mientras que en CMC, la máxima densidad de corriente alcanzable está determinada termodinámicamente por la diferencia de potencial entre el ánodo y el cátodo, y además está sujeta a las pérdidas debidas a la resistencia interna.

El funcionamiento de CME a escala laboratorio puede considerarse satisfactorio, sin embargo, el escalado del proceso sigue siendo un factor crítico para convertir esta tecnología en un producto con valor comercial (Logan y otros, 2006). Por otro lado, para que las CMC resulten aplicables a nivel práctico, necesitan mejoras considerables en cuanto a la reducción de la resistencia interna y el incremento de la densidad de corriente. Una ruta alternativa plantea la combinación de obtención de energía eléctrica con productos de valor añadido, lo que restaría

importancia a la reducción de la resistencia interna desde un punto de vista económico (Sleutels y otros, 2012).

Dada la importancia del tratamiento anaerobio en el presente trabajo de investigación, se le ha dedicado especial atención, por lo que se describe con mayor detalle en el apartado siguiente.

1.4 Tratamiento Anaerobio.

1.4.1 Historia de la tecnología

La degradación anaerobia de la materia orgánica es un proceso que ocurre de manera espontánea en la naturaleza, dando lugar a gas. El gas producido, que en su mayor proporción es metano (CH_4), recibe el nombre de *gas natural* y ya fue utilizado por los pueblos chinos y persas hace miles de años como fuente de calor.

En el año 1776 el científico italiano Volta identificó la producción de CH_4 en el llamado “*gas de los pantanos*” y lo relacionó con la degradación de la materia orgánica depositada en el fondo. En 1804, Dalton estableció la composición química del CH_4 y, más tarde, Pasteur estudió el metabolismo de los microorganismos anaerobios y la dependencia de su crecimiento con la temperatura.

La utilización de la digestión anaerobia, como medio para el tratamiento de residuos, comenzó a finales del siglo XIX. En 1860, el ingeniero francés Louis H. Mouras diseñó la primera unidad de tratamiento de residuos sólidos, consistente en una cámara cerrada con sello hidráulico en la que toda la “*materia excrementicia*” era “*rápidamente transformada*”. En el año 1890, Donald Cameron diseñó una fosa séptica para tratar los residuos generados en la ciudad de Exeter (Gran Bretaña), utilizando el gas generado para iluminar parte de la ciudad.

Durante la Segunda Guerra Mundial, y debido a la escasez de combustible, la digestión anaerobia alcanzó una especial importancia como medio para obtener energía. Con el fin de la guerra y el desarrollo de la tecnología para la extracción de combustibles fósiles, el uso de la digestión anaerobia como fuente para la producción de biogás se redujo.

A partir de los años 70, el rápido incremento en los precios de combustible redujo el atractivo de los procesos aerobios para el tratamiento de aguas residuales, contribuyendo a focalizar los

esfuerzos de la investigación en este campo hacia el desarrollo de alternativas energéticamente eficientes, como el tratamiento anaerobio. En algunos casos, el tratamiento anaerobio permite operar bajo configuraciones con una demanda energética neutra o incluso negativa, dado que es posible valorizar energéticamente la materia orgánica mediante su conversión en metano (van Lier y Lettinga, 1999; Zeeman y Lettinga, 1999; Aiyuk y otros, 2004; Chu y otros, 2005; van Haandel y otros, 2006).

1.4.2 Ventajas e inconvenientes del tratamiento anaerobio de las ARU

En la Tabla 1 se resumen las principales ventajas e inconvenientes del tratamiento anaerobio de las ARU (Seghezzi, 2004), a partir de un estudio llevado a cabo por von Sperling (1996), en el que se comparan los sistemas de tratamiento de aguas residuales más comunes en países en vías de desarrollo, incluyendo lagunas de estabilización, sistemas de fangos activados, filtros percoladores, sistemas anaerobios y otros sistemas de eliminación de aplicación terrestre.

Ventajas

- *Bajo consumo energético.* No requieren aporte de oxígeno, que representa entre el 50% y el 60% del consumo energético total en una EDAR. Además, se genera una corriente de biogás que puede ser empleada como combustible para producir energía calorífica y eléctrica.
 - *Baja producción de fangos.* El rendimiento celular de los microorganismos anaerobios es bajo, en comparación con el de los aerobios. Además, el fango resultante está bien estabilizado, es fácilmente deshidratable y puede conservarse durante largos periodos manteniendo prácticamente toda su actividad, por lo que resulta adecuado como inóculo en el arranque de nuevos sistemas o en industrias con actividad por campañas.
 - *Elevada eficiencia.* Permiten alcanzar elevados rendimientos de eliminación de materia orgánica, incluso con cargas orgánicas elevadas y/o temperaturas bajas.
-

- *Simplicidad y Flexibilidad.* La construcción y operación de los reactores anaerobios es relativamente simple, por lo que pueden adaptarse a cualquier escala.
- *Bajas necesidades de espacio.* Cuando se tratan cargas elevadas, el área necesaria para el reactor es pequeña.
- *Bajas necesidades de nutrientes y reactivos químicos.* Las características del ARU permiten mantener un pH adecuado sin necesidad de añadir reactivos adicionales y cubrir las necesidades nutricionales de los microorganismos anaerobios.

Desventajas

- *Baja eliminación de patógenos y nutrientes.* La eliminación de patógenos es parcial. Para la eliminación de nutrientes resulta necesario aplicar postratamiento.
- *Largos periodos de puesta en marcha.* Cuando no existen inóculos adecuados, la puesta en marcha de los procesos anaerobios suele prolongarse más que la de los procesos aerobios, debido a las bajas velocidades de crecimiento de los microorganismos metanogénicos. Tras la puesta en marcha, suelen ser necesarios elevados tiempos de retención celular.
- *Emisión de gases de efecto invernadero.* Una fracción de los gases producidos permanecerá disuelta en el efluente, de modo que será necesario recuperarlos para evitar emisiones incontroladas a la atmósfera.
- *Corrosión y malos olores.* La reducción disimilatoria del sulfato da lugar a la formación de sulfuro, que puede ocasionar problemas de corrosión y malos olores.
- *Necesidad de postratamiento.* De forma general, resulta necesario aplicar un postratamiento al efluente de los procesos anaerobios para cumplir con los requisitos de vertido.

Tabla 1. Ventajas y desventajas asociadas al tratamiento anaerobio de ARU.

A continuación se resumen brevemente las principales características de las tecnologías anaerobias empleadas con mayor frecuencia en la actualidad.

1.4.3 Aplicaciones actuales del tratamiento anaerobio

Los diseños de reactores anaerobios empleados actualmente se basan en la capacidad de retener la biomasa bajo condiciones de carga elevada, manteniendo un contacto adecuado entre el agua residual afluyente y la biomasa retenida. Este tipo de reactores anaerobios reciben el nombre de reactores de alta carga, y son reconocidos, cada vez más, como la clave de una tecnología avanzada para la protección del medio ambiente y la conservación de los recursos. Además, en combinación con otros métodos apropiados, representan un sistema sostenible de tratamiento de aguas residuales apropiado para países en vías de desarrollo.

1.4.3.1 Digestores anaerobios

La digestión anaerobia se cuenta entre los primeros métodos utilizados para el tratamiento de las aguas residuales. Actualmente, es una de las tecnologías más empleadas para la estabilización de los fangos activados producidos en estaciones de tratamiento de ARU. En función del esquema de operación, los digestores anaerobios se pueden clasificar en:

- *Reactores mono-etapa:* Este tipo de sistema consiste en un único reactor de mezcla completa, sin separación del clarificado y el licor mezcla, en el que la concentración de cualquier componente del efluente es igual a la del interior del reactor. Este tipo de tecnología es apropiado para el tratamiento de corrientes muy concentradas (2 – 8 % en sólidos), con contenido significativo de sólidos no biodegradables. La homogeneización del digestor se consigue recirculando el propio licor mezcla, reintroduciendo el biogás producido, mediante agitación mecánica, etc. El efluente de este reactor suele ser conducido a una segunda etapa, denominado digestor secundario, donde se produce la decantación y espesado de los fangos y la separación del efluente.
- *Sistemas múltiples:* En este sistema las etapas acidogénica y metanogénica (que se describirán en el apartado 1.4.4) se llevan a cabo en diferentes compartimentos, aplicando al primer reactor (acidificación) un tiempo de residencia hidráulico inferior al tiempo de retención mínimo para permitir que se desarrollen organismos

metanogénicos. La finalidad teórica de esta separación de los procesos en dos etapas es conseguir una mayor eficacia de tratamiento, una reducción del tamaño global de la instalación y, principalmente, una mayor estabilidad del sistema.

1.4.3.2 Filtros anaerobios.

También conocido como USSB (upflow static sludge bed), este tipo de reactor de soporte fijo, consiste en un tanque cuyo interior está ocupado por un material inerte sobre el cual se forma una película de biomasa anaerobia. En aquellas situaciones en las que se produce un crecimiento excesivo de la biomasa, la película se desprende del soporte sólido y se elimina del sistema como fangos en exceso. La aplicación de este sistema es adecuada para el tratamiento de corrientes con poca cantidad de sólidos en suspensión, ya que presentan la misma problemática que el resto de reactores de lecho fijo: creación de caminos preferenciales, obstrucción y colmatación a causa de los sólidos, etc.

1.4.3.3 Reactor anaerobio de flujo ascendente.

El funcionamiento de un reactor anaerobio de flujo ascendente o UASB (upflow anaerobic sludge blanket) se basa en la formación de un denso manto de fango en la parte más profunda del reactor, donde tienen lugar todos los procesos biológicos. Este manto de fango se forma por la acumulación de los sólidos suspendidos contenidos en el afluente y el crecimiento de los microorganismos. Bajo determinadas condiciones, también se ha observado la agregación de los microorganismos en flóculos y gránulos con excelente sedimentabilidad, por lo que bajo las condiciones de operación normales del reactor no son susceptibles de ser lavados del sistema. El agua residual a tratar se hace circular en dirección ascendente a través del manto que contiene la biomasa, garantizando un contacto adecuado entre la biomasa y el agua residual.

Mediante la correcta operación de un reactor UASB, teóricamente, se podría prescindir del decantador primario, del digestor anaerobio de fangos, del reactor aerobio de fangos y del decantador secundario de una planta convencional de tratamiento aerobio de aguas residuales. Sin embargo, el efluente de reactores UASB normalmente necesita un tratamiento posterior para lograr degradar la materia orgánica, nutrientes y patógenos remanentes en el agua tratada.

1.4.3.4 Reactor anaerobio de lecho granular.

En un estudio con trazadores llevado a cabo por de Man y otros (1986), se demostró la deficiencia en la mezcla interna de un reactor UASB a escala piloto para el tratamiento de ARU operado a temperaturas de entre 4 y 20 °C, poniendo de manifiesto la existencia de zonas muertas que reducían la eficiencia del tratamiento. Como solución a este problema, se propuso mejorar la distribución del influente mediante diferentes métodos (i.e., dispositivos para la alimentación, incremento del número de puntos de alimentación por unidad de área o velocidades superficiales más elevadas), lo que supuso un mayor contacto entre la biomasa y el agua residual, y el uso de todo el volumen del reactor. La combinación de la recirculación del efluente con elevadas relaciones altura/diámetro dio lugar a los reactores de lecho granular fluidizado o EGSB (expanded granular sludge bed), en los que se aplica una mayor velocidad superficial.

En este tipo de reactores, la velocidad ascensional del líquido ($> 4\text{m}\cdot\text{h}^{-1}$), promueve la fluidización del lecho granular, eliminando las zonas muertas y dando lugar a un mejor contacto entre la biomasa y el agua residual. Mediante la fluidización del lecho granular se consigue degradar los compuestos solubles de forma eficiente y se impide la acumulación de fango floculado entre los gránulos. Sin embargo, no se consigue eliminar los sólidos suspendidos de forma eficiente debido a la elevada velocidad ascensional.

1.4.3.5 Biorreactores anaerobios de membranas.

Los biorreactores anaerobios de membranas o AnMBR (anaerobic membrane bioreactors) combinan los procesos biológicos anaerobios de degradación de materia orgánica, con un sistema físico de separación por membranas. Una membrana es un material que permite el paso de forma selectiva a algunos de los componentes físicos o químicos que componen una determinada corriente, o lo que es lo mismo, es más permeable a determinados componentes que pasan a su través (permeado), que a otros que quedan retenidos (concentrado). El grado de selectividad depende del tamaño de poro, según el cual se pueden clasificar en membranas de: microfiltración (MF; $> 0,05\ \mu\text{m}$), ultrafiltración (UF; $0,002 - 0,05\ \mu\text{m}$), nanofiltración (NF; $< 0,002\ \mu\text{m}$) y ósmosis inversa (RO; $< 0,001\ \mu\text{m}$). Las membranas con mayor tamaño de poro (MF) pueden retener material particulado, mientras que las más selectivas (RO) son

capaces de retener iones monovalentes como el sodio (Na^+) o el potasio (K^+). En la Figura 1 se presenta una clasificación de las membranas según su tamaño de poro, y se representa el grado de selectividad de cada una de ellas.

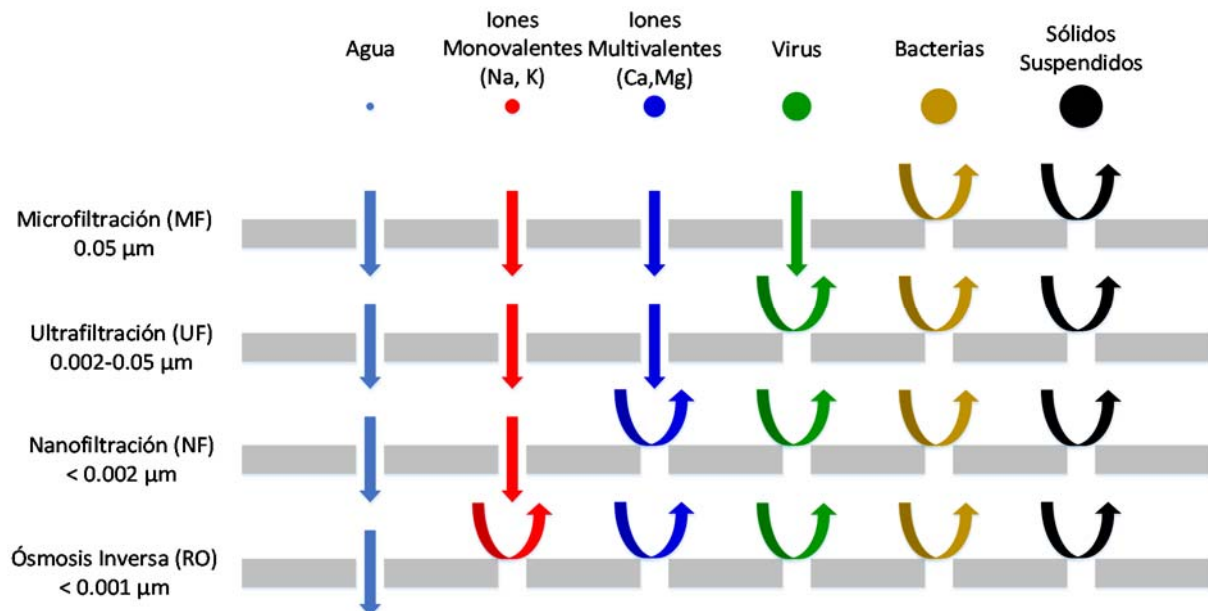


Figura 1. Clasificación de las membranas según tamaño de poro. Adaptado de Judd (2011)

El objetivo principal de esta combinación es minimizar el volumen de reacción necesario, gracias a la separación entre el tiempo de retención celular (TRC) y el hidráulico (TRH) que se consigue mediante la retención de la biomasa. De este modo, se consigue operar a TRC mayores sin necesidad de incrementar el volumen de reacción.

El uso de membranas permite que prácticamente todos los microorganismos queden confinados dentro del sistema, facilitando el control de su tiempo de permanencia en el reactor y con el beneficio añadido de proporcionar un efluente libre de material particulado y, en algunos casos (dependiendo del tamaño de poro), de virus y patógenos. Además, esta elevada retención de sólidos permite lograr una mayor biodiversidad, ya que incluso los organismos que no forman flóculos son retenidos, al contrario que en las tecnologías basadas en la separación por gravedad. Este hecho amplía y diversifica la aplicabilidad de esta tecnología para una gran variedad de aguas residuales, incluso con contaminantes persistentes o difíciles de degradar.

En comparación con otras tecnologías, los AnMBR ofrecen las siguientes ventajas:

- Efluente de alta calidad, prácticamente libre de sólidos suspendidos.
- Capacidad de desinfectar parcialmente, sin la necesidad de productos químicos.
- Control independiente del TRH y TRC, ya que hace posible un incremento del TRC sin necesidad de aumentar el volumen de reacción.
- Reducción de la extensión de terreno necesaria para la EDAR.
- Intensificación del proceso de eliminación de materia orgánica gracias a la retención de gran parte de los microorganismos presentes en el licor mezcla. Esta característica permite una mayor diversidad microbiológica, gracias a la retención de aquellas especies que presentan un crecimiento más lento o que no forman flóculos.
- Tratamiento de fracciones orgánicas recalcitrantes.

Los reactores biológicos de membranas se pueden clasificar en función de la disposición de las membranas en AnMBR de flujo tangencial, o sumergidos. Los AnMBR de flujo tangencial consisten en reactores conectados con un sistema externo de membranas de flujo tangencial (Figura 2a). La separación por flujo tangencial suele ir asociada a elevadas velocidades de flujo a través de las membranas. Estas velocidades de flujo se consiguen con elevados caudales de circulación sobre la superficie de las membranas, cuyo objetivo es reducir la acumulación de sólidos, lo cual conlleva un gran consumo energético. En los AnMBR sumergidos las membranas se encuentran inmersas en el licor mezcla, bien en el interior del propio reactor (Figura 2c), o en una unidad independiente (Figura 2b). En este tipo de configuraciones, el gradiente de presión necesario para hacer pasar el líquido a través de la membrana se consigue mediante la presión hidrostática del líquido y/o la generación de un vacío en el lado del permeado. Esta disposición de AnMBR opera a presiones transmembrana (PTM) muy inferiores a las establecidas para los sistemas de flujo tangencial, minimizando así los consumos energéticos derivados del proceso de filtración.

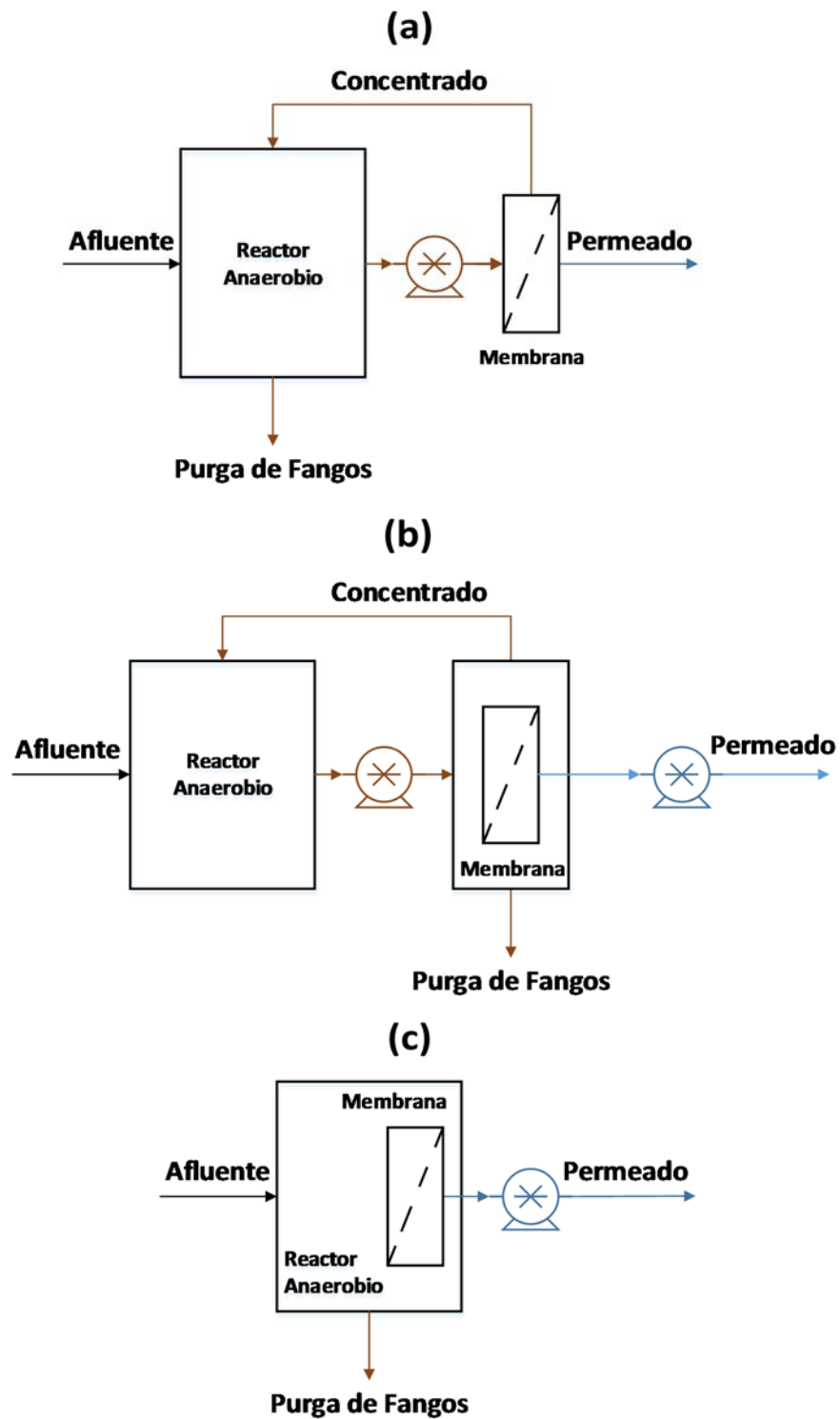


Figura 2. Esquemas de configuraciones de biorreactores anaerobios de membranas. AnMBR con membrana externa de flujo tangencial (a), membrana sumergida en tanque externo (b), y membrana sumergida (c). Adaptado de Liao y otros (2006).

El tipo de membrana de mayor implementación a escala industrial en los sistemas de tratamiento de aguas residuales es el de ultrafiltración, gracias a su gran eficacia de retención y a la elevada calidad del agua obtenida. Dentro del grupo de membranas de ultrafiltración, cabe destacar las membranas de fibra hueca sumergida, con sentido del flujo de fuera a dentro. Estas membranas presentan menores consumos energéticos y menores requisitos de limpieza y mantenimiento, que otros tipos de membranas comerciales, como las de flujo tangencial.

Los indicadores fundamentales de eficiencia del proceso de separación física para cualquier tipo de membrana son la presión transmembrana (PTM) y el flujo de permeado o flujo transmembrana que esta proporciona. Ambos parámetros están claramente condicionados por factores operacionales, tales como la concentración de sólidos del licor mezcla, las relaciones de tiempos establecidos para las diferentes etapas de funcionamiento de las membranas, la frecuencia de etapas de limpieza aplicadas sobre las membranas, el caudal de gas insuflado al tanque de membranas para minimizar el fouling sobre la superficie de las membranas, etc.

La primera implementación de la tecnología AnMBR para el tratamiento de aguas residuales encontrada en la bibliografía data de 1978 (Grethlein, 1978), este sistema consistía en un AnMBR de flujo tangencial para tratar el efluente de un tanque séptico. A comienzos de la década de 1980 se construyó el primer sistema AnMBR comercial, desarrollado por la empresa Dorr-Oliver y conocido como MARS (membrane anaerobic reactor system) (Li y otros, 1985). Posteriormente se dió a conocer el sistema ADUF (anaerobic digestion ultrafiltration) (Ross y otros, 1990).

Estos dos sistemas han sido ampliamente probados a escala piloto y a escala industrial principalmente para el tratamiento de aguas residuales industriales (Lin y otros, 2013). Durante este mismo período el gobierno de Japón inició un proyecto nacional denominado “Aqua-Renaissance ‘90” que permitió el desarrollo de una amplia variedad de sistemas AnMBR (Kimura, 1991; Minami y otros, 1991; Minami, 1994) basados principalmente en la configuración de flujo tangencial.

En la última década el desarrollo de reactores anaerobios de membranas se ha orientado hacia los AnMBR sumergidos, energéticamente más eficientes. Kubota Corporation desarrolló el sistema llamado KSAMBR que ha sido aplicado exitosamente a escala industrial para el

tratamiento de aguas residuales industrias de alimentos y bebidas (Kanai y otros, 2010). Con una tecnología similar, ADI Systems Inc. desarrolló el sistema ADI-AnMBR, específico para el tratamiento de aguas residuales de industrias alimentarias.

En la actualidad, numerosas plantas AnMBR a escala industrial son empleadas para tratar aguas residuales con alta carga orgánica (Lin y otros, 2013). Por el contrario, la aplicación de la tecnología AnMBR para tratar aguas residuales urbanas está menos extendida, limitándose a plantas a escala laboratorio o escala piloto (Skouteris y otros, 2012; Lin y otros, 2013).

1.4.4 Procesos involucrados en la degradación anaerobia de la materia orgánica.

La degradación anaerobia de la materia orgánica consta de un conjunto de transformaciones bioquímicas influenciadas por el estado físico-químico del sistema que, atendiendo a los productos formados, se pueden agrupar en: desintegración, hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis. Dichos procesos se dan de forma consecutiva, involucrando varias transformaciones bioquímicas en paralelo. Las principales transformaciones bioquímicas que se dan durante la degradación anaerobia de la materia orgánica son reacciones de fermentación o de respiración anaerobia, que forman parte de las rutas metabólicas que los diferentes microorganismos involucrados llevan a cabo para obtener energía en forma de ATP (catabolismo). La ruta seguida en cada caso, depende de la naturaleza de los aceptores de electrones presentes, y de la presión parcial de hidrógeno que prevalezca en el ecosistema.

En ausencia de compuestos inorgánicos oxidados (NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe^{3+} , etc.), los compuestos orgánicos son degradados bajo condiciones metanogénicas por un consorcio de microorganismos que incluye especies fermentativas, organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno (APOH), organismos homoacetogénicos, y organismos metanogénicos hidrogenotróficos y acetoclasticos. Los diferentes grupos de microorganismos actúan secuencialmente, de manera que los productos formados en cada etapa, actúan como sustratos para los organismos que intervienen en la etapa siguiente. Gujer y Zehnder (1983) reconocieron 6 procesos diferentes en un digestor anaerobio: desintegración e hidrólisis del material orgánico polimérico, fermentación de carbohidratos y proteínas, oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes, oxidación anaerobia de los productos intermedios (ácidos grasos volátiles de cadena corta, excepto el acetato), conversión del acetato en metano, y producción

de metano a partir de la reducción de CO_2 por H_2 . Posteriormente, Pavlostathis y Giraldo-Gómez (1991) añadieron la producción de acetato a partir de CO_2 e H_2 a la lista (homoacetogénesis), por lo que actualmente se considera que la degradación metanogénica de la materia orgánica está compuesta por 7 procesos diferentes. En la Tabla 2 se enumeran las etapas de la degradación anaerobia de la materia orgánica y los procesos que la forman.

<i>Etapa</i>	<i>Proceso</i>
<i>Hidrólisis</i>	1. Desintegración e hidrólisis de material polimérico.
<i>Acidogénesis</i>	2. Fermentación de azúcares y aminoácidos.
<i>Acetogénesis</i>	3. Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes 4. Oxidación anaerobia de productos intermedios (excepto acetato). 5. Producción de acetato a partir de CO_2 e H_2 .
<i>Metanogénesis</i>	6. Conversión del acetato en metano 7. Producción de metano a partir de CO_2 e H_2 .

Tabla 2. Etapas y procesos involucrados en la degradación anaerobia del material orgánico polimérico.

La Figura 3 muestra un diagrama de flujo del proceso de degradación anaerobia del material orgánico polimérico (biopolímeros).

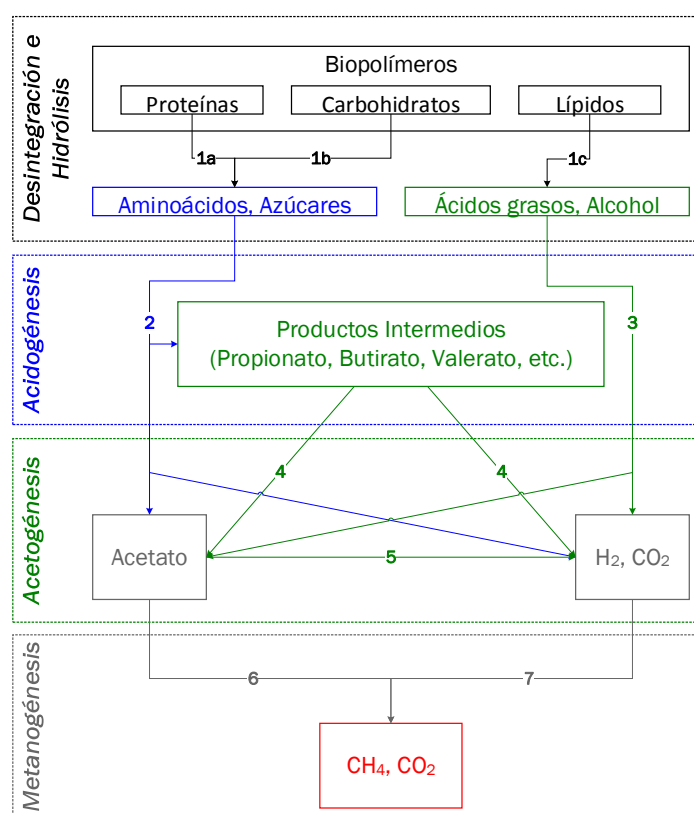


Figura 3. Etapas y procesos involucrados en la degradación anaerobia del material orgánico polimérico. Los números se refieren a los procesos involucrados enumerados en la Tabla 2.

Si bien los mecanismos para la obtención de energía en el metabolismo anaerobio no son muy diferentes de los utilizados en el metabolismo aerobio, la diferencia entre el potencial redox de los dadores de electrones y el de los aceptores de electrones disponibles en ambientes anaerobios (otros compuestos orgánicos en el caso de la fermentación, o aceptores de electrones diferentes al O_2 en el caso de respiración anaerobia) es considerablemente menor que cuando el aceptor de electrones es el O_2 .

Dado que la energía para la síntesis de ATP viene dada por la diferencia entre los potenciales redox de dadores y aceptores de electrones, el rendimiento energético por unidad de sustrato será considerablemente menor en organismos anaerobios (Hamilton, 1988). La mayor parte de la energía contenida en los sustratos fluirá a través de los diferentes procesos involucrados, en el mismo sentido que los electrones, hacia los productos completamente reducidos de la degradación anaerobia (i.e. CH_4 , H_2 , H_2S). De este modo, el alto contenido energético asociado a los productos de la degradación anaerobia los convierte en potenciales fuentes de energía.

En términos de DQO, la mayor parte de la DQO asociada a los sustratos acabará asociada a los productos de la degradación anaerobia, en lugar de transformada en nuevas células como sucede en el metabolismo aerobio. Los productos finales de la degradación anaerobia son principalmente gases que se distribuirán entre las fases líquido y gas, según la ley de equilibrio termodinámico. Una parte de la DQO será eliminada con el biogás, mientras que la DQO correspondiente a la fracción disuelta de los diferentes productos saldrá con el efluente.

A continuación se describen con mayor detalle las diferentes etapas y procesos que forman parte de la degradación anaerobia de la materia orgánica.

1.4.4.1 Etapa de desintegración e hidrólisis.

1. Desintegración e hidrólisis de material polimérico.

Las etapas de desintegración e hidrólisis comprenden el conjunto de procesos extracelulares, biológicos y no biológicos, que intervienen en la descomposición y solubilización de compuestos orgánicos complejos hasta sustratos solubles más sencillos.

El proceso de desintegración es un proceso no biológico que incluye la transformación de compuestos particulados complejos en materiales particulados definidos (i.e., carbohidratos, proteínas y lípidos) y material inerte.

El proceso de hidrólisis consiste en la degradación enzimática de materiales particulados definidos, o macromoléculas, hasta sus monómeros solubles. Los principales materiales particulados identificados como sustratos en el proceso de hidrólisis son carbohidratos, proteínas y lípidos, que dan lugar a azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga, respectivamente. El proceso de hidrólisis enzimática completo es un proceso complejo que comprende diferentes etapas (i.e., producción de enzimas, difusión en el medio, adsorción, reacción y desactivación). Las enzimas que catalizan el proceso de hidrólisis de cada sustrato, son probablemente producidas y segregadas por el organismo que se va a beneficiar de los productos solubles formados.

La hidrólisis se puede representar mediante dos modelos conceptuales diferentes:

- Las enzimas son segregadas al medio por microorganismos específicos, dónde se adsorben sobre una partícula o reaccionan con un sustrato soluble.
- Los organismos se adhieren a una partícula, producen enzimas en las inmediaciones de la partícula y se benefician de los productos solubles liberados mediante la reacción enzimática.

De forma general, en sistemas con cultivos anaerobios mixtos, el mecanismo predominante es el segundo, por lo que el catalizador efectivo es el organismo creciendo sobre la superficie de la partícula.

Atendiendo al sustrato hidrolizado, se pueden distinguir tres procesos hidrolíticos bien diferenciados:

- a) **Hidrólisis de Proteínas:** las proteínas son hidrolizadas por enzimas proteolíticas denominadas proteasas, que catalizan la escisión de los enlaces peptídicos entre los aminoácidos que forman la cadena proteica. Los productos formados son péptidos (cadenas cortas de aminoácidos) y aminoácidos simples, que son empleados directamente para la síntesis de nuevo material celular, o degradados en pasos

posteriores hasta los productos finales de la degradación anaerobia. La rotura de los enlaces peptídicos está catalizada.

- b) **Hidrólisis de Carbohidratos (sacarificación):** Los polisacáridos son hidrolizados mediante la acción de enzimas glucósido-hidrolasas o glucosidasas, que catalizan la escisión de los enlaces glucosídicos entre los monosacáridos que forman la cadena glucídica.
- c) **Hidrólisis de Lípidos (lipolisis):** Los lípidos son hidrolizados mediante la acción de enzimas denominadas lipasas que catalizan la escisión de los enlaces éster que unen los ácidos grasos al glicerol, siendo estos los productos formados.

La velocidad de hidrólisis es función de, entre otros parámetros, el pH, la temperatura, la concentración de biomasa hidrolítica, el tipo y naturaleza del sustrato particulado, el tamaño de las partículas y la concentración de material biodegradable (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991; Elefsiniotis y otros, 1996).

La hidrólisis suele considerarse la etapa limitante del proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica, sobre todo cuando se tratan corrientes con un elevado contenido en sólidos (Pavlostathis y Giraldo-Gómez, 1991). Además, depende de la temperatura y del TRC en RCTA. Mahmoud y otros (2004) observaron que la mayor parte de las proteínas, carbohidratos y lípidos se conseguían estabilizar durante los primeros 15 días a 25 °C y durante los primeros 10 días a 35 °C.

1.4.4.2 Etapa de acidogénesis.

En términos generales, la acidogénesis es un proceso catabólico de oxidación incompleta de un sustrato hasta un amplio rango de compuestos orgánicos más simples, principalmente ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV). Este proceso transcurre sin la participación de aceptores o dadores de electrones externos, por lo que se define como un proceso fermentativo. De acuerdo con esta definición, la acidogénesis contemplaría únicamente la fermentación de azúcares y aminoácidos. La degradación de ácidos grasos de cadena larga, procedentes de la hidrólisis de los lípidos, es una reacción de oxidación con la participación de un aceptor externo, por lo que se incluye en otro apartado.

2. Fermentación de azúcares y aminoácidos.

Los organismos con un metabolismo anaerobio fermentativo se enfrentan a dos problemas principales a la hora de catabolizar compuestos orgánicos: (i) conservar algo de la energía liberada como ATP y (ii) eliminar los electrones cedidos por el compuesto dador de electrones. Comúnmente, la síntesis de ATP se lleva a cabo por fosforilación a nivel de sustrato, mientras que el problema con el balance redox se soluciona mediante la producción y secreción de diferentes productos de la fermentación (Madigan et al., 2003). En la Figura 4 se representa un esquema del balance redox del proceso de fermentación.

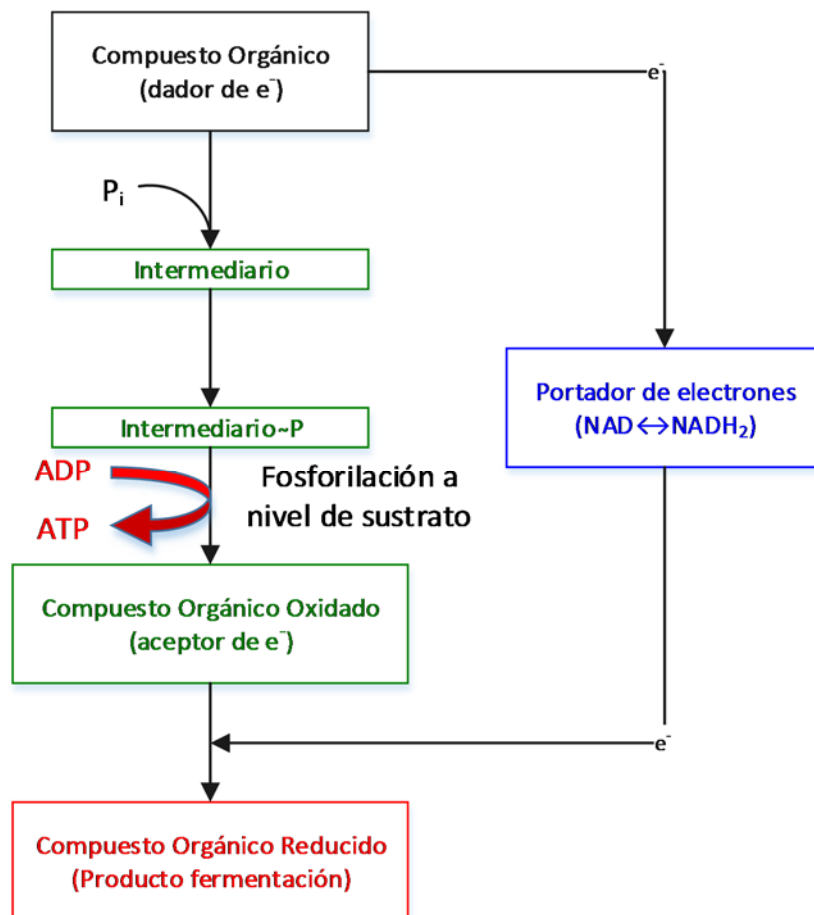


Figura 4. Balance redox en procesos fermentativos.

Debido a la ausencia de participación de aceptores de electrones externos en los procesos fermentativos, es el sustrato orgánico el que experimenta una serie de reacciones oxidoreductoras equilibradas. Los portadores de electrones actúan como aceptores primarios de electrones cedidos por el sustrato orgánico oxidado. Estos portadores de electrones están

presentes en bajas concentraciones en el interior de las células, por lo que es necesario que se oxiden nuevamente para mantener el metabolismo energético de la célula. Los organismos fermentativos consiguen regenerar los portadores de electrones mediante la reducción de compuestos orgánicos derivados del sustrato que se ha oxidado anteriormente, por lo que no es posible alcanzar una oxidación completa. El nivel de oxidación del conjunto de productos obtenidos es el mismo que el de la materia de partida.

Desde el punto de vista energético, las fermentaciones son muy poco rentables si se comparan con la respiración aerobia, ya que a partir de una molécula de glucosa sólo se obtienen hasta dos moléculas de ATP, mientras que en la respiración se producen 36. El bajo rendimiento de la fermentación con respecto a la respiración aerobia se debe a que, en lugar de penetrar en la cadena respiratoria, el portador de electrones cede sus electrones a compuestos orgánicos con poco poder oxidante.

Algunos sustratos proporcionan la suficiente energía como para sintetizar ATP, mientras que otros no son capaces de acoplarse a la síntesis de ATP mediante fosforilación a nivel de sustrato. El catabolismo de este tipo de sustratos está ligado a bombas de iones que establecen un gradiente de protones o de sodio a través de la membrana celular, de forma que la síntesis de ATP se produce de manera quimiosmótica (Mitchell, 1979).

Fermentación de azúcares.

La glucosa es el principal monosacárido formado en la hidrólisis de los carbohidratos. La glucólisis es la vía inicial del catabolismo de los carbohidratos. Se trata de una vía metabólica encargada de oxidar la glucosa con la finalidad de obtener energía para el organismo en forma de ATP. Consiste en 10 reacciones enzimáticas consecutivas que convierten a la glucosa en dos moléculas de piruvato que, a su vez, puede seguir otras rutas metabólicas para obtener más energía para el organismo.

La glucólisis puede seguir cuatro vías alternativas:

- a) Ruta de **Embden-Meyerhof-Parnas** (EMP): Es la más común en todo tipo de organismos, incluyendo hongos filamentosos, levaduras y muchos tipos de bacterias. Esta ruta puede funcionar tanto en condiciones aerobias como en anaerobias y se lleva

a cabo por una serie de 10 enzimas citoplasmáticas. La mayoría de los pasos de la ruta son reversibles, aunque hay tres (los catalizados por las enzimas hexoquinasa, fosfofructoquinasa y piruvato quinasa) que son irreversibles. Como resultado de esta ruta metabólica, se obtiene una pequeña cantidad de energía mediante procesos de fosforilación a nivel de sustrato (dos moles de ATP por mol de glucosa), se obtiene un mol de NAD^+ reducido (NADH_2) y se logra oxidar parcialmente la glucosa para producir dos moles de piruvato por mol de glucosa catabolizada.

- b) Ruta de **Entner-Doudoroff** (ED): Es una ruta usada por un número reducido de microorganismos carentes de determinadas enzimas que intervienen en la ruta EMP, como la fosfofructoquinasa-1. La mayoría son bacterias Gram-negativas tales como *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Xanthomonas*, *Azotobacter* y *Zymomonas*. La ruta ED es muy rara en hongos. Mediante esta ruta solo se produce un mol de ATP por mol de glucosa catabolizado.
- c) Ruta de las **Pentosas Fosfato** (PF): Es una ruta metabólica estrechamente relacionada con la glucólisis, durante la cual se utiliza la glucosa para generar ribosa, que es necesaria para la biosíntesis de nucleótidos y ácidos nucleicos. Esta ruta está presente en muchas bacterias y en la mayoría de los eucariontes. En muchos casos se lleva a cabo simultáneamente a la ruta EMP. Como ejemplo, las levaduras metabolizan entre el 10 y el 20% de la glucosa por la ruta PF (el porcentaje puede ser aún mayor en condiciones de crecimiento rápido) y el resto por la ruta EMP. La ruta PF funciona en condiciones aerobias y anaerobias, y posee mayor importancia en los procesos anabólicos que en los catabólicos, dado que no se genera energía pero se generan 6 moles de NADPH_2 por mol de glucosa catabolizada que sirven como poder reductor.
- d) Ruta de la **Fosfocetolasa** o de **Warburg-Dickens** (WD): Es la ruta que siguen ciertas bacterias lácticas (especialmente *Lactobacillus* y *Leuconostoc*). Se puede considerar una variante de la ruta de las PF puesto que no se genera ATP, pero sí poder reductor. Sin embargo, en la ruta WD, la enzima fosfocetolasa rompe el azúcar C_5 , dando lugar a dos ramas que conducen a la formación de lactato y etanol en un proceso de fermentación heteroláctica.

En la Figura 5 se ha representado la ruta metabólica EMP, puesto que como se ha mencionado anteriormente es la ruta glucolítica más común en todo tipo de microorganismos.

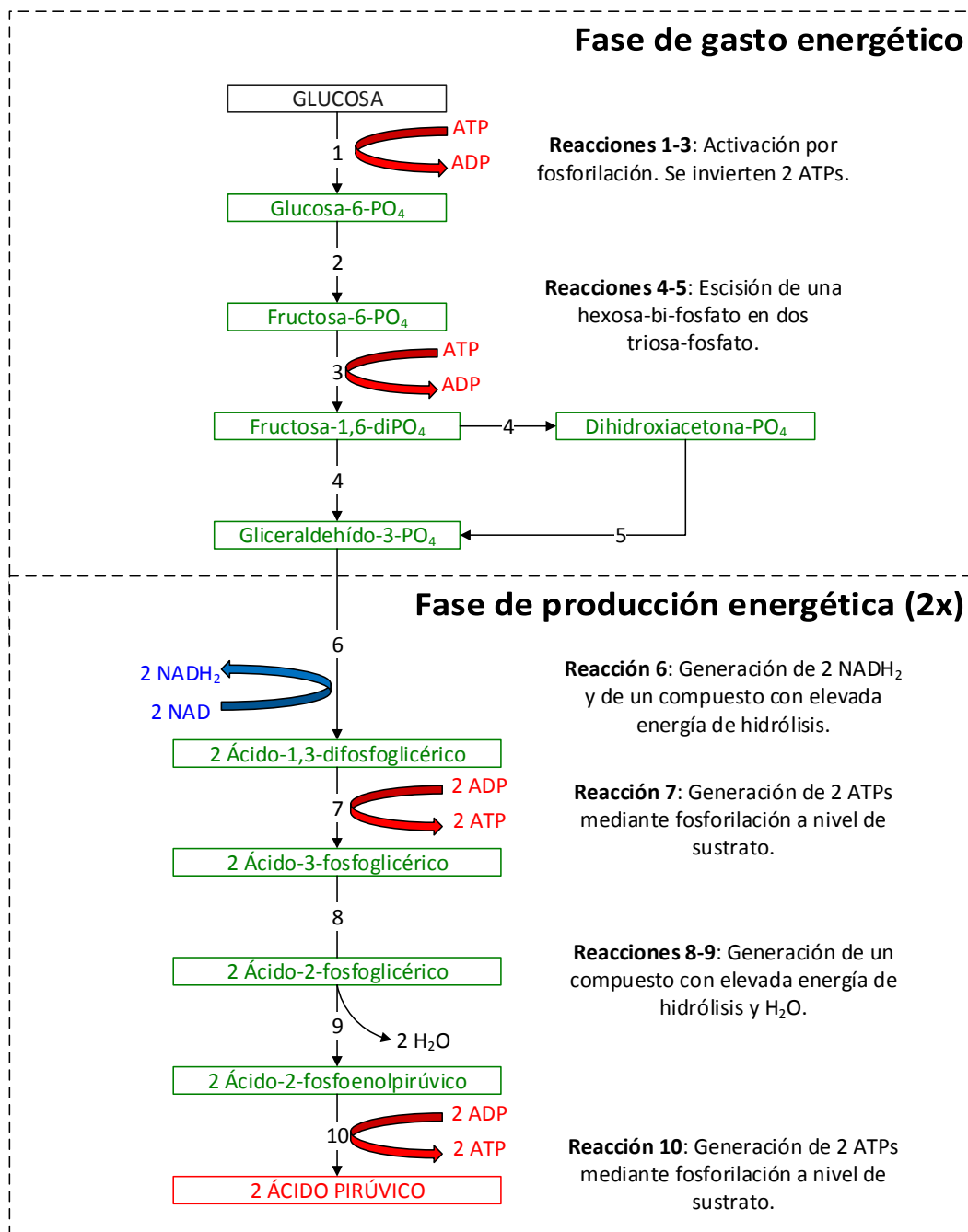


Figura 5. Esquema general de la ruta glucolítica Embden-Meyerhof-Parnas para el catabolismo de la glucosa.

La glucólisis se desarrolla en dos fases bien definidas:

- La primera fase, de gasto energético, consiste en transformar una molécula de glucosa en dos moléculas de gliceraldehído mediante el uso de 2 ATP, permitiendo duplicar los resultados de la segunda fase.

- En la segunda fase, de obtención energética, el gliceraldehído se transforma en un compuesto con elevada energía, cuya hidrólisis genera una molécula de ATP. Puesto que en la primera fase se generaron 2 moléculas de gliceraldehído, se obtienen en realidad dos moléculas de ATP. Esta obtención de energía se logra mediante el acoplamiento de una reacción fuertemente exogénica después de una levemente endogénica. Este acoplamiento ocurre una vez más en esta fase, generando dos moléculas de ácido pirúvico. De esta manera, en la segunda fase se obtienen 4 moléculas de ATP.

La fermentación de azúcares continúa con el metabolismo del ácido pirúvico formado en la glucólisis, el cual está ligado a reacciones de reducción que permiten regenerar los portadores de electrones necesarios para los procesos metabólicos iniciales del catabolismo de la glucosa. Diferentes tipos de bacterias reducen el ácido pirúvico de maneras diversas dando lugar a distintos procesos de fermentación que reciben el nombre por los productos finales. En la Tabla 3 se presentan, ordenados en orden de importancia, los principales productos formados en la acidogénesis a partir de azúcares y el rendimiento en ATP por mol de glucosa catabolizado.

<i>Productos</i>	<i>Reacción</i>	<i>ATP⁽¹⁾</i>	<i>Condiciones</i>
Acético	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$	4	[H ₂] Baja
Propiónico	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$	Bajo	No observado
Acético, Propiónico	$3C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3COOH + 4CH_3CH_2COOH + 2CO_2 + 2H_2O$	4/3	Cualquier [H ₂]
Butírico	$C_6H_{12}O_6 + 2H_2O \rightarrow CH_3CH_2CH_2COOH + 2CO_2 + 4H_2$	3	[H ₂] Baja
Láctico	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CHOHCOOH$	2	Cualquier [H ₂]
Etanol	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$	2	[H ₂] Baja

(1) Por mol de glucosa

Tabla 3. Productos de la degradación anaerobia (Batstone, y otros 2002).

A parte de los ácidos orgánicos, el ácido láctico y el etanol son los productos más comunes en digestores anaerobios (Madigan et al., 2003). La prevalencia de unos productos u otros depende, entre otros factores, del tipo de sustrato, de las condiciones ambientales del medio donde se desarrolle la fermentación, y de las interacciones ecológicas entre los diferentes microorganismos que forman parte de la población. En la Figura 6 se han representado diferentes rutas metabólicas para reducir el ácido pirúvico hasta diferentes productos finales.

La fermentación láctica es la ruta más simple para encontrar un aceptor de los electrones cedidos por el NADH₂, dado que es el mismo ácido pirúvico el que ejerce de aceptor.

Prácticamente todos los monosacáridos se degradan vía ácido láctico (Skiadas et al, 2000). Sin embargo, el ácido láctico se degrada muy rápidamente, por lo que únicamente se aprecia en concentraciones considerables en digestores acidificados como consecuencia de una sobrecarga orgánica.

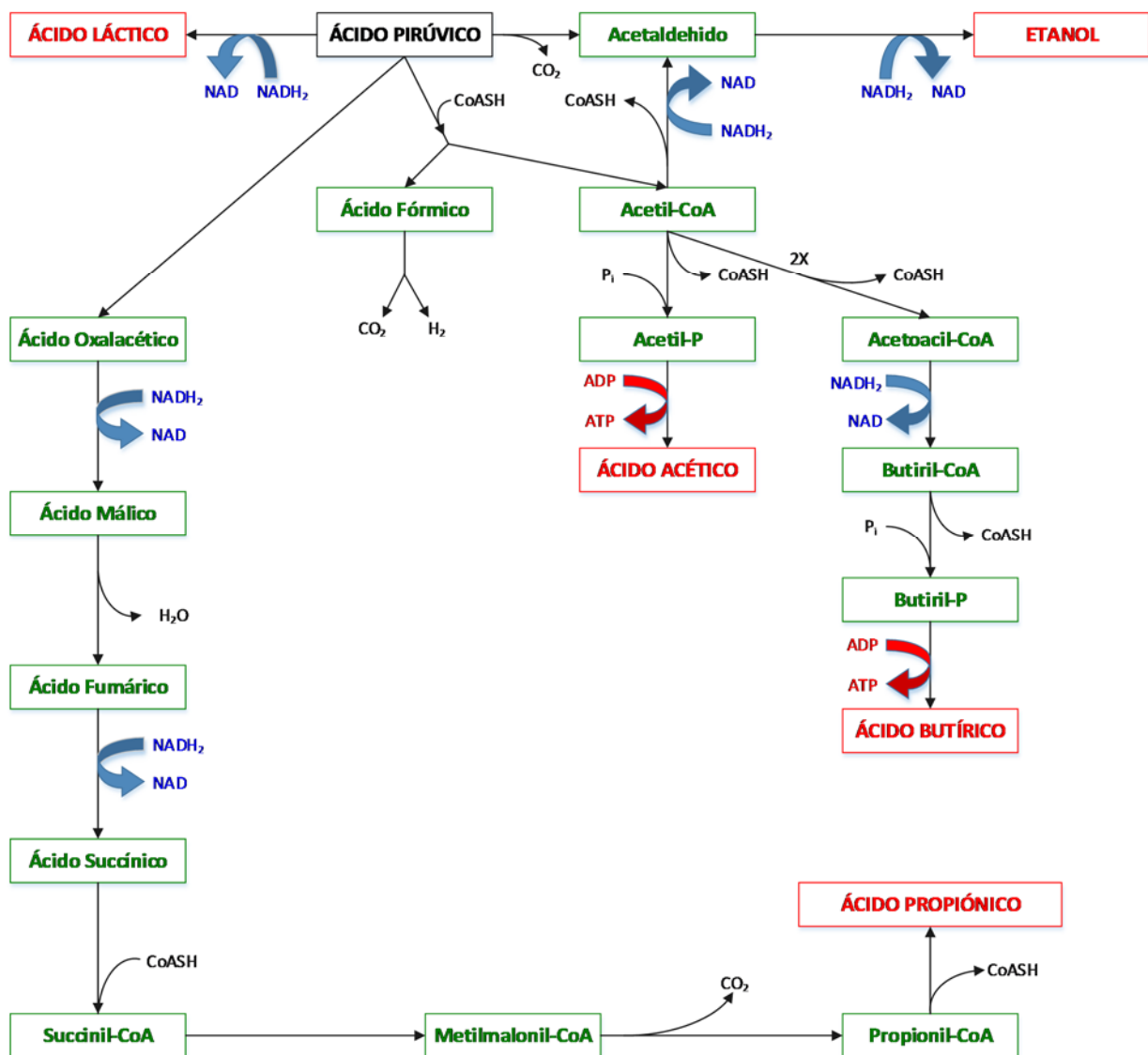


Figura 6. Rutas metabólicas para la degradación del Ácido Pirúvico.

La fermentación etílica pasa por la formación de acetaldehído, que puede generarse por dos vías diferentes. En una de ellas, el ácido pirúvico es descarboxilado, sin oxidación, generando acetaldehído que retiene el H₂. La segunda vía es llevada a cabo por algunas bacterias capaces de oxidar el ácido pirúvico, eliminando dos átomos de H sin reducir el NAD⁺, generándose

ácido fórmico y un fragmento de acetyl-CoA. Posteriormente, este acetyl-CoA se convierte en acetaldehído por incorporación de dos átomos de hidrógeno del NADH₂. Finalmente, el acetaldehído formado por cualquiera de estas dos vías es empleado como aceptor de los electrones liberados en la reoxidación del NADH₂, obteniéndose etanol como producto final.

El acetyl-CoA formado por oxidación del ácido pirúvico puede, de forma alternativa a la producción de acetaldehído, ser convertido en acetyl-fosfato (acetyl-P) que, al no emplearse como aceptor de hidrógeno, permite conservar la energía del enlace acetyl-P, sintetizando ATP y generando ácido acético. De este modo, por cada mol de acético formado, se genera un mol de ATP que se suma a los dos moles formados en la obtención del ácido pirúvico.

La formación de ácido propiónico puede tener lugar de diferentes modos en función de las bacterias implicadas. La ruta descrita en la Figura 6 para la formación del ácido propiónico es la llevada a cabo por las *Propionibacterium*. Los productos mayoritarios de esta ruta son el propiónico y el CO₂, además de pequeñas cantidades de ácido acético y succínico. Esta ruta proporciona una importante regeneración del NAD⁺, además de permitir la formación de acetyl-CoA por descarboxilación oxidativa, con generación de CO₂ y NADH₂ (no descrita en la Figura 6). Este acetyl-CoA es convertido en acetyl-P, generándose finalmente ácido acético y ATP.

La síntesis de ácido butírico pasa por la formación de acetoacetyl-CoA, a partir de dos moléculas de acetyl-CoA. Con la reoxidación de una molécula de NADH₂ se obtiene butiril-CoA que puede ser transformado en butiril-P, que rendirá ácido butírico y ATP. Otra vía para la conservación de la energía del butiril-CoA consiste en la transferencia de la coenzima A al ácido acético para formar acetyl-CoA que puede ser empleado en la síntesis del ATP a través del acetyl-P o que puede ser reciclado para formar acetoacetyl-CoA.

Fermentación de aminoácidos.

De forma general, puede considerarse que las proteínas están formadas por la combinación de unos pocos aminoácidos comunes. La distribución de los aminoácidos producidos a partir de la hidrólisis de las proteínas dependerá de la estructura primaria de las proteínas (FAO-UN, 1970). Los principales productos de la fermentación de los aminoácidos son, generalmente, amoníaco, dióxido de carbono, hidrógeno, ácido acético y ácido butírico, siendo posible obtener

ácido propiónico y otros ácidos de bajo peso molecular en función de los aminoácidos fermentados.

La fermentación de aminoácidos procede mediante tres rutas principales:

- a) Reacciones *RedOx* entre pares de aminoácidos, que son metabolizados conjuntamente, dando lugar a diferentes productos intermedios (AGV) en función del aminoácido de partida. Este mecanismo de fermentación permite que los aminoácidos que no pueden ser fermentados individualmente puedan ser usados como fuente de energía. Un ejemplo de este tipo de proceso es la denominada reacción de *Stickland*, en la cual el aminoácido dador de electrones es oxidado hasta un ácido volátil con un átomo de carbono menos que el aminoácido original, y el aminoácido aceptor de electrones es reducido hasta un ácido volátil con el mismo número de átomos de carbono que el aminoácido original. En la Figura 7 se ha representado la reacción de *Stickland* entre la alanina y la glicina, en la cual la primera es oxidada y la segunda reducida, ambas hasta ácido acético.

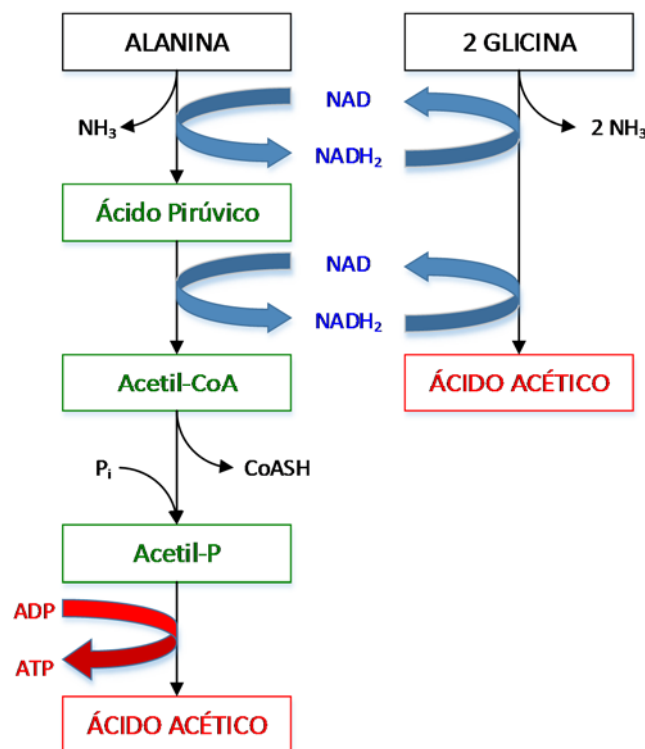


Figura 7. Reacción de *Stickland*.

- b) Reacciones de *desaminación/transaminación* de aminoácidos alifáticos, en las que el grupo amino del carbono α del aminoácido, es transferido a otra cadena carbonada, generando ácido pirúvico y una amina. Posteriormente, este ácido pirúvico se incorpora al ciclo glicolítico generando AGV.
- c) Reacciones de *oxidación anaerobia* de un solo aminoácido empleando hidrógeno o dióxido de carbono como aceptor externo de electrones.

1.4.4.3 Etapa de acetogénesis.

La acetogénesis es una etapa que engloba las reacciones de degradación de los diferentes ácidos grasos formados en las etapas anteriores, y que incluye diferentes sub-procesos en función del sustrato a partir del cual se genera el acetato. Afecta tanto a los ácidos grasos volátiles de cadena larga resultantes de la fermentación de los lípidos, como a los ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV) con más de dos átomos de carbono (propiónico, butírico, valérico) producidos en la degradación de aminoácidos y azúcares.

Dado que la metanogénesis suele ser la etapa limitante cuando el sustrato es soluble, el acetato suele utilizarse para evaluar la influencia de los diferentes parámetros operacionales sobre el funcionamiento del sistema (Seghezzeo, 2004).

3. Oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga y alcoholes.

La degradación de los ácidos grasos de cadena larga (AGCL) no se realiza por medio de una fermentación, sino mediante una oxidación en la que no participan aceptores de electrones internos. Bajo condiciones aerobias, la oxidación de los AGCL se lleva a cabo mediante un proceso denominado β -Oxidación. Este proceso recibe este nombre debido a que es el carbono β (2° desde el carbono enlazado al grupo carboxilo) el que se oxida. Para que los AGCL puedan ser oxidados, han de ser previamente activados con coenzima A. Este paso de activación del AGCL es termodinámicamente favorable únicamente en presencia de oxígeno (Gaudy y Gaudy, 1981). Sin embargo, se ha constatado en varios estudios que la ruta seguida para la descomposición de AGCL en reactores anaerobios es la β -oxidación (Novak y Carlson, 1970; Gaudy y Gaudy, 1981; Elefsiniotis y Oldham, 1994).

La β -Oxidación de los AGCL consiste en la repetición sucesiva de una secuencia de 4 reacciones en las que se liberan dos átomos de carbono en forma de Acetil-CoA, y se obtiene 1/3 de ATP (Finnerty, 1988). Si se trata de un ácido con un número impar de átomos de carbono, los tres últimos se liberan como propionil-CoA (Ratledge, 1992). En la Figura 8 se presenta el esquema de la β -Oxidación de los ácidos grasos de cadena larga.

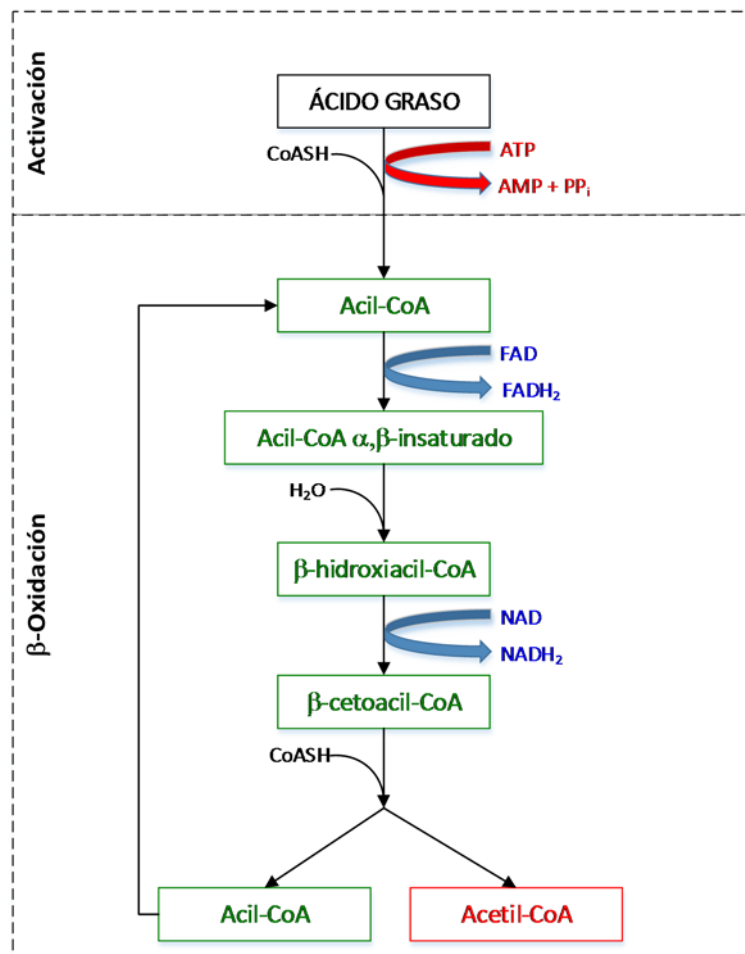


Figura 8. Oxidación anaerobia de ácidos grasos volátiles de cadena larga.

A continuación se describe, paso a paso, la activación y β -oxidación de los ácidos grasos de cadena larga:

- *Activación del ácido graso por medio de la coenzima A.* Las enzimas responsables de la activación del ácido graso varían en función de la longitud de la cadena, siendo del tipo acil-CoA sintetasa. Estas enzimas median en la reacción entre la coenzima A

y el grupo carboxilo del ácido graso para dar lugar a la formación de un tioéster, lo que sirve tanto para activar su degradación, como para disminuir el efecto tóxico de los ácidos grasos.

- *Deshidrogenación.* Se eliminan dos átomos de hidrógeno de los carbonos α y β , introduciendo una α - β -insaturación (doble enlace), mediante la acción de la enzima acil-CoA deshidrogenasa.
- *Hidratación.* La enzima acil-CoA hidratasa introduce un $-OH$ en el carbono β y un hidrógeno en el carbono α , rompiendo el doble enlace y formando β -hidroxiacil-CoA.
- *Deshidrogenación.* La enzima 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa, utilizando NAD como cofactor, elimina 2 átomos de hidrógeno formando un grupo cetónico y dando lugar a β -cetoacil-CoA.
- *Escisión.* La molécula se escinde entre los carbonos α y β al fijar una molécula de coenzima-A en el carbono β . Los productos obtenidos son acetil-CoA, formado a partir del carbono carboxílico y del carbono α , y un éster, formado por la coenzima-A y un ácido graso más corto que el original (2 átomos de carbono menos). Este acil-CoA vuelve a entrar en la secuencia de reacciones descrita.

La mayoría de ácidos grasos de cadena larga contienen un número par de átomos de carbono, por lo que el ácido acético es el principal producto oxidado de la degradación anaerobia de lípidos (Batstone y otros, 2002). Bajo condiciones anaerobias, los protones resultantes de la doble deshidrogenación en la β -oxidación, pueden actuar como aceptor final de los electrones cedidos por los sustratos oxidados, dando lugar a una cantidad importante de H_2 . Aproximadamente, un 70 % de los electrones presentes en los sustratos acabarán formando parte del H_2 producido (Grady y otros, 2011).

Bajo condiciones estándar ($T=298$ °K; $P=1$ atm), el cambio en la energía libre de Gibbs (ΔG^0) asociada a la oxidación anaerobia de AGCL suele ser positiva, indicando que se trata de procesos endotérmicos y que no pueden ocurrir de forma espontánea. Sin embargo, si se consigue mantener la presión parcial de hidrógeno baja (< 10 Pa), el cambio en la energía libre de Gibbs (ΔG) asociada a la oxidación del NADH se vuelve negativa y la reacción es

termodinámicamente favorable, de modo que es posible regenerar los transportadores de electrones (NAD^+) necesarios para llevar a cabo la β -oxidación. Los protones actúan como aceptores finales de los electrones cedidos en la oxidación del NADH, por lo que la regeneración del NAD^+ viene acompañada por la formación de H_2 .

Durante la oxidación anaerobia de ácidos grasos de cadena larga, se consigue mantener la presión parcial de hidrógeno baja mediante un caso especial de cooperación simbiótica entre organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno y especies hidrogenotróficas. Este tipo de cooperación simbiótica recibe el nombre de sintrofismo. El sintrofismo se define como una relación de mutua dependencia entre dos organismos metabólicamente diferentes, generalmente con fines energéticos, durante la degradación de un determinado sustrato.

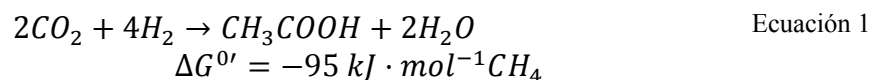
Los organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno no podrían crecer sin la cooperación sintrófica de los organismos hidrogenotróficos, dado que la oxidación de ácidos grasos de cadena larga es endotérmica, y únicamente es termodinámicamente favorable si la presión parcial de hidrógeno se mantiene baja mediante la acción del segundo grupo. A su vez, los organismos hidrogenotróficos no dispondrían de sustrato si los organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno no llevasen a cabo la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga, durante la cual se genera el H_2 . No obstante, para permitir una cooperación eficiente de los organismos participantes en este tipo de asociaciones sintróficas la concentración del intermediario común (H_2) debe mantenerse baja.

4. Oxidación anaerobia de productos intermedios..

Durante este proceso, los ácidos grasos volátiles (AGV) con más de dos átomos de carbono, formados en las etapas anteriores, se oxidan anaerobiamente (β -oxidación) para generar ácido acético e hidrógeno. Este proceso también depende de la presión parcial de hidrógeno, teniendo sólo lugar cuando la presión parcial de hidrógeno se mantiene baja.

5. Producción de acetato a partir de CO₂ e H₂.

La homoacetogénesis es un proceso en el cual se produce acetato de forma autotrófica, a partir de H₂ y CO₂, conservándose la energía mediante fosforilación a nivel de sustrato y fuerza motriz de iones.



Los organismos homoacetogénicos (*Clostridium thermoaceticum*) utilizan la ruta del acetyl-CoA (junto con los metanogénicos y los reductores de sulfato autótrofos), y la PTA/AcK (fosfo-trans-acetilasa/ acetato-kinasa) (Figura 9). Esta ruta es reversible y permite tanto la formación de un enlace C-C a partir de 2 CO₂, como la ruptura del mismo para dar CO₂. La homoacetogénesis requiere ácido fólico, vitamina B12 y la enzima CO-deshidrogenasa (CODH), que transporta fragmentos C1 oxidados (CO₂) o reducidos (-CO, -CH₃).



Figura 9. Ruta del Acetil-CoA. Fd_R (ferredoxina reducida).

La CODH posee una capacidad única para romper y formar el enlace C-C del acetato, que en la mayoría de organismos se lleva a cabo mediante el ciclo de Krebs. De este modo, los organismos homoacetogénicos producirán acetato cuando la concentración de H₂ sea alta, pero también son capaces de llevar a cabo la reacción inversa cuando la concentración de acetato es elevada (Castillo Rodríguez, 2005).

1.4.4.4 *Etapas de metanogénesis.*

La metanogénesis es el paso final de la degradación anaerobia de la materia orgánica, en el que se generan principalmente metano y dióxido de carbono a partir de un número limitado de sustratos (CO₂ + H₂, formato, metanol, metilaminas y/o acetato).

Bajo condiciones estándar, el cambio en la energía libre de Gibbs asociado a la metanogénesis es el suficiente como para permitir la síntesis de entre 1 y 2 moles de ATP por mol de sustrato, mientras que a las bajas presiones parciales de hidrógeno observadas en reactores anaerobios, el cambio en la energía libre de Gibbs apenas permitiría la síntesis de un mol de ATP por mol de sustrato oxidado. Esta cercanía a las condiciones de equilibrio termodinámico ha obligado a los organismos metanogénicos a desarrollar sofisticadas estrategias para conservar algo de la energía contenida en los sustratos, por lo que su metabolismo bioenergético ha atraído mucha atención desde que fueron aislados por primera vez.

La síntesis de ATP en organismos metanogénicos es llevada a cabo mediante la generación de fuerza proton motriz y fuerza ión-sódio motriz, provocada por un gradiente del respectivo ión a ambos lados de la membrana. Para ello utilizan una serie de enzimas, cofactores y transportadores de electrones que únicamente están presentes en este tipo de organismos (Deppenmeier 2002). La Ferredoxina, la coenzima F₄₂₀, la coenzima B (HS-CoB) y la metanofenazina, funcionan como transportadores de electrones durante la metanogénesis. La coenzima F₄₂₀ es el transportador de electrones central en el citoplasma de los organismos metanogénicos, reemplazando al nicotinamida adenina dinucleótido en muchas reacciones (Walsh, 1986). La metanofenazina es un derivado de la 2-hidroxifenazina conectado mediante un enlace éter a una cadena pentaprenil lateral. Este cofactor hidrofóbico funciona como un transportador de electrones integrado en la membrana, similar a las quinonas. Por otra parte, la coenzima M (HS-CoM, 2-mercaptoetanosulfonato), el metanofurano (MFR, derivado del 2-aminometilfurano) y la tetrahidrosarcinapterina (H₄MPT, análogo de tetrahidrofolato) funcionan como transportadores de los intermediarios con 1 átomo de carbono en las rutas metanogénicas.

Se trata de un proceso que procede a través de una ruta central que involucra varias reacciones irreversibles en las que intervienen diferentes intermediarios con 1 átomo de Carbono que permanecen ligados a un transportador. La Figura 10 muestra un esquema de la metanogénesis a partir de CO₂ e H₂, y a partir de acetato.

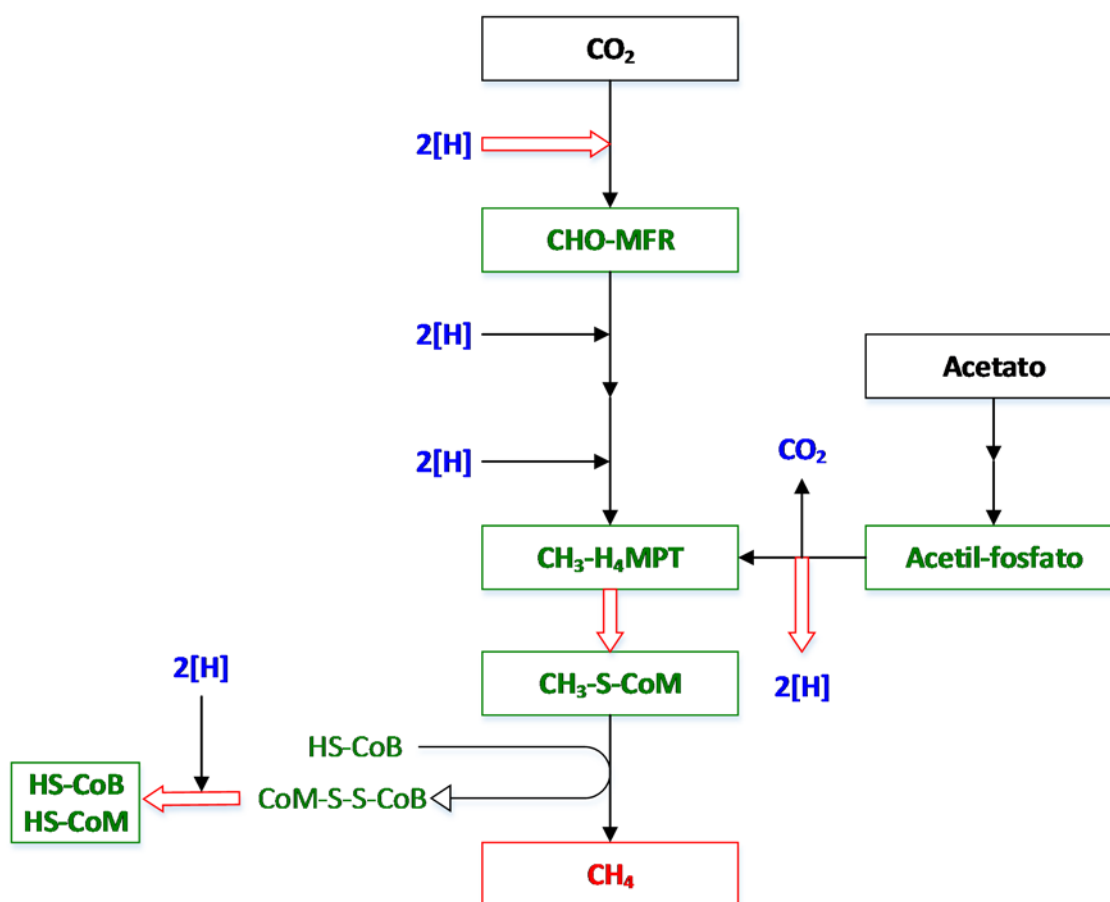


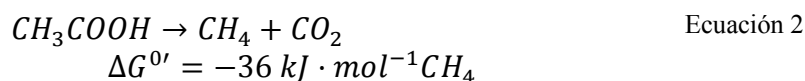
Figura 10. Proceso de metanogénesis a partir de CO_2 e H_2 , y a partir de Acetato. Las flechas rojas denotan reacciones catalizadas por enzimas translocadoras de iones integradas en la membrana.

La ruta central común a todas las rutas catabólicas a partir de los diferentes sustratos comienza con la formación de metil- H_4MPT . El grupo metilo del metil- H_4MPT es transferido a la coenzima M (CoM-SH), dando lugar a metil- S-CoM , mediante la acción de la metil- $\text{H}_4\text{MPT}:\text{HS-CoM}$ metiltransferasa (Mtr), que es un complejo enzimático integrado en la membrana capaz de acoplar la reacción exotérmica de transferencia de un grupo metilo ($\Delta G^{\circ} = -29 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), con la translocación de 2 iones Na^+ a través de la membrana citoplasmática, estableciendo una fuerza ión-sodio motriz. En el siguiente paso, la coenzima B (CoB-SH) funciona como dador de electrones en la reducción de metil- S-CoM , que es catalizada por la metil-coenzima M reductasa (Ermler, 2005), dando lugar a la formación de metano, que es liberado al medio, y un disulfuro mixto de coenzimas M y B (heterodisulfuro, CoM-S-S-CoB). Como último paso, el heterodisulfuro es reducido a los respectivos tioles mediante un mecanismo que dependerá del tipo de organismo metanogénico considerado.

Además del interés atraído desde el punto de vista bioenergético, la metanogénesis también presenta interés desde un punto de vista ecológico, dado que los productos de la metanogénesis, CH₄ y CO₂, son gases de efecto invernadero (el CH₄ posee aproximadamente 25 veces el potencial de calentamiento del CO₂), que pueden desprenderse de los hábitats anaerobios en los que se generan, alcanzando la atmósfera y contribuyendo al efecto invernadero. El interés por los productos generados durante la metanogénesis presenta una doble vertiente, dado que se trata de un combustible gaseoso que puede ser utilizado como fuente de energía limpia.

6. Metanogénesis Acetotrófica.

La metanogénesis acetotrófica o acetoclástica posee el menor cambio en energía libre de Gibbs entre todas las reacciones metanogénicas (Schlegel y otros, 2012). La Ecuación 2 representa la reacción general que describe el proceso de metanogénesis a partir de acetato.

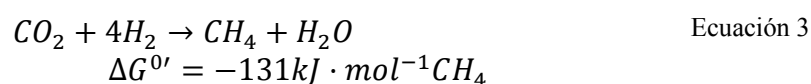


El metabolismo del acetato involucra su activación a acetil-CoA, con consumo de ATP, y la consecutiva escisión del enlace C-C, mediante la acción de la enzima deshidrogenasa/acetil-CoA sintasa (CODH/ACS), dando lugar a metil-H₄MPT, monóxido de carbono y coenzima A. Posteriormente, el metil-H₄MPT entra en la ruta central descrita anteriormente. Por otra parte, el monóxido de carbono es oxidado a dióxido de carbono por la acción de CODH/ACS, actuando la ferredoxina como aceptor final de electrones. La ferredoxina reducida suministra los electrones necesarios para la reducción del heterodisulfuro mediante una cadena de transporte de electrones integrada en la membrana, que involucra al transportador de electrones metanofenazina. El último módulo de esta cadena de transporte de electrones, la heterodisulfuro reductasa, recibe electrones de la metanofenazina reducida, acoplado este proceso con la translocación un protón, por cada electrón suministrado, a través de la membrana citoplasmática.

7. Metanogénesis Hidrogenotrófica.

El hidrógeno es uno de los principales metabolitos producidos durante la degradación anaerobia de la materia orgánica. Mediante la metanogénesis hidrogenotrófica, entre otros procesos en los que se oxida H₂, se consigue eliminar este compuesto del medio de forma activa.

De este modo se consigue que la oxidación de ácidos grasos se lleve a cabo de una forma más exhaustiva, y que los organismos fermentativos que la llevan a cabo obtengan una mayor ganancia energética. La Ecuación 3 representa la reacción general que describe el proceso de metanogénesis a partir de CO₂ e H₂.



La mayoría de organismos metanogénicos son capaces de reducir el CO₂ con hidrógeno, sin embargo, las reacciones y los mecanismos utilizados para la conservación de la energía involucrados en la metanogénesis a partir de CO₂ e H₂ difieren entre los organismos metanogénicos con y sin citocromos (Thauer y otros, 2008). Los organismos metanogénicos con citocromos suelen presentar mayores rendimientos celulares y una menor afinidad por el hidrógeno que los que no tienen citocromos.

La menor afinidad por el H₂ de los organismos metanogénicos con citocromos, explicaría su incapacidad para competir con los organismos metanogénicos sin citocromos por dicho sustrato, bajo las condiciones ambientales que prevalecen en sus hábitats naturales. De hecho, muchos organismos metanogénicos con citocromos han perdido la habilidad de crecer con CO₂ e H₂. Del mismo modo, el crecimiento a partir de formato estaría también restringido a los organismos metanogénicos sin citocromos, dado que la metanogénesis a partir de formato involucra su transformación previa en CO₂ e H₂, a partir de los cuales se generaría el CH₄.

La reducción del CO₂ hasta metano, comienza al enlazarse el CO₂ al cofactor MFR, que es entonces reducido hasta formil-MFR. Esta reacción endotérmica es catalizada por un gradiente electroquímico a través de la membrana citoplasmática. En el siguiente paso, el grupo formilo es transferido al H₄MPT y el formil-H₄MPT resultante es, a su vez, reducido hasta metil-H₄MPT, que entra en la ruta central expuesta anteriormente. El poder reductor se obtiene a partir del cofactor reducido F₄₂₀ (F₄₂₀H₂), que es producido por la F₄₂₀-reductasa hidrogenasa, utilizando hidrógeno como agente reductor.

Los organismos metanogénicos con y sin citocromos difieren en la forma de reducir el heterodisulfuro (CoM-S-S-CoB) con H₂. En lugar del complejo enzimático que involucra citocromos y metanofenazina, descrito en el apartado de metanogénesis acetoclástica, los

organismos metanogénicos sin citocromos contienen un complejo multienzimático citoplasmático que cataliza la reducción del heterodisulfuro con una menor eficiencia catalítica, dado que no existe evidencia de que esté acoplada a la translocación de iones a través de la membrana citoplasmática. Así pues, los organismos sin citocromos carecen de uno de los dos mecanismos para la conservación de energía que poseen los organismos metanogénicos con citocromos (Thauer y otros, 2008).

1.4.5 Microbiología de la degradación anaerobia.

De forma general, la degradación anaerobia de la materia orgánica es el producto de la interacción mutualística y/o competitiva de diferentes grupos de microorganismos cuyas características cinéticas y termodinámicas, así como los sustratos que utilizan pueden variar ampliamente. La diferenciación entre los distintos grupos de bacterias implicados en la degradación anaerobia de la materia orgánica se basa en los sustratos que utilizan y en los productos finales de su metabolismo. Bajo este criterio, es posible distinguir 3 grupos tróficos diferentes:

- Organismos acidogénicos,
- Organismos acetogénicos, y
- Organismos metanogénicos.

Organismos acidogénicos.

La mayoría de los organismos que crecen durante las etapas de hidrólisis y acidogénesis son anaerobios estrictos como *Bacteroides*, *Clostridium* y *Bifidobacterium*. Aunque son éstos los que realizan las reacciones hidrolíticas y acidogénicas más importantes, también se desarrollan grupos de organismos anaerobios facultativos tales como *Streptococcus* y *Enterobacterias*.

Organismos acetogénicos.

Durante la fase acetogénica, los microorganismos metabolizan los sustratos generados en la etapa anterior para dar lugar a ácido acético, H₂ y CO₂. Representantes de los microorganismos acetogénicos son *Syntrophomonas wolfei* y *Syntrophobacter wolini*.

Organismos metanogénicos.

Los organismos metanogénicos se clasifican dentro del dominio *Archaea* y se caracterizan por poseer una gran variedad morfológica y estructural. Hasta la fecha han sido identificados cinco órdenes diferentes de *Archaeas* metanogénicas: *Methanopyrales*, *Methanococcales*, *Methanobacterales*, *Methanomicrobiales* y *Methanosarcinales*. El orden con una raíz más profunda entre las *Euryarchaeota* es el de las *Methanopyrales*, y el último en ramificarse es el de las *Methanosarcinales*. Todos los miembros del orden *Methanosarcinales* contienen citocromos y metanofenazina (un análogo funcional de la menaquinona), y poseen un amplio espectro de sustratos sobre los que pueden crecer. Los miembros de los cuatro órdenes restantes carecen de citocromos y metanofenazina. Las principales diferencias entre las archaeas metanogénicas con y sin citocromos se resumen a continuación (Thauer y otros, 2008).

- **Organismos metanogénicos con citocromos.**
 - Contienen metanofenazina
 - La mayoría pueden crecer con acetato, metanol y metilaminas, y no pueden crecer con formato. El crecimiento con CO₂ e H₂ está restringido a algunas especies de *Methanosarcina*.
 - Baja afinidad por el H₂. El umbral para la presión parcial de H₂ es generalmente >10 Pa.
 - Pueden alcanzar rendimientos celulares de hasta 7 g·mol⁻¹ CH₄, creciendo sobre CO₂ y H₂.
 - No existen especies hipertermofílicas.
- **Organismos metanogénicos sin citocromos.**
 - No contienen metanofenazina
 - Pueden crecer con H₂ y CO₂, a excepción de *Methanosphaera stadtmanae*. No pueden crecer con acetato o metilaminas, y muchas pueden crecer con formato.
 - Elevada afinidad por el H₂. El umbral para la presión parcial de H₂ es generalmente <10 Pa.
 - Pueden alcanzar rendimientos celulares de hasta 3 g·mol⁻¹ CH₄, creciendo sobre CO₂ y H₂.
 - Existen muchas especies hipertermofílicas.

En función del tipo de sustrato que consumen se dividen en dos subgrupos:

- **Microorganismos metanogénicos acetotróficos:** Convierten el ácido acético en CH₄ y CO₂. Los géneros más importantes son *Methanosarcinas* y *Methanotrix*.
- **Microorganismos metanogénicos hidrogenotróficos:** obtienen su energía de la oxidación del H₂ y su carbono del CO₂. Algunos de los géneros más comunes son *Methanobacterium*, *Methanococcus* y *Methanogenium*.

1.4.6 Parámetros ambientales y operacionales influyentes sobre los procesos anaerobios.

La optimización de cualquier proceso biológico se basa en la mejora de su eficiencia, mediante el desarrollo y mantenimiento de una población microbiana adecuada. Para ello es necesario conocer cuáles son los parámetros, tanto ambientales como operacionales, que influyen sobre el proceso, y cómo afecta un cambio en cualquiera de estos parámetros al funcionamiento del proceso.

A continuación se estudia con detalle cada uno de los principales parámetros que afectan al proceso de digestión anaerobia.

1.4.6.1 Parámetros Operacionales.

Temperatura.

La eficiencia global de un sistema de tratamiento biológico está afectada por la temperatura, dado que dicho parámetro influye sobre la velocidad de las reacciones biológicas. De forma general, la actividad metabólica de los microorganismos que intervienen en cualquier proceso biológico disminuye cuando lo hace la temperatura, provocando una disminución en la eficiencia de eliminación de DQO. Además, se producen algunos cambios en las características físico-químicas del licor mezcla que pueden afectar al diseño y operación de los sistemas de tratamiento (i.e., menor pH y potencial de recuperación energética debido a una mayor solubilidad del CO₂ y del CH₄, respectivamente; mayor gasto energético en homogeneización y menor difusividad de los componentes solubles debido a la mayor viscosidad) (Lettinga y otros, 2001).

Atendiendo al rango de temperaturas en el que los microorganismos son capaces de llevar a cabo su actividad metabólica y crecer, se pueden distinguir tres grupos diferentes de microorganismos: *psicrofílicos*, *mesofílicos* y *termofílicos*. Para cada grupo, existe un valor óptimo de temperatura para el cual la velocidad de crecimiento se hace máxima. Los intervalos de temperatura son:

- *Psicrofílico*: en este intervalo la biomasa anaerobia se desarrolla a temperaturas inferiores a los 25 °C, el óptimo está situado sobre los 15 °C. Presentan una tasa de crecimiento baja.
- *Mesofílico*: es el intervalo de funcionamiento más común en la depuración de aguas. En este intervalo la biomasa anaerobia se desarrolla a temperaturas entre 30 y 38 °C, presentan su óptimo de crecimiento sobre los 38 °C.
- *Termofílico*: en este intervalo la biomasa anaerobia se desarrolla a temperaturas comprendidas entre 45 y 65 °C, presentado su óptimo en torno a los 60 °C. Presentan una tasa de crecimiento alta.

Diversos investigadores han estudiado las ventajas y limitaciones que plantea la operación de un proceso de tratamiento anaerobio en cada uno de estos intervalos de temperatura. El intervalo psicrofílico se plantea como poco viable debido al elevado tiempo de retención necesario y como consecuencia, al gran tamaño de reactor requerido. Por otra parte, la operación en el intervalo termofílico proporciona diferentes ventajas, entre las que destacan:

- Elevada producción de biogás y tiempo de retención mínimo reducido debido a la elevada velocidad de degradación de la materia orgánica, especialmente en las fases de hidrólisis y metanogénesis (Zabranska y otros, 2000; Gavala y otros, 2003).
- Mejora de las propiedades de deshidratación del fango digerido y reducción de olores (Ahring y otros, 1995).
- Aumento de la destrucción de microorganismos patógenos, lo que supone un beneficio para la utilización del fango estabilizado (Gavala y otros, 2003).

Del lado opuesto, los procesos termofílicos presentan problemas de estabilidad, mayor riesgo de acumulación de AGV y elevada sensibilidad a las variaciones térmicas.

La operación en el rango mesofílico está más extendida que en el rango termofílico, debido a los menores requisitos energéticos y a la mayor estabilidad operacional.

En cuanto a la influencia de la temperatura sobre aspectos físico-químicos, un aumento de la temperatura disminuye la solubilidad de los gases, favoreciéndose así la transferencia líquido-gas. Además, una mayor temperatura incrementa la solubilidad de las sales orgánicas, por lo que el sustrato orgánico está más disponible para los microorganismos. Por último, la temperatura afecta directamente a los equilibrios ácido-base tales como $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ o HA/A^- , donde HA y A^- corresponden con las formas protonada y desprotonada, respectivamente, de los AGV. Las formas no ionizadas, que tienen mayor potencial de inhibición sobre los microorganismos, están favorecidas a elevadas temperaturas.

Tiempo de retención celular (TRC)

El tiempo de retención celular, tiempo de retención de sólidos o edad del fango, son términos que se refieren al tiempo medio teórico que permanecen los microorganismos en el interior de un sistema de tratamiento de aguas residuales. Este parámetro operacional tiene gran influencia sobre el desarrollo de unas u otras poblaciones de microorganismos, de forma que debe ser suficiente para asegurar el crecimiento de los distintos tipos de organismos que constituyen la biomasa. En sistemas de tratamiento anaerobios, la reducida velocidad de crecimiento de los microorganismos involucrados en el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica hace necesario mantener un elevado TRC para evitar el lavado de la biomasa. van Lier y otros (2008) propusieron, como regla general, que el TRC necesario para que un proceso anaerobio se desarrolle de forma adecuada debería ser, como mínimo, tres veces el tiempo que tarda en duplicarse la biomasa que lleva a cabo la etapa limitante.

En un sistema anaerobio, el TRC viene condicionado por el grado de reducción del porcentaje de sólidos suspendidos volátiles que se desee alcanzar. Al aumentar el TRC, aumenta la proporción de materia orgánica degradada así como la producción de metano, aunque este último valor comenzará a disminuir una vez alcanzado el óptimo. Por ello, el TRC debe ser optimizado experimentalmente para cada sistema concreto en función de la temperatura, la biodegradabilidad del sustrato y el tipo de digester.

En un proceso de digestión anaerobia de fangos, se establecen TRC comprendidos entre 15 y 20 días, mientras que si se desea alcanzar una digestión más completa y un fango totalmente estabilizado, el TRC ha de establecerse entre 20 y 25 días.

Para el caso del tratamiento anaerobio de ARU, los valores de los TRC encontrados en la bibliografía difieren de los valores habituales para la digestión de fangos. Las menores cargas orgánicas de entrada, y el objetivo de eliminar las unidades de estabilización de fangos, incrementan notablemente los TRC utilizados. Por ello, en el tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas, es habitual encontrar valores de TRC en torno a los 60 días o incluso superiores (Jeison, 2007).

Adicionalmente, en el apartado 1.4.6.2 se expondrá la necesidad de operar a temperatura ambiente para poder llevar a cabo el tratamiento anaerobio del ARU de una forma sostenible. De forma general, el efecto de la disminución de la temperatura sobre la biomasa anaerobia suele consistir en un descenso en la velocidad de hidrólisis, en la velocidad máxima de crecimiento y en la velocidad de consumo de sustrato, por lo que a baja temperatura suele ser necesario operar a TRC de aproximadamente el doble que si el proceso se conduce bajo condiciones mesofílicas (Kashyap y otros, 2003).

En sistemas de tratamiento sin retención de la biomasa, el TRC coincide con el TRH, por lo que este tipo de sistemas no suelen ser adecuados para el tratamiento anaerobio de corrientes con elevado caudal, como las de ARU, dado que requerirían un gran volumen de reacción que, como se ha expuesto en el apartado 1.4.6.1 implicaría una importante inversión inicial.

Actualmente, existen diferentes sistemas para el tratamiento anaerobio de aguas residuales que permiten retener la biomasa dentro del sistema en mayor o menor medida. La retención de la biomasa suele conseguirse de diferentes maneras:

- ✓ mediante su inmovilización en gránulos con buenas características de sedimentación (UASB, EGSB,),
- ✓ mediante la aplicación de un soporte que facilite la adherencia de los microorganismos (USSB), o

- ✓ mediante la imposición de una barrera física que posibilite la separación sólido-líquido (AnMBR).

Este tipo de sistemas posibilitan mantener elevados TRC, independientemente del TRH al que se desee trabajar.

En concreto, los AnMBR permiten retener completamente la fracción suspendida, por lo que resultan especialmente útiles en el tratamiento anaerobio de ARU a baja temperatura, donde la desintegración e hidrólisis de la materia orgánica suspendida suele ser la etapa limitante. La fracción suspendida de la materia orgánica quedará retenida dentro del reactor, de modo que puede ser finalmente hidrolizada y degradada. Además, este tipo de sistemas posibilitan un control óptimo del TRC, con la ventaja añadida de ofrecer un efluente de elevada calidad.

En este tipo de reactores, el TRC resulta un parámetro operacional muy importante dado que, además de influir sobre el funcionamiento del proceso biológico, también lo hace sobre el proceso físico de separación.

Tiempo de retención hidráulico (TRH) y Velocidad de carga orgánica (VCO)

En el contexto del tratamiento de aguas residuales, el TRH se define como el tiempo medio que permanece el agua residual en el interior del sistema de tratamiento. De este modo, para un caudal de tratamiento determinado, el volumen de reactor requerido se reducirá al reducirse el TRH necesario para llevar a cabo el tratamiento de forma eficiente. Cuando lo que se pretende tratar es ARU, los caudales a tratar suelen ser elevados, por lo que ajustar adecuadamente el TRH puede conllevar una importante reducción en las necesidades de volumen de reactor, que se traducirán en una menor inversión. Así pues, el TRH es un parámetro operacional al que se le presta especial atención en el tratamiento de ARU.

La velocidad de carga orgánica (VCO) es la cantidad de materia orgánica introducida diariamente en el reactor por unidad de volumen, siendo directamente dependiente de la concentración de sustrato y del TRH fijado. En ausencia de inhibidores, altas cargas orgánicas proporcionan altas producciones volumétricas de biogás aunque también aumenta el riesgo de sobrecargas puntuales que podrían provocar la desestabilización del sistema.

Agitación

Una adecuada agitación de los reactores anaerobios es esencial para garantizar el proceso de degradación de la materia orgánica. Con una correcta agitación del licor mezcla se consiguen las siguientes ventajas:

- Hace posible el contacto entre la biomasa y el sustrato fresco, evitando la presencia de gradientes de concentración.
- Se elimina la estratificación térmica, consiguiéndose una temperatura uniforme en todo el reactor.
- Se reduce la resistencia a la transferencia de materia, favoreciéndose la salida de los productos gaseosos.
- Se previene la formación de costras y espumas en la superficie del líquido, así como la sedimentación en el reactor.
- Se evita la formación de zonas muertas en el reactor, que reducirían su volumen útil, así como la formación de caminos preferenciales.

La velocidad de agitación debe ser suficiente para asegurar los objetivos anteriores, sin producir la rotura de los agregados bacterianos. Un valor típico de la potencia para digestores anaerobios estaría entre los 5-8 W/m³ (Grady y, otros 2011). La EPA (US Environmental Protection Agency) recomienda una agitación en torno a los 5,3 W/m³ mientras que otros autores han señalado potencias medias superiores alrededor de 15 W/m³ (Tchobanoglous y otros, 2003).

La agitación de los reactores anaerobios se realiza, bien mediante algún sistema de agitación mecánica o mediante la reintroducción del propio biogás producido. Este último método de mezclado presenta las siguientes ventajas:

- Mejora el contacto gas-líquido y por tanto los procesos de transferencia de compuestos entre ambas fases.
- Favorece la obtención de un pH estable de operación (Ruano y otros, 2010; Robles y otros, 2012), gracias al arrastre y extracción desde la fase líquida de los gases disueltos, y al equilibrio gas-líquido de los componentes del biogás producido (generalmente de composición constante con el tiempo).

- Minimiza la fricción y tensiones cortantes que aporta un sistema de agitación mecánica, reduciéndose por tanto la rotura de los flóculos formados.

1.4.6.2 Parámetros Ambientales.

Temperatura

En la mayoría de países desarrollados, el ARU suele contener una baja carga orgánica ($[DBO]_5$ entre 110 y 350 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) y una elevada tasa de producción per cápita (entre 190 y 460 $\text{L}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{hab.eq.}^{-1}$) (Pons y otros, 2004). El potencial de recuperación energética de las aguas residuales con baja carga es reducido, por lo que calentarlas hasta el rango mesofílico sería económicamente inviable. Martín y otros (2011) evaluaron las demandas energéticas de biorreactores de membrana aerobios y anaerobios con la finalidad de comparar ambas tecnologías de tratamiento. Tras evaluar la producción de biogás en diferentes AnMBR, concluyó que para poder calentar un reactor anaerobio hasta condiciones mesofílicas a partir de la combustión del biogás generado, serían necesarios entre 4 y 5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de DQO. Así pues, operar a temperatura ambiente resulta un requisito necesario para poder llevar a cabo el tratamiento anaerobio del ARU de una forma sostenible. En estos casos, la temperatura debe ser considerada como un parámetro ambiental y no operacional.

Hasta la fecha, el tratamiento anaerobio del ARU únicamente se ha implementado a escala industrial en regiones tropicales y subtropicales, donde el aporte exógeno de energía es innecesario, dado que se benefician de la elevada temperatura del ARU (Aiyuk y otros, 2006).

Mientras que para climas cálidos, la aplicación de tratamientos anaerobios está ampliamente aceptada, para el caso de climas templados resulta imprescindible demostrar la viabilidad de dicho sistema de tratamiento. La temperatura del ARU en países con climas templados de latitudes medias suele variar de forma estacional, pudiendo alcanzar temperaturas de entre 5 y 10 °C durante los períodos invernales.

Operar bajo condiciones psicrófilicas implica un descenso en la velocidad máxima de crecimiento y en la velocidad de consumo de sustrato (Lettinga y otros, 2001). Diversos autores apuntan a las etapas de desintegración, hidrólisis y solubilización de los compuestos orgánicos complejos como las limitantes en la degradación anaerobia de la materia orgánica,

especialmente a baja temperatura (Seghezzi y otros, 1998; Lettinga y otros, 2001; Lee y Rittmann, 2011).

Lettinga y otros (2001) propusieron que la viabilidad de los sistemas de tratamiento anaerobio de ARU bajo condiciones psicofílicas depende principalmente de:

- ✓ La disponibilidad de inóculo adaptado a condiciones submesofílicas.
- ✓ La capacidad de retención de la biomasa, incluso a elevados TRH.
- ✓ La capacidad de homogeneización para facilitar el contacto entre los organismos y los sustratos presentes.
- ✓ Los tipos de contaminantes presentes en el ARU.

pH y alcalinidad.

El pH juega un papel fundamental en el crecimiento de la biomasa anaerobia. Los microorganismos anaerobios presentan un nivel de actividad óptimo en torno a la neutralidad por lo que para que el proceso funcione de forma satisfactoria, el pH de operación de un digester anaerobio debe mantenerse entre 6 y 8.

Para valores de pH comprendidos entre 7 y 7,5, las poblaciones de organismos metanogénicos y sulfatorreductores muestran tasas de crecimiento similares. Sin embargo, por encima de este rango, los organismos metanogénicos presentan condiciones de crecimiento más favorables que los sulfatorreductores, mientras que por debajo de este, son los organismos sulfatorreductores los que están favorecidos (O'Flaherty y otros, 1998). De hecho, los organismos metanogénicos son muy sensibles a los valores de pH bajos. Si el pH alcanza valores inferiores a 6,2, los organismos metanogénicos acetotróficos comienzan a disminuir su actividad, originándose un desequilibrio entre la producción y el consumo de ácido acético. Este desequilibrio conlleva la acumulación de ácido acético en el interior del reactor que, a su vez, contribuye a disminuir el pH del medio. Así pues, la disminución del pH puede dar lugar a un proceso autoinducido de acidificación del reactor, cuyo resultado final es el cese total de la actividad de los organismos metanogénicos.

La acidificación del reactor puede ralentizarse, o incluso evitarse, si el sistema tiene capacidad para amortiguar las variaciones de pH. La alcalinidad, o capacidad tampón del medio,

puede ser proporcionada por un amplio conjunto de sustancias. A pH próximos a la neutralidad, el tampón que controla mayoritariamente el pH es el formado por el par $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$. Otros equilibrios ácido-base, tales como el sistema $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$, también influyen en el mantenimiento del pH. Valores de la alcalinidad entre 2000 y 2500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, aseguran un buen control del pH y una adecuada estabilidad del sistema (Zhao y Viraraghavan, 2004).

La estabilidad de los procesos anaerobios frente a la acidificación puede evaluarse en términos de la relación de alcalinidad (RA), que se define como el cociente entre la alcalinidad intermedia (ALC_I), que únicamente incluye la alcalinidad asociada a los AGV, y la alcalinidad total (ALC_T), que también incluye la alcalinidad asociada a otros sistemas tampón (i.e., $\text{CO}_3^{2-}/\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$; $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$; $\text{PO}_4^{3-}/\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{H}_3\text{PO}_4$; $\text{S}^{2-}/\text{HS}^-/\text{H}_2\text{S}$), y que es un indicador bastante sensible de la posible acumulación de ácidos en un reactor anaerobio. Se considera que una relación $\text{ALC}_I/\text{ALC}_T$ inferior a 0,3 proporciona una correcta estabilidad operacional. Un aumento continuado indica claramente que está teniendo lugar un proceso de desestabilización en el proceso, mientras que valores por encima de 0,8 indican una inhibición de la población metanogénica y la acidificación del sistema (Ferrer y Seco, 2007).

Nutrientes

Como en todo sistema biológico, la presencia de nutrientes en cantidad suficiente en los procesos anaerobios es esencial para el crecimiento de los microorganismos. Sin embargo, debido al reducido rendimiento celular que caracteriza a los microorganismos anaerobios, sus requisitos nutricionales son también bajos, por lo que todos los nutrientes necesarios para su crecimiento suelen estar presentes de forma natural en las ARU. Así pues, cuando se pretende tratar esta corriente anaerobiamente, no suele ser necesario aportar nutrientes de forma adicional.

Las necesidades de nitrógeno (N) y fósforo (P) para la síntesis de nuevas células en procesos anaerobios son similares a las de los procesos aerobios: 0,087 $\text{g N}\cdot\text{g}^{-1} \text{DQO}_{\text{Biomasa}}$ y 0,017 $\text{g P}\cdot\text{g}^{-1} \text{DQO}_{\text{Biomasa}}$ (Ferrer y Seco, 2007). Basándose en consideraciones relativas a la composición de la materia celular y las condiciones operacionales de un sistema de tratamiento anaerobio, Mata-Alvarez (2003) recomienda mantener las concentraciones de N y P en un rango tal que la relación DQO/N/P se mantenga entre 300/5/1 y 1000/7/1.

Además del N y P, existen otras sustancias como el azufre, las vitaminas, o elementos minerales tales como Fe, Ni, Mg, Ca, Na, Ba, Tu, Mo, Se y Co, cuya presencia en concentraciones traza es necesaria para el desarrollo bacteriano.

Tóxicos e inhibidores.

Existen numerosos compuestos (que pueden formar parte del agua residual o ser generados por la propia actividad metabólica de los microorganismos), cuya presencia ejerce un efecto adverso sobre la actividad de uno o varios grupos tróficos, inhibiendo su crecimiento.

La inhibición del crecimiento microbiano suele provocar la disminución de la producción estacionaria de metano y la acumulación de ácidos orgánicos (Kroeker y otros, 1979). Si la concentración del compuesto inhibitorio aumenta, éste puede causar la muerte por envenenamiento de la población microbiana y detener completamente el proceso, calificándose en tal caso de compuesto tóxico.

Existe cierta controversia sobre la diferencia entre compuestos tóxicos e inhibidores, aunque de forma general se considera que cuando la concentración de una sustancia inhibitoria aumenta, se produce la toxicidad. Esto viene a confirmar lo que, ya en el siglo XVI, anticipaba *Paracelso*: “*Todo es veneno. Nada es veneno: la diferencia está en la dosis*”.

En la bibliografía existe una enorme variabilidad en cuanto al valor de la concentración de numerosas sustancias que resulta inhibitorio/tóxico. Esta variabilidad puede atribuirse en gran medida al efecto de diferentes mecanismos como el antagonismo, sinergismo, aclimatación y acomplejamiento sobre el fenómeno de la inhibición. A continuación se describe brevemente cada uno de los mecanismos citados.

- *Antagonismo*. Mecanismo mediante el cual la toxicidad de un ión se ve reducida por la presencia de otros(s) ion(es).
- *Sinergismo*. Mecanismo mediante el cual la toxicidad de un ión se ve incrementada por la presencia de otro(s) ion(es).
- *Aclimatación*. Mecanismo mediante el cual un determinado grupo de microorganismos se adapta a un compuesto tóxico. Consiste en la exposición a concentraciones cada vez mayores de compuesto inhibitorio.

- *Acomplejamiento*. Fenómeno mediante el cual se mitiga el efecto tóxico de los metales pesados. Consiste en la combinación de un metal pesado con un agente quelante para formar un complejo o quelato. De este modo se consigue que el metal pesado no se combine con grupos reactivos esenciales para las funciones fisiológicas.

A continuación se describen brevemente los efectos de los compuestos que más comúnmente presentan problemas de inhibición/toxicidad en digestores anaerobios.

Cationes y metales pesados

La presencia en concentraciones moderadas de cationes metálicos tales como Na^+ , K^+ , Ca^{+2} y Mg^{+2} , son necesarios para estimular el crecimiento de los microorganismos. Sin embargo, una concentración excesiva puede tener un efecto tóxico, e incluso inhibitorio, sobre el proceso. El efecto tóxico de las sales está determinado predominantemente por el catión, y consiste en que, a elevadas concentraciones, provocan la deshidratación de las células debido a la regulación osmótica (Chen y otros, 2008). La Tabla 4 muestra las concentraciones estimulantes, inhibitorias y tóxicas de los principales cationes metálicos.

<i>Catión</i>	<i>Concentración (mg·L⁻¹)</i>		
	<i>Estimulación</i>	<i>Inhibición</i>	<i>Toxicidad</i>
Na^+	100 - 200	3500 - 5500	> 8000
K^+	200 - 400	2500 - 4500	> 12000
Ca^{+2}	100 - 200	2500 - 4500	> 8000
Mg^{+2}	75 - 150	1000 - 1500	> 3000

Tabla 4. Concentraciones normales, inhibitorias y tóxicas de algunos cationes. Adaptado de Grady y otros (2011).

Tal y como se puede observar en la Tabla 5, el efecto inhibitorio de los metales pesados sobre el proceso anaerobio es mucho mayor que el de los cationes metálicos. Una característica distintiva de estos compuestos es que no son biodegradables, por lo que pueden acumularse hasta concentraciones potencialmente tóxicas. En el caso de los metales pesados, el efecto tóxico se atribuye a la alteración de la funcionalidad y la estructura de determinadas enzimas mediante el enlace de los metales con grupos reactivos de las moléculas de proteína, o mediante la sustitución de metales presentes de forma natural en los grupos prostéticos de las enzimas (Chen y otros, 2008).

<i>Catión</i>	<i>Concentración (mg·L⁻¹)</i>
Fe ⁺²	1 - 10
Zn ⁺²	10 ⁻⁴
Cd ⁺²	10 ⁻⁷
Cu ⁺	10 ⁻¹²
Cu ⁺²	10 ⁻¹⁶

Tabla 5. Concentración soluble de algunos metales pesados necesaria para causar una inhibición del 50% del proceso. Adaptado de Grady y otros (2011).

Afortunadamente, sólo las formas solubles, que normalmente precipitan en presencia de sulfuros, son tóxicas por lo que la concentración residual que queda en la solución suele ser muy baja.

Sulfuros y sulfatos

Es posible distinguir entre dos tipos de inhibición diferentes relacionadas con la reducción del sulfato. La inhibición primaria se debe a la competición con los organismos que llevan a cabo la degradación anaerobia metanogénica de la materia orgánica, por los sustratos orgánicos comunes. Dada la importancia de la la inhibición primaria en el presente trabajo de investigación, se describirá con mayor detalle en el apartado 1.5.

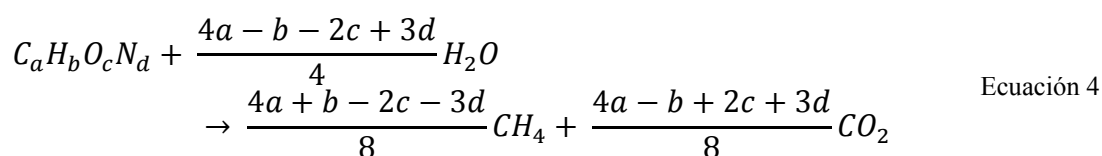
La inhibición secundaria se debe al efecto tóxico que exhibe el sulfuro sobre diversos grupos de microorganismos, y se describe a continuación.

El mecanismo mediante el cual el sulfuro ejerce su efecto tóxico sobre los diferentes grupos tróficos que coexisten en un sistema de tratamiento anaerobio sigue siendo una incógnita. Sin embargo, en una revisión bibliográfica realizada por (Chen y otros, 2008), se citan diversos estudios que apuntan hacia la forma no disociada del sulfuro (H₂S) como la más tóxica, dado que es capaz de atravesar la membrana celular. Tras atravesar la membrana celular, el H₂S ejerce su efecto tóxico de diferentes maneras: i) desnaturalizando proteínas nativas al formar enlaces sulfuro y disulfuro entre cadenas polipeptídicas, ii) interfiriendo con los enlaces sulfuro de las coenzimas A y M, e iii) interfiriendo en el metabolismo asimilatorio del azufre. Otros estudios observaron una elevada correlación entre la actividad metanogénica acetoclástica específica máxima y la concentración de H₂S para valores de pH comprendidos en el rango 6,4 - 7.2, mientras que a pH comprendidos entre 7,8 y 8,0 dependió de la concentración de sulfuro total.

También existe bastante discrepancia en la bibliografía en cuanto a los umbrales de inhibición por sulfuro para los diferentes grupos de microorganismos, y en cuanto a que etapas de la degradación anaerobia se ven más negativamente afectadas por la presencia de sulfuro. Estas discrepancias se deben a que la mayoría de estudios de inhibición por sulfuros han sido realizados mediante la adición de sulfuro al medio, en lugar de sulfato, de modo que no se ha tenido en cuenta la inhibición primaria por competición entre organismos sulfatorreductores y no sulfatorreductores por los sustratos comunes. Además, en muchos de estos estudios no se ha incluido el valor del pH al que se han conducido los diferentes experimentos, resultando imposible extraer conclusiones fiables acerca de los umbrales de inhibición. De forma general, los umbrales de inhibición por sulfuro varían entre 100 y 800 mg S·L⁻¹ como sulfuro total, o entre 50 y 400 mg S·L⁻¹ como H₂S. El efecto tóxico del sulfuro parece afectar más negativamente a los diferentes grupos de microorganismos en el siguiente orden: Organismos metanogénicos > Organismos Acetogénicos ≈ Organismos Sulfatorreductores > Organismos fermentativos (Chen y otros, 2008).

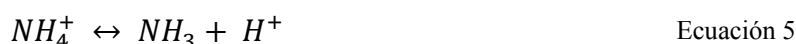
Nitrógeno amoniacal

El amonio es uno de los productos generados en la degradación biológica de proteínas y urea. La cantidad de amoniaco que se generará a partir de la degradación anaerobia de un sustrato orgánico puede estimarse a partir de la relación estequiométrica propuesta en la Ecuación 4 (Tchobanoglous y otros, 2003).



Aunque el nitrógeno amoniacal es un importante nutriente para el crecimiento de los microorganismos, una concentración excesivamente alta del mismo puede limitar su crecimiento. Hasta la fecha se han propuesto diversos mecanismos para explicar el efecto inhibitorio del nitrógeno amoniacal, como el cambio en el pH intracelular, el incremento de las necesidades de energía para mantenimiento y la inhibición de la acción de una enzima específica (Whittmann y otros, 1995).

El nitrógeno amoniacal es la suma del nitrógeno en forma de ión amonio (NH_4^+) y de amoníaco libre (NH_3). Ambas especies se encuentran en equilibrio químico, tal y como indica la Ecuación 5, y la concentración relativa de cada una depende del pH:



Generalmente, se asume que la especie química que causa inhibición es la no ionizada (NH_3), dado que es capaz de atravesar la membrana celular y difundirse pasivamente hacia el interior de la célula. Es por esto que el efecto inhibitorio aumenta a valores de pH alcalinos, cuando esta especie es la predominante.

Otro parámetro que determina la cantidad de nitrógeno amoniacal en el sistema es la naturaleza del sustrato, siendo aquellos residuos que contengan mayores proporciones de proteínas u otros compuestos nitrogenados los que presentan más problemas de inhibición por amoníaco.

En una revisión bibliográfica exhaustiva realizada recientemente por Chen y otros (2008), se pone de manifiesto la gran dispersión de valores del umbral de inhibición por nitrógeno amoniacal en procesos anaerobios, que pueden ser principalmente atribuidos a diferencias en el sustrato e inóculo utilizados, las condiciones ambientales (T y pH) y periodos de aclimatación. En general, concentraciones comprendidas entre 50 y 200 mg $\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$ son beneficiosas para el proceso, dado que el nitrógeno es un nutriente esencial para los microorganismos anaerobios. Sin embargo, se ha observado un efecto inhibitorio para concentraciones de nitrógeno amoniacal total ($\text{NH}_3+\text{NH}_4^+$) entre 1,7 y 14 g $\text{N}\cdot\text{L}^{-1}$, medido como la concentración para la cual se produce una reducción del 50 % en la producción de metano.

Ácidos grasos volátiles

La concentración de ácidos grasos volátiles (AGV), productos intermedios mayoritarios del proceso anaerobio, es uno de los parámetros que más eficazmente puede indicar la evolución del proceso biológico. De hecho, este parámetro es uno de los más utilizados en los sistemas de control debido a su rápida respuesta ante perturbaciones. Un ejemplo de ello es la acumulación de AGV que tiene lugar en el sistema cuando la velocidad de degradación de éstos, por parte de las bacterias responsables, disminuye. Por tanto, un aumento continuo en la concentración de AGV en el sistema siempre significa una desestabilización del proceso y en consecuencia, una

disminución de la producción de biogás. Existen diversos trabajos que han estudiado las concentraciones de AGV inhibitoras del proceso anaerobio. Sin embargo, los datos presentan gran dispersión debido a la variedad de factores influyentes.

A valores bajos del pH, predominan las formas no ionizadas de los AGV que son las que inhiben el proceso. Por tanto, el pH y la concentración de AGV son dos variables que se encuentran interrelacionadas en un digestor anaerobio.

Potencial redox

Conviene mantener el valor del potencial redox por debajo de -300 mV o -330 mV para asegurar las condiciones fuertemente reductoras necesarias para regenerar los cofactores involucrados en los mecanismos de transporte y eliminación de electrones en organismos acidogénicos, acetogénicos productores obligados de hidrógeno y metanogénicos, asegurando así su adecuada actividad.

1.5 Tratamiento anaerobio de aguas residuales con elevado contenido en sulfato.

El azufre es uno de los elementos más abundantes sobre la corteza terrestre, principalmente, como piritita (FeS_2) o yeso ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) en rocas y sedimentos, y como sulfato (SO_4^{2-}) en el agua marina. El ciclo del azufre es un ciclo bastante complejo, dado el amplio rango de estados de oxidación que puede presentar (desde -2 hasta +6), y porque las transformaciones entre los diferentes estados de oxidación pueden llevarse a cabo tanto química como biológicamente. Además, el ciclo del azufre está estrechamente relacionado con los ciclos de otros elementos como el carbono o el nitrógeno (Muyzer y Stams, 2008).

Los microorganismos juegan un papel fundamental en las transformaciones del azufre. Por una parte, el sulfato es la forma del azufre que asimilan la mayoría de bacterias para incorporarlo en compuestos biológicos (cisteína, metionina, co-enzima A, etc.) mediante el proceso denominado reducción asimilativa del sulfato (RAS). Por otra parte, el sulfato puede actuar como un aceptor final de electrones para un grupo determinado de microorganismos capaces de combinar la oxidación de compuestos orgánicos reducidos o de compuestos inorgánicos, con la reducción del sulfato hasta sulfuro con fines bioenergéticos. Este otro proceso es conocido como

reducción disimilativa del sulfato (RDS), y los microorganismos capaces de llevarlo a cabo se conocen como organismos sulfatorreductores (OSR).

1.5.1 Problemas asociados con la reducción disimilativa del sulfato.

El principal problema asociado con el tratamiento anaerobio de aguas residuales ricas en sulfato está ligado a la producción de sulfuro a través de la reducción disimilativa de sulfato (RDS), que puede ocasionar los siguiente problemas (Lens y otros, 1998):

- Inhibición directa de los organismos metanogénicos, acetogénicos y los propios organismos sulfatorreductores (ver apartado 1.4.6.2).
- Inhibición indirecta de la metanogénesis al precipitar metales no alcalinos (cobalto, níquel, etc.), que son nutrientes esenciales para los organismos metanogénicos, con el sulfuro.
- Corrosión en las instalaciones de tratamiento, incrementando la inversión necesaria y los costes de mantenimiento.
- Necesidad de realizar un post-tratamiento adicional debido a la presencia de sulfuro en el efluente que, además, puede tener un efecto adverso sobre dicho post-tratamiento (bulking, etc.).

Por otra parte, el efecto más obvio sobre la metanogénesis es la reducción del rendimiento a metano por unidad de DQO eliminada. Parte de los compuestos orgánicos presentes en el agua residual son utilizados por organismos sulfatorreductores, por lo que no son convertidos en metano. La reducción del rendimiento a metano afecta negativamente al balance energético global del proceso. Además, parte del sulfuro generado acaba pasando al biogás, por lo que será generalmente necesario un pre-tratamiento para eliminarlo antes de su aprovechamiento energético.

A pesar de los inconvenientes planteados, existen algunos aspectos positivos asociados a la presencia de sulfato en el tratamiento anaerobio de las ARU. Los organismos sulfatorreductores son capaces de metabolizar un rango mucho más amplio de sustratos y no requieren un crecimiento balanceado con los organismos acetógenos, implicando una menor sensibilidad a las sobrecargas orgánicas. Además, los organismos sulfatorreductores no sólo presentan menor sensibilidad frente a los tóxicos, sino que són capaces de reducir el efecto inhibitorio, sobre

otros grupos de organismos, de los metales pesados (precipitación con sulfuro) y de compuestos orgánicos tóxicos (metabolismo de compuestos aromáticos, alcanos, compuestos clorados, y ácidos grasos de cadena larga).

1.5.2 Competición por los sustratos disponibles.

En presencia de sulfato, la degradación de los compuestos orgánicos puede llevarse a cabo bajo condiciones metanogénicas o sulfurogénicas, dado que los organismos sulfatorreductores y los organismos involucrados en la degradación metanogénica competirán por los sustratos comunes disponibles en los diferentes niveles de la degradación anaerobia. De este modo, la competición puede tener lugar entre (Colleran y otros, 1995):

- Organismos sulfatorreductores y organismos fermentativos, por los compuestos monoméricos resultantes de la hidrólisis de carbohidratos y proteínas, i.e., azúcares y aminoácidos.
- Organismos sulfatorreductores y organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno, por los productos intermedios de la fermentación de azúcares y aminoácidos, i.e., propionato, butirato, etc., y por los AGV de cadena larga.
- Organismos sulfatorreductores y organismos homoacetogénicos por el hidrógeno.
- Organismos sulfatorreductores y organismos metanogénicos, por los sustratos directos de la metanogénesis, i.e., hidrógeno, formiato, acetato, metanol y piruvato.

La Figura 11 ilustra las posibles rutas metabólicas de degradación de la materia orgánica bajo condiciones anaeróbicas metanogénicas y sulfurogénicas.

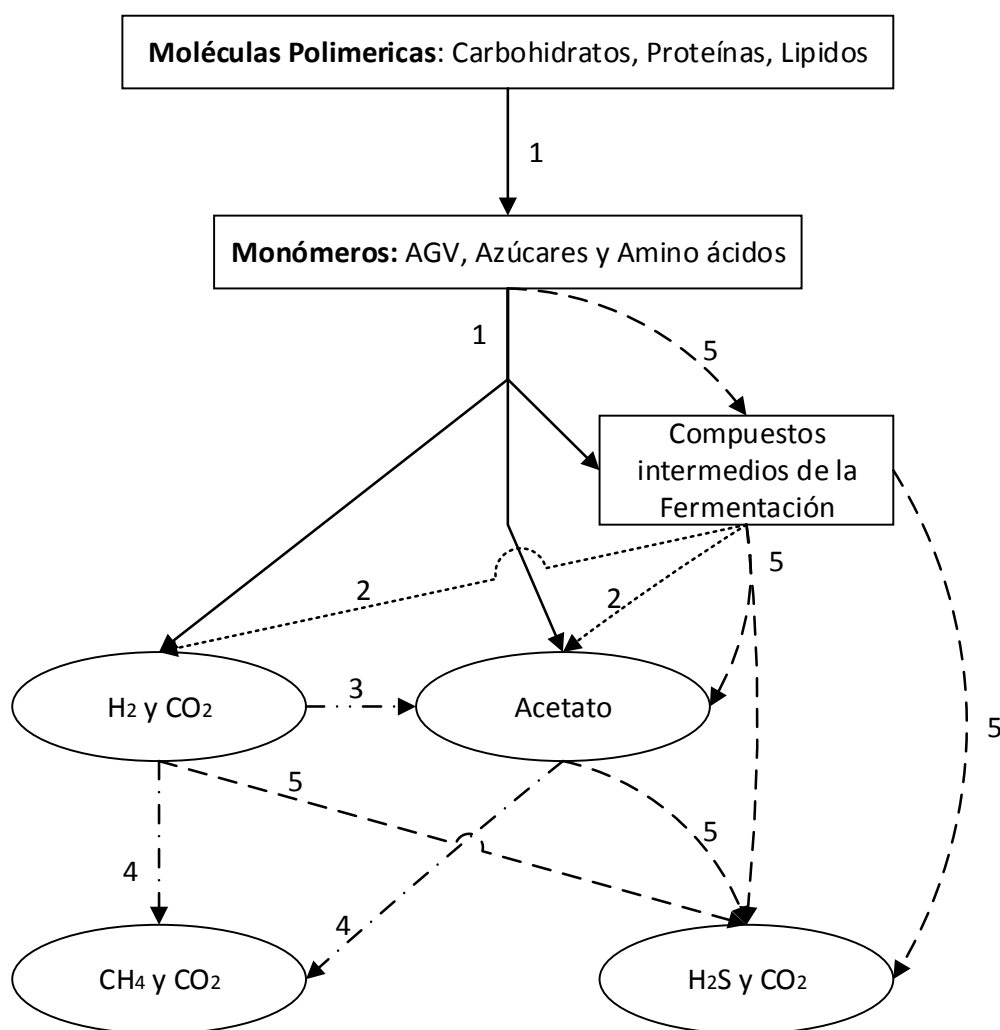


Figura 11. Rutas de degradación de la materia orgánica bajo condiciones metanogénicas o sulfurogénicas: adaptado de Colleran y otros (1995). Organismos fermentativos (1), organismos Acetogénicos productores obligados de hidrógeno (2), organismos homoacetogénicos (3), organismos metanogénicos (4), y organismos sulfatorreductores (5).

Además, en la Tabla 6 se muestran algunas de las conversiones acetogénicas, metanogénicas y sulfurogénicas que tienen lugar en ambientes anaerobios metanogénicos y sulfurogénicos, con sus respectivos cambios en la energía libre de Gibbs ($\Delta G^{0'}$). De forma general, se observa que las reacciones acetogénicas son endotérmicas ($\Delta G^{0'} > 0 \text{ KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$), mientras que las reacciones metanogénicas y sulfurogénicas resultan exotérmicas ($\Delta G^{0'} < 0 \text{ KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$).

		$\Delta G^{0'}$ (Kj·mol ⁻¹)
Reacciones Sulfurogénicas		
$4 H_2 + SO_4^{2-} + H^+$	$\rightarrow HS^- + 4H_2O$	-38.1
$Acetato^- + SO_4^{2-}$	$\rightarrow 2HCO_3^- + HS^-$	-47.6
$Propionato^- + \frac{3}{4}SO_4^{2-}$	$\rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + \frac{3}{4}HS^- + \frac{1}{4}H^+$	-37.7
$Propionato^- + \frac{7}{4}SO_4^{2-} + \frac{1}{4}H_2O$	$\rightarrow \frac{7}{4}HS^- + 3HCO_3^- + \frac{1}{2}H^+ + \frac{1}{4}OH^-$	-
$Butirato^- + \frac{1}{2}SO_4^{2-}$	$\rightarrow 2Acetato^- + \frac{1}{2}HS^- + \frac{1}{2}H^+$	-27.8
$Butirato^- + \frac{5}{2}SO_4^{2-} + \frac{1}{4}H_2O$	$\rightarrow \frac{5}{2}HS^- + 4HCO_3^- + \frac{3}{4}H^+ + \frac{1}{4}OH^-$	-
$Lactato^- + \frac{1}{2}SO_4^{2-}$	$\rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + \frac{1}{2}HS^- + \frac{1}{2}H^+$	-80.0
$Etanol + \frac{1}{2}SO_4^{2-}$	$\rightarrow Acetato^- + \frac{1}{2}HS^- + \frac{1}{2}H^+ + H_2O$	-66.4
Reacciones metanogénicas		
$4 H_2 + HCO_3^- + H^+$	$\rightarrow CH_4 + 3H_2O$	-33.9
$Acetato^- + H_2O$	$\rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	-31.0
Reacciones sintróficas acetogénicas		
$Propionato^- + 3H_2O$	$\rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + H^+ + 3H_2$	+76.1
$Butirato^- + 2H_2O$	$\rightarrow 2Acetato^- + H^+ + 2H_2$	+48.3
$Lactato^- + 2H_2O$	$\rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + H^+ + 2H_2$	-4.2
$Etanol + H_2O$	$\rightarrow Acetato^- + H^+ + 2H_2$	+9.6

Tabla 6. Reacciones sulfurogénicas, metanogénicas y acetogénicas involucradas en la degradación anaerobia de la materia orgánica (Thauer y otros, 1977).

Para poder comprender los factores que controlan la competición entre la metanogénesis y la sulfurogénesis en reactores anaerobios tratando aguas residuales que contienen sulfato, resulta necesario contar con un conocimiento profundo de la microbiología y la bioquímica de la reducción disimilativa del sulfato. Los organismos sulfatorreductores se caracterizan por llevar a cabo la reducción de sulfato como principal componente de sus procesos bioenergéticos. Sin embargo, existe una gran diversidad morfológica, ecológica, nutricional y metabólica dentro de este grupo de microorganismos (Hansen, 1993)

A nivel morfológico, Campbell y Postgate (1965) propusieron inicialmente la organización de los organismos sulfatorreductores en dos grandes géneros: i) bastones formadores de esporas con un bajo contenido de Guanina-Citosina, y ii) vibrios y espirilos no formadores de esporas con un elevado contenido en Guanina-Citosina. Una clasificación filogenética más actual divide a los organismos sulfatorreductores en 7 grupos, 5 de los cuales pertenecen al dominio de las

bacterias y los otros 2 al dominio de las archaeas. Dentro de estos grupos se han clasificado más de 140 especies diferentes pertenecientes a 35 géneros (Rickard, 2012).

Desde un punto de vista metabólico, los organismos sulfatorreductores estarían aparentemente divididos en dos categorías: i) las especies o géneros capaces de oxidar completamente los AGV hasta CO₂, y ii) las que llevan a cabo una oxidación incompleta, generalmente hasta acetato, debido a que carecen de una ruta bioquímica para la oxidación de acetyl-CoA hasta CO₂ (ciclo modificado de los ácidos tricarbónicos o ruta del acetyl-CoA).

En cuanto a la diversidad nutricional, Hansen (1993) puso de manifiesto que el rango de sustratos que utilizan es extremadamente diverso, incluyendo prácticamente todo tipo de compuestos monoméricos. A modo de resumen, la Tabla 7 presenta los diferentes tipos de sustratos que, hasta la fecha, se conoce que pueden ser metabolizados por organismos sulfatorreductores.

<i>Clase</i>	<i>Compuesto</i>
Ácidos alifáticos monocarbónicos	Formato, acetato, propionato, butirato, isobutirato, 2-metilbutirato, 3-metilbutirato, 3-metilvalerato, ácidos grasos hasta C ₂₀ , piruvato, lactato.
Ácidos dicarbónicos	Succinato, fumarato, malato, oxalato, maleinato, glutarato, pimelato.
Alcoholes	Metanol, etanol, 1- y 2-propanol, 1- y 2-butanol, isobutanol, 1-pentanol, etilen-glicol, 1-2-propanodiol, 1-3-propanodiol, glicerol.
Aminoácidos	Glicina, serina, alanina, cisteína, cistina, treonina, valina, leucina, isoleucina, aspartato, glutamato, fenilalanina.
Azúcares	Fructosa, glucosa, manosa, xilosa, ramnosa.
Compuestos aromáticos	Aromáticos > 35: benzoato, fenol, indol, resorcinol, catecol, p-cresol, quinolina, ácido nicotínico, fenilacetato, vanilina, siringaldehído, trimetoxibenzoato, etc.
Otros	Grupos variados como la betaina, colina, furfural, acetona, ciclohexanona, etc.
Compuestos inorgánicos	H ₂ CO ₂

Tabla 7. Sustratos metabolizados por organismos sulfatorreductores (Hansen, 1993).

Visser (1995) propuso la utilización de los parámetros cinéticos del crecimiento (principalmente, la velocidad específica de crecimiento, μ_{MAX} , y la constante de semisaturación, K_S) para predecir el resultado de la competición entre microorganismos. En reactores continuos de tanque agitado (RCTA) en los que diferentes grupos de microorganismos compitan por un mismo sustrato, el organismo con mayor μ_{MAX} será el que cuente con mayor ventaja en la competición cuando la concentración de sustrato sea elevada. Por el contrario, cuando la concentración de sustrato sea baja, será la relación μ_{MAX}/K_S la que ofrezca una indicación sobre el resultado de la competición.

Dado que los organismos sulfatorreductores dependen de la presencia del sulfato para poder llevar a cabo sus proceso bioenergéticos, la importancia de la competición entre los organismos sulfatorreductores y los organismos involucrados en la degradación metanogénica de la materia orgánica se incrementa a medida que disminuye la relación $DQO_T/S-SO_4$ del agua residual afluyente. El resultado de dicha competición determinará la distribución de los productos finales del proceso de degradación anaerobia, sulfuro y metano (Lens y otros, 1998).

1.5.2.1 Competición entre organismos sulfatorreductores y organismos fermentativos.

Los organismos sulfatorreductores son incapaces de tomar parte en la hidrólisis de polímeros orgánicos, i.e., proteínas, carbohidratos y lípidos (Hansen, 1993), por lo que se acepta de forma general que no son capaces de competir efectivamente con los organismos involucrados en la hidrólisis de dichos polímeros y en la fermentación posterior de los monómeros. De este modo, a pesar de que se han aislado algunos organismos sulfatorreductores capaces de crecer a partir de la fermentación sulfurogénica de azúcares y aminoácidos, es más probable que compitan por los sustratos de las últimas etapas de la degradación anaerobia de la materia orgánica, que en las etapas fermentativas iniciales (Colleran y otros, 1995).

1.5.2.2 Competición entre organismos sulfatorreductores y organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno.

La participación de los organismos sulfatorreductores en la degradación de los compuestos intermedios de la fermentación, i.e., propionato, butirato, etanol, lactato, etc., es compleja y puede involucrar diferentes asociaciones sintróficas, en función de las concentraciones de

sulfato y sulfuro, la concentración de sustrato y la presión parcial de hidrógeno. De forma teórica, se podrían contemplar cuatro posibles escenarios:

1. Oxidación completa de los compuestos intermedios de la fermentación hasta CO₂ y sulfuro por los organismos sulfatorreductores.
2. Oxidación incompleta de los compuestos intermedios de la fermentación hasta acetato por organismos sulfatorreductores, y posterior conversión del acetato por organismos metanogénicos acetoclásticos.
3. Degradación sintrófica de los compuestos intermedios de la fermentación por organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno con posterior utilización sulfurogénica del H₂ y acetato.
4. Crecimiento fermentativo de los organismos sulfatorreductores en ausencia de sulfato, y en asociación sintrófica con organismos metanogénicos acetoclásticos e hidrogenotróficos.

En exceso de sulfato ($DQO_T/S-SO_4 < 2 \text{ mg DQO} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ S}$), los organismos sulfatorreductores (tanto los que son capaces de oxidar los compuestos orgánicos de forma completa hasta CO₂, como los que lo hacen de forma incompleta hasta CH₃COOH) crecen mucho más rápido que los organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno, lo que confiere a los primeros una ventaja competitiva (Muyzer y Stams, 2008).

Desde un punto de vista ecológico, resulta interesante comprender la forma en la que los organismos sulfatorreductores interaccionan con las comunidades metanogénicas cuando el sulfato presente es insuficiente para oxidar toda la materia orgánica ($DQO_T/S-SO_4 > 2 \text{ mg DQO} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ S}$). Bajo condiciones limitantes de sulfato, los organismos sulfatorreductores compiten entre sí por el sulfato presente. Desafortunadamente, existen pocos estudios que aborden esta competición. Colleran y otros (1995) señalaron, basándose en un estudio previo de (Widdel, 1988), que los organismos sulfatorreductores que llevan a cabo una oxidación incompleta de los compuestos intermedios de la fermentación hasta acético pueden crecer más rápidamente que los que son capaces de llevar a cabo la oxidación completa de los mismos hasta CO₂. Por otra parte, Laanbroek y otros (1984) pusieron de manifiesto que los organismos de la especie *Desulfovibrio spp* tienen la mayor afinidad por el sulfato, seguida por *Desulfobulbus spp* y *Desulfobacter spp*, sugiriendo que bajo condiciones limitantes de sulfato,

los organismos sulfatorreductores utilizan preferiblemente el hidrógeno, el lactato, el propionato y el etanol como sustrato, frente al acetato.

En ausencia de sulfato, algunos organismos sulfatorreductores son capaces de obtener energía a partir de la fermentación de algunos sustratos orgánicos. De forma general, se pueden distinguir dos subgrupos: i) los que son capaces de fermentar compuestos orgánicos, independientemente de la presión parcial de hidrógeno que prevalezca en el sistema, y ii) los que únicamente son capaces de llevar a cabo la fermentación cuando la presión parcial de hidrógeno se mantiene muy baja (Hansen, 1993). Este último grupo funciona de una manera similar a los organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno, que actúan simtróficamente con los organismos metanogénicos hidrogenotróficos, que mantienen baja la presión parcial de hidrógeno.

Los resultados anteriores coinciden con los encontrados por Dar y otros (2008) en un estudio que trataba de relacionar la estructura de la población microbiana con los cambios funcionales de comunidades anaerobias naturales. El estudio se llevó a cabo en reactores continuos de tanque agitado (RCTA) a escala de laboratorio que fueron alimentados con diferentes relaciones lactato-sulfato, y sin sulfato.

En condiciones de exceso de sulfato, los organismos sulfatorreductores presentaron una ventaja competitiva sobre acetogénicos y metanogénicos, siendo la principal ruta metabólica utilizada la de oxidación incompleta del lactato hasta acetato, utilizando al sulfato como aceptor final de electrones. Estos autores sugieren que a pesar de que la oxidación completa del lactato hasta CO₂ sería energéticamente favorable, la cinética de la reacción de oxidación completa no posibilitaría una competición eficiente de los organismos que oxidan completamente el lactato hasta CO₂ frente a los organismos que lo oxidan de forma incompleta. Sin embargo, también sugieren que la competición real entre los organismos que oxidan parcial o completamente el lactato vendrá dada por la afinidad por el lactato (μ_{\max}/K_S), por lo que no es posible descartar que los organismos que oxidan totalmente al lactato puedan adquirir ventaja competitiva en condiciones limitantes de lactato a largo plazo.

Bajo condiciones limitantes de sulfato, la presencia de propionato y acetato en el efluente (además de sulfuro) sugirió que la ruta metabólica predominante fue la de fermentación parcial

del lactato hasta una mezcla de propionato y acetato. Bajo estas condiciones, los organismos acetogénicos y metanogénicos no experimentaron ningún tipo de competición por el sustrato restante después de que el sulfato se agotara.

En ausencia de sulfato, la ruta metabólica dominante fue la de fermentación del lactato hasta acetato y propionato. La pérdida neta de dadores de electrones al realizar el balance global de electrones (15 % menos del acetato esperado en el efluente), y el incremento de la población metanogénica indicaron una posible interacción sintrófica entre organismos heteroacetogénicos y metanogénicos.

1.5.2.3 Competición entre organismos sulfatorreductores y organismos homoacetogénicos.

La posibilidad de competición entre organismos sulfatorreductores y organismos homoacetogénicos en ambientes anaerobios ha sido abordada por pocos estudios. (Zinder, 1993) puso de manifiesto que teniendo en cuenta aspectos termodinámicos y la afinidad por el sustrato (H_2), los organismos sulfatorreductores oxidantes de hidrógeno deberían aventajar a los organismos homoacetogénicos. Sin embargo, dado que los organismos homoacetogénicos son capaces de crecer heterotróficamente sobre un amplio rango de compuestos orgánicos, Zehnder y Stumm (1988) sugirieron que la subsistencia de estos microorganismos en digestores anaerobios estaría ligada a su habilidad mixotrófica y a su gran versatilidad.

1.5.2.4 Competición entre organismos sulfatorreductores y organismos metanogénicos.

Tanto en ambientes naturales como en digestores, el hidrógeno y el acetato son los intermediarios clave de la degradación sulfurogénica y metanogénica, a través de los cuales se canaliza la materia orgánica hasta los productos finales de la degradación. Es por esto que la mayoría de los estudios sobre la competición entre organismos sulfatorreductores y organismos metanogénicos se centran en la competición por el hidrógeno y el acetato.

Competición por el hidrógeno

Desde un punto de vista termodinámico, los organismos sulfatorreductores deberían aventajar a los organismos metanogénicos hidrogenotróficos en la competición por el

hidrógeno, puesto que obtienen mayor energía a partir de su consumo (McCartney y Oleszkiewicz, 1993).

Oude Elferink y otros (1994) sugirieron el uso de los parámetros cinéticos de organismos sulfatorreductores y metanogénicos para predecir el resultado de la competición por los sustratos comunes. Para bacterias creciendo en suspensión pueden utilizarse los parámetros cinéticos de Monod, como la constante de semisaturación (K_s), que es inversamente proporcional a la afinidad por el sustrato, y la velocidad específica de crecimiento (μ_{MAX}). En el caso de que el crecimiento de la biomasa sea despreciable, la cinética de Michaelis-Menten (K_m y V_{MAX}) puede dar una idea de qué organismo posee el sistema enzimático más apropiado para degradar el sustrato en cuestión. A bajas concentraciones de sustrato, las relaciones V_{MAX}/K_m y μ_{MAX}/K_s ofrecen una indicación del resultado de la competición. Trusman y Cork (1989) propusieron que los organismos sulfatorreductores presentan una mayor afinidad por el hidrógeno que los organismos metanogénicos debido a que en los primeros, la enzima hidrogenasa se localiza en el periplasma, mientras que en los segundos se localiza en el citoplasma. Además, los organismos sulfatorreductores poseen un mayor rendimiento celular y una mayor velocidad de crecimiento a partir de hidrógeno que los organismos metanogénicos hidrogenotróficos.

Visser y otros (1993) detectaron una supresión completa de la actividad de los organismos metanogénicos hidrogenotróficos en reactores con biomasa inmovilizada tras pocas semanas de la adición de sulfato. Estos autores atribuyeron el cese de la actividad a que los organismos sulfatorreductores son capaces de mantener la concentración de hidrógeno por debajo de la concentración umbral mínima a partir de la cual los organismos metanogénicos hidrogenotróficos son capaces de obtener energía.

Una hipótesis alternativa es que los organismos sulfatorreductores son capaces de oxidar completamente los productos intermedios de la fermentación, por lo que la producción de hidrógeno es mucho menor. Sin embargo, esta hipótesis no daría cuenta del hidrógeno formado en la fermentación de la glucosa y los aminoácidos.

Competición por el acetato

Desde un punto de vista termodinámico, los organismos sulfatorreductores acetoclásticos obtienen una mayor cantidad de energía a partir del consumo de acetato que los organismos metanogénicos acetoclásticos (Colleran y otros, 1995; Oude Elferink y otros, 1994). Además, los organismos sulfatorreductores acetoclásticos suelen presentar mayores tasas de crecimiento, especialmente en reactores anaerobios operando a bajas concentraciones de acetato, por lo que cuando hay suficiente sulfato presente, es de esperar que los organismos sulfatorreductores acetoclásticos aventajen a los metanogénicos acetoclásticos en la competición por el acetato (Visser, 1995).

Esta hipótesis ha sido confirmada en estudios llevados a cabo en reactores continuos de mezcla completa, en los que no existe retención de biomasa (Middleton y Lawrence, 1977). Sin embargo, el resultado de la competición por el acetato (cuando hay sulfato presente) en reactores anaerobios de alta carga con retención de la biomasa (i.e., UASB, EGSB, AnMBR, etc.) es menos predecible. En este tipo de reactores, cabe tener en consideración algunos factores que pueden ser determinantes en el resultado de la competición:

Concentración de Sulfato

Mientras que el crecimiento de los organismos metanogénicos acetoclásticos depende únicamente de la concentración de acetato, el crecimiento de los organismos sulfatorreductores acetoclásticos depende tanto de la concentración de acetato, como de la concentración de sulfato. Así pues en función de la relación $DQO_T/S-SO_4$ del afluente, cabe distinguir entre 3 posibles escenarios:

- Bajo condiciones limitantes de sulfato ($DQO_T/S-SO_4 > 2 \text{ mg DQO} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ S}$) el crecimiento de los organismos sulfatorreductores estará limitado, por lo que los organismos metanogénicos acetoclásticos podrían llegar a ser los organismos predominantes. Además del efecto directo de la concentración de sulfato sobre la velocidad de crecimiento de los organismos sulfatorreductores acetoclásticos, existirá una competición entre organismos sulfatorreductores con diferentes metabolismos por el sulfato disponible. Como se ha mencionado en el apartado 1.5.2.2, los organismos sulfatorreductores consumen preferiblemente hidrógeno, lactato,

propionato o etanol antes que acetato, debido a que los organismos sulfatorreductores que consumen acetato presentan una menor afinidad por el sulfato que los que consumen propionato o hidrógeno. De este modo, cuando la relación $DQO_T/S-SO_4$ es baja, el sulfato presente será utilizado como aceptor final de electrones en la oxidación de compuestos como hidrógeno o propionato, mientras que el acetato será consumido principalmente por organismos metanogénicos acetoclásticos.

- Bajo condiciones de exceso de sulfato ($DQO_T/S-SO_4 < 2 \text{ mg DQO} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ S}$), los organismos sulfatorreductores serán los organismos predominantes. Cuando el sulfato se encuentra en exceso, la limitación por sulfato y la competición entre organismos sulfatorreductores es menos importante. Sin embargo, las limitaciones en la transferencia de materia podrían ocasionar condiciones limitantes de sulfato en las capas más profundas de biopelículas anaerobias o gránulos.
- En ausencia de sulfato, los organismos metanogénicos acetoclásticos serán los que predominen.

Concentración de hierro

Los organismos sulfatorreductores presentan una elevada demanda de hierro, dado que utilizan ferredoxina como transportador de electrones. Sin embargo, la biodisponibilidad de este elemento puede ser limitante en ambientes sulfurogénicos, debido a la precipitación con el sulfuro formado (e.g., FeS) y a la formación de complejos.

Propiedades de inmovilización

La habilidad para adherirse a sólidos inertes o para formar gránulos puede afectar al resultado de la competición por el acetato entre organismos sulfato-reductores y metanogénicos acetoclásticos. Existen diversos estudios que contraponen la hipótesis de que los organismos metanogénicos disponen de una mayor habilidad para adherirse a superficies inertes o formar gránulos. Sin embargo, Omil y otros (1996) concluyeron que los organismos metanogénicos acetoclásticos eran capaces de proliferar en un UASB operado bajo una velocidad ascensional de $6 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$. Atribuyeron este resultado a la presión de selección ejercida por la velocidad ascensional sobre los organismos sulfatorreductores acetoclásticos, que serían lavados selectivamente del sistema (Omil y otros, 1997), dado que el fango lavado poseía una elevada

capacidad para la degradación sulfurogénica de acetato, y la degradación metanogénica de DQO en el reactor se incrementó progresivamente al incrementarse la velocidad ascensional desde 1 hasta $6 \text{ m} \cdot \text{h}^{-1}$.

pH

El intervalo óptimo de pH para el crecimiento de los organismos sulfatorreductores (7,3-7,6) es similar al de los organismos metanogénicos (6,5-7,8) acetoclásticos (Widdel, 1988). O'Flaherty y otros (1998) realizaron un estudio de las propiedades cinéticas de diferentes organismos metanogénicos y sulfatorreductores a diferentes pH. Ambos grupos de microorganismos presentaron propiedades cinéticas similares para valores de pH comprendidos en el rango 7,0-7,5. Sin embargo, los organismos sulfatorreductores presentaron mejores propiedades cinéticas para valores de pH superiores a 7,5, mientras que los organismos metanogénicos para valores inferiores a 7,0.

Además del efecto directo del pH sobre las propiedades cinéticas de los diferentes tipos de microorganismos involucrados en la competición, su efecto puede ser también indirecto a través de la formación de productos tóxicos como el H_2S (a pH bajos) o el NH_3 (a pH altos).

Temperatura

En un estudio en el que un reactor UASB trabajando a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, y alimentado con una mezcla de acetato, propionato y butirato fue sometido a choques térmicos de entre 45 y $65 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 8-9 horas, Visser (1995) mostró que los organismos sulfatorreductores que consumen acetato son menos sensibles a los choques térmicos ($65 \text{ }^\circ\text{C}$) que los organismos metanogénicos acetoclásticos. Por otra parte, Shin y otros (1996) mostraron que la reducción de la temperatura desde 35 hasta $25 \text{ }^\circ\text{C}$ durante un período prolongado de tiempo (30 días), repercutió más desfavorablemente sobre los organismos metanogénicos que sobre los organismos sulfatorreductores. El estudio se llevó a cabo en un reactor UASB alimentado de forma continua con el efluente pretratado de una curtiduría, con un elevado contenido en sulfato. La fracción de la DQO eliminada utilizada por los organismos sulfatorreductores se incrementó desde el 43 al 67 % al reducir la temperatura, y hasta el 80 % al incrementar de nuevo la temperatura hasta $35 \text{ }^\circ\text{C}$.

OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

CAPITULO 2. OBJETIVOS Y PLAN DE TRABAJO

La tendencia actual en el campo de la gestión de las aguas residuales se dirige hacia un cambio de paradigma, desde los sistemas de tratamiento actuales, hacia nuevos sistemas que dispongan de potencial para la recuperación, no únicamente del agua, sino también de los recursos contenidos en la misma. Así pues, para evaluar el funcionamiento de estos nuevos sistemas interesará conocer, además de su capacidad para eliminar los contaminantes contenidos en el agua residual, su capacidad para transformarlos en recursos aprovechables (i.e., energía y nutrientes), y su eficiencia para recuperar dichos recursos.

El objetivo general de la presente tesis consiste en el estudio del proceso de tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas en biorreactores de membrana. Para la consecución de este objetivo general se planteó el plan de trabajo que se detalla a continuación:

- Puesta en marcha, operación y mantenimiento periódico de una planta a escala demostración para el tratamiento anaerobio de las aguas residuales urbanas con retención de la biomasa mediante el uso de la tecnología de membranas.
- Puesta a punto de diferentes metodologías analíticas.
 - Determinación de la concentración de metano disuelto, para evaluar el grado de sobresaturación del metano en el efluente de biorreactores anaerobios de membrana.
 - Determinación de la concentración total de sulfuro, para evaluar el resultado de la competición por los sustratos disponibles entre organismos sulfatorreductores y los grupos de organismos que llevan a cabo la degradación metanogénica de la materia orgánica.
- Estudio de la influencia del metano disuelto y del sulfuro sobre el valor medido de la DQO efluente para la correcta determinación de la eficiencia de eliminación de DQO en el sistema.
- Selección de los principales parámetros operacionales a estudiar.
- Planificación de las condiciones operacionales a establecer en cada uno de los períodos experimentales estudiados.
- Seguimiento analítico del estado del proceso, hasta alcanzar un estado estacionario.

- Caracterización del proceso de tratamiento anaerobio en los diferentes estados estacionarios alcanzados.
- Evaluación de la influencia de los distintos parámetros estudiados sobre el funcionamiento del proceso de tratamiento anaerobio con membranas.

MATERIALES Y MÉTODOS

CAPITULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción de la planta a escala demostración.

El estudio experimental presentado en esta tesis se llevó a cabo en un biorreactor anaerobio con membranas (AnMBR) a escala demostración, alimentado con agua residual urbana (ARU) real procedente del pretratamiento de la estación depuradora de aguas residuales (EDAR) del barranco del Carraixet, en Alboraya (Valencia), donde se encuentra situada.

En la Figura 12 se muestran: una vista general de la planta AnMBR a escala demostración **(a)**, y el diagrama de flujo del proceso **(b)**.

La planta AnMBR a escala demostración es alimentada con el efluente del pre-tratamiento de la EDAR del Barranco del Carraixet (cribado, desarenado y desengrasado). Después de un pretratamiento en el rotofiltro (RF) y una homogeneización en el tanque de regulación (TR), el agua residual se bombea al reactor anaerobio (RAn). A este reactor se recircula una fracción del biogás producido en el proceso, para mejorar las condiciones de agitación del tanque, y para favorecer la extracción de los gases producidos. Con el objetivo de minimizar la formación de una torta de sólidos sobre la superficie de las membranas (fouling), se recircula a los tanques de membrana otra fracción del biogás producido. La introducción de este biogás en el tanque de membranas se realiza por la parte inferior de cada uno de los racimos de fibras. Con el objetivo de minimizar las pérdidas de biogás arrastrado con el efluente, se ha instalado en la zona de aspiración de cada una de las bombas de permeado (B-11 y B-21) un cono desgasificador (DV). El cono desgasificador es una ampliación de la sección de la conducción del permeado con forma de embudo, en el que la entrada del permeado se realiza por un lateral, de modo que el líquido tiende a caer por la acción de la gravedad y el gas se desprende del líquido, ascendiendo y acumulándose en la parte superior. El permeado obtenido en la etapa de filtración es almacenado en el tanque CIP (Clean-in-place) para su uso posterior en diferentes etapas de operación de la membrana. La planta permite trabajar con ambos tanques de membrana simultáneamente o con uno solo, lo que le confiere una elevada flexibilidad operativa. Puesto que hay dos tanques de membrana en paralelo, es posible establecer diferentes flujos transmembrana sin necesidad de alterar el TRH. Los fangos en exceso son evacuados del reactor anaerobio con el objetivo de mantener un TRC constante en el sistema.

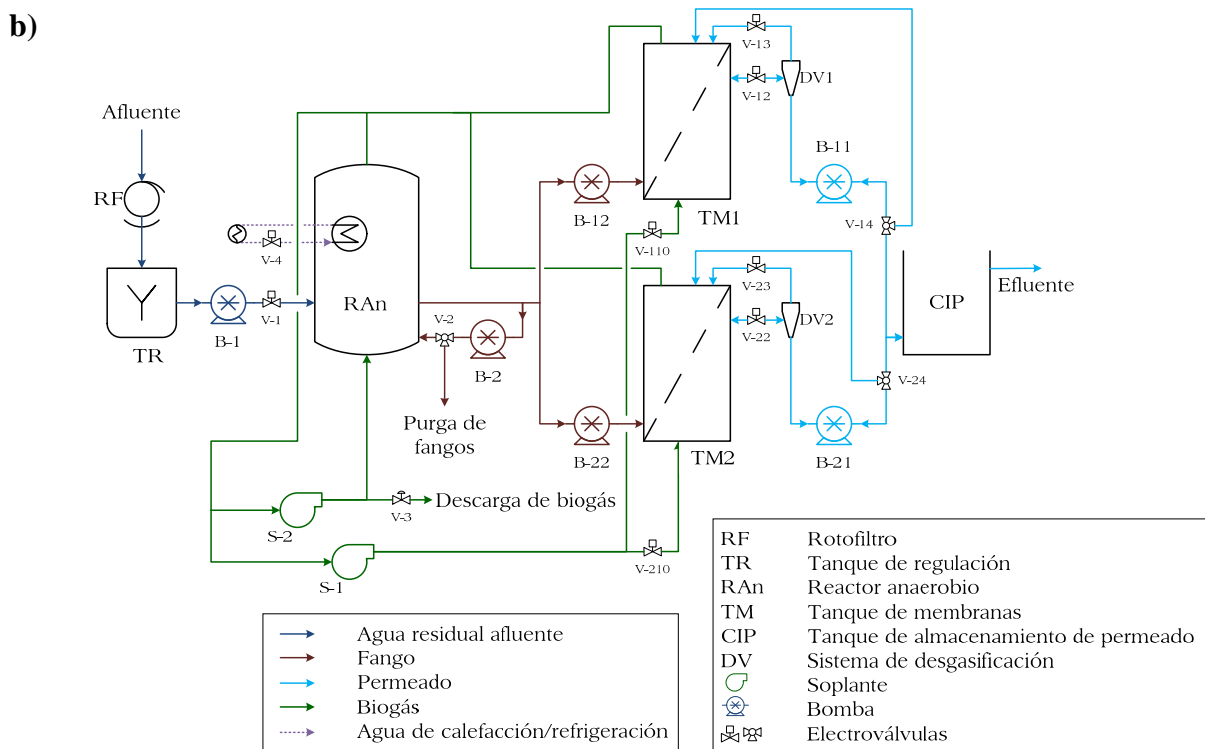


Figura 12. Vista general de la planta AnBRM a escala demostración (a) y diagrama de flujo del proceso (b).

A continuación se presenta una breve descripción de los diferentes elementos que componen el sistema:

3.1.1 Rotofiltro (RF)

Este elemento funciona como pre-tratamiento del ARU afluente. Su objetivo fundamental es la retención de partículas gruesas que puedan dañar las partes móviles de los equipos o la superficie de las membranas. Este RF tiene una luz de paso de 0.5 mm, tamaño estándar para la retención de gruesos, y su caudal punta de diseño supera los $200\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$.

3.1.2 Tanque de regulación (TR)

Consiste en un depósito cilíndrico con un volumen total de 300 L para el almacenamiento y homogeneización del afluente, cuyo objetivo es amortiguar las variaciones en la carga afluente a lo largo del día. La entrada se produce por la parte superior y la descarga por la parte inferior. La homogeneización se lleva a cabo por medio de un sistema de agitación mecánica continua (agitador de paletas planas inclinadas).

3.1.3 Biorreactor Anaerobio (RAn)

El reactor anaerobio tiene un volumen total de 1.3 m^3 , 0.4 m^3 de los cuales corresponden al espacio de cabeza, para recolección y almacenamiento de biogás. Este tanque se mantiene agitado continuamente mediante la recirculación, por la parte inferior, del biogás producido en el proceso. El biogás es introducido a través de tres difusores de membrana (difusores de burbuja fina). Como elemento adicional de agitación, el reactor consta de una recirculación interna de fangos que a su vez funciona como conducción para la descarga de los mismos cuando sea necesario (purga de fangos en exceso). El reactor se encuentra encamisado y conectado a un sistema de calefacción externo, con agua como elemento calefactor, con el objetivo de hacer posible el control de temperatura en la planta piloto.

3.1.4 Tanques de Membrana (TM)

La planta dispone de dos tanques de membranas (TM1 y TM2) que funcionan en paralelo, cada uno con un volumen total de 800 L (200 L de espacio de cabeza). Cada tanque incluye un módulo comercial de membranas de ultrafiltración de fibra hueca y final cerrado (detalle en

Figura 14b), con tamaño de poro de 0.05 μm (PURON®, Koch Membrane Systems PUR-PSH 31HD) (Figura 13). Cada módulo está formado por nueve racimos de membranas de 1.8 m de longitud, con un área total de filtración de 30 m².



Figura 13. Módulos de membranas comerciales PURON®, Koch Membrane Systems PUR-PSH 31HD.

Una parte del biogás producido es recirculado a través de los tanques de membranas siendo introducido por su parte inferior mediante toberas de burbuja gruesa (una por cada racimo de fibras; detalle en Figura 14a). El objetivo de la recirculación de biogás es minimizar la acumulación de partículas sobre la superficie de las membranas (minimización del fouling) y conseguir la homogeneización del licor mezcla.

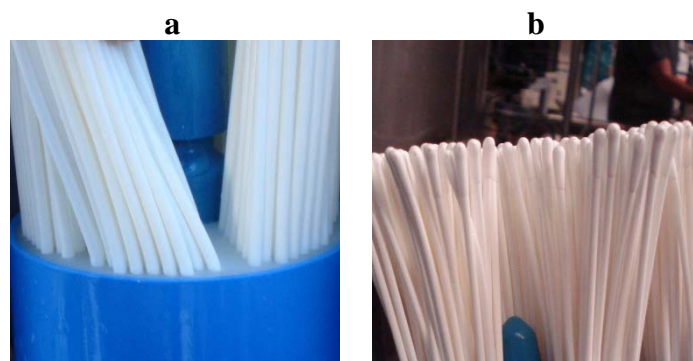


Figura 14. Detalle de tobera para burbujeo de biogás (a) y del final cerrado de las fibras (b).

Cada tanque de membranas está provisto de un sistema de separación de gases (DV1 y DV2) situados en la salida del permeado. Estos desgasificadores permiten la separación de parte del biogás disuelto en el permeado, gracias al cambio de sección, quedando almacenado en la parte superior de este elemento. Posteriormente el biogás es reintroducido al tanque de membrana en la etapa de operación denominada ventilación, que será descrita en el apartado 3.2.

3.1.5 Tanque de almacenamiento de permeado

El tanque de almacenamiento de permeado o “Clean in Place” (CIP), tiene una capacidad de almacenamiento de 200 L. La función de este elemento es almacenar una parte del permeado obtenido, de tal manera que esté disponible para las etapas de contralavado y ventilación (ver apartado 3.2).

3.1.6 Sistema de impulsión de agua y fango.

El sistema de impulsión está compuesto por seis bombas (B-1, B-2, B-11, B-12, B-21 y B-22). La B-1 es una bomba helicoidal de cavidad progresiva (NEMO® Serie BY) con un caudal máximo de $1200 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ que alimenta el agua residual desde el tanque de regulación hasta el reactor anaerobio. Las bombas B-2, B-12 y P-22 son igualmente bombas helicoidales de cavidad progresiva (NEMO® Serie BY) de mayor capacidad (caudal máximo $2700 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$); la B-2 es la bomba encargada de la recirculación interna de fangos en el reactor anaerobio y de la descarga de los fangos en exceso (purga de fango) mientras que las bombas B-12 y B-22 impulsan el fango desde el reactor anaerobio hasta los módulos de membranas (TM1 y TM2, respectivamente). Las bombas B-11 y B-21 son bombas lobulares (JUROP Serie VL2) encargadas de generar la fuerza impulsora necesaria para llevar a cabo las diferentes etapas de operación de las membranas, que se describirán en el apartado 3.2, mediante la variación de la presión necesaria en el lado interno de las fibras.

3.1.7 Sistema de distribución de biogás

El sistema de distribución de biogás está compuesto por dos soplantes (S-1 y S-2) y una válvula de regulación (V-3). Las soplantes son las encargadas de recircular el biogás producido en el proceso, tanto al reactor, como a los tanques de membranas. La válvula permite la descarga del biogás en exceso cuando el controlador correspondiente lo determina.

3.1.8 Instrumentación para la automatización y control

La planta SAnMBR está provista de numerosos equipos de medición on-line cuyo objetivo es facilitar el seguimiento de los procesos. También está equipada con actuadores o elementos finales de control que permiten el funcionamiento automático de la planta.

Los equipos de medición on-line instalados en la planta SAnMBR y que cuentan con transmisión de señal en tiempo real son:

- Tres sensores de pH-Temperatura, localizados en el reactor anaerobio y en cada uno de los tanques de membranas.
- Un sensor de potencial Redox, situado en el reactor anaerobio de fangos.
- Seis caudalímetros de líquido, uno para cada bomba.
- Dos caudalímetros volumétricos de gas tipo vórtex, uno para cada soplante.
- Cinco sondas de nivel, una para cada tanque.
- Dos sondas de presión para líquidos, situadas en cada uno de los módulos de membranas.
- Tres sondas de presión para gases, situadas en el espacio de cabeza del reactor anaerobio y en la zona de impulsión de cada una de las soplantes.
- Dos sondas de sólidos, una en el tanque de regulación y la otra en el reactor anaerobio.
- Un analizador de gases, que permite medir en tiempo real la composición del gas presente en el sistema.
- Un contador de gas, ubicado en la conducción de descarga de biogás para cuantificar la producción de biogás del sistema.

Además, la planta cuenta con los siguientes equipos indicadores (sin transmisión de señal):

- Dos sensores de temperatura para gases, situados en cada una de las conducciones de impulsión de las soplantes.
- Tres flujómetros para gases (rotámetros), situados en cada una de las entradas de biogás recirculado (reactor anaerobio y tanques de membranas).

Los actuadores instalados en la planta son:

- Ocho variadores de frecuencia que permiten modificar la velocidad de giro de los motores de las 6 bombas de impulsión de líquidos y de las 2 soplantes de impulsión de gases.
- Una válvula de regulación para gases de accionamiento neumático, que permite controlar la presión de gas en el sistema mediante la purga de una determinada cantidad de biogás.
- 8 válvulas automáticas de dos vías (6 para líquido y 2 para gas) y 3 válvulas automáticas de tres vías. Estas 11 válvulas permiten establecer los flujos de líquido y de biogás en la planta (Figura 3.2, página 99).

La instrumentación implementada en la planta (sensores y actuadores) se encuentra conectada a una red de transferencia de información. Esta red está compuesta por los correspondientes transmisores, tarjetas de entradas y de salidas (analógicas y digitales), un PLC (Programmable Logic Controller) y un PC. El control de la planta y la adquisición de datos se realizan a través de un SCADA (Supervisory Control And Data Acquisition) instalado en el PC. Además, en el PC ha sido implementado un protocolo de comunicación OPC (OLE for Process Control) usado para la ejecución de controles avanzados, desarrollados y programados en lenguaje Visual Basic.NET en una aplicación informática independiente.

3.2 Operación de la planta a escala demostración

La operación de la planta piloto incluye dos procesos unitarios diferenciados: el proceso biológico de degradación anaerobia de la materia orgánica contenida en el ARU, y el proceso de separación física por membranas. Por una parte, el proceso biológico se controla mediante la manipulación de las siguientes variables de operación: caudal de tratamiento, volumen de purga de fangos, temperatura, y caudal de biogás recirculado. La planta piloto tiene una capacidad máxima de tratamiento de $1200 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$, asumiendo un flujo transmembrana neto de $20 \text{ L}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$ para cada uno de los tanques. Teniendo en cuenta el volumen total de fango en el sistema (reactor anaerobio y ambos tanques de membrana), el tiempo de retención hidráulico (TRH) podría ser reducido hasta un valor mínimo de 2 horas. El tiempo de retención celular (TRC) es controlado mediante la purga del volumen de fangos en exceso en el sistema, el cual es

distribuido uniformemente durante el día hasta alcanzar la consigna establecida. Con el objetivo de poder operar el sistema a una temperatura de trabajo constante, la planta piloto está dotada de un sistema externo de calefacción conectado a la camisa calefactora del reactor anaerobio.

Por otra parte, el proceso de separación física por membranas está controlado mediante la manipulación de las siguientes variables: flujo transmembrana (J), presión transmembrana (PTM), caudal de fango alimentado a los tanques, caudal de biogás recirculado a los tanques, y secuencia de operación de las membranas. La PTM puede ser controlada a partir de la correspondiente bomba de permeado, instalada tras cada tanque de membranas. El caudal neto de tratamiento depende de la secuencia, duración y caudal de cada una de las etapas de operación de las membranas. Las etapas de operación programadas en la planta son:

- *Filtración*: Durante esta etapa las bombas de permeado (B-11 y B-21) ejercen una depresión en el lado interior de las fibras que proporciona la fuerza impulsora necesaria para que un determinado flujo de permeado pase a través de la membrana (flujo transmembrana).
- *Relajación*: En esta etapa se deja de ejercer vacío en el lado interno de las fibras, de manera que se detiene el flujo a través de las membranas. De este modo, gracias a la agitación continua y vigorosa ejercida por el biogás reintroducido a través de las toberas, se favorece la eliminación de una parte de la torta formada sobre la superficie exterior de las fibras.
- *Contralavado*: Esta etapa consiste en impulsar una cantidad determinada del permeado almacenado con anterioridad en el tanque CIP, en el sentido de flujo opuesto al de la etapa de filtración. El objetivo fundamental es la eliminación del fouling superficial de la membrana, que no es posible eliminar mediante la etapa de relajación (fouling reversible).
- *Desgasificación*: Durante la etapa de filtración, parte del biogás utilizado para homogeneizar el licor mezcla atraviesa la membrana, quedando atrapado en la parte superior de las fibras. A medida que transcurren sucesivas etapas de filtración, el volumen interno de las fibras ocupado por el gas puede llegar a reducir el área total efectiva de filtración significativamente. La etapa de desgasificación consiste en una

filtración puntual a un flujo más elevado y de corta duración que permite arrastrar el gas acumulado en la cabeza de las fibras y conducirlo hacia el desgasificador.

- *Ventilación*: En esta etapa se reintroduce al tanque de membrana una fracción del permeado almacenado en el tanque CIP, haciéndolo pasar a través del desgasificador, en lugar de a través de las membranas. Esta etapa se realiza con el objetivo de arrastrar el gas acumulado en la cabeza del desgasificador hacia el interior del tanque de membranas.

La secuencia de actuación de cada una de las etapas individuales se define en referencia a un ciclo básico de filtración-relajación (F-R), estableciéndose la frecuencia de ejecución del resto de etapas a partir de tres consignas: X, Y y Z que determinan cada cuantos ciclos F-R se ejecutan los ciclos de contralavado, ventilación y desgasificación, respectivamente. En la Figura 15 se presenta el diagrama de flujo de la secuencia de las diferentes etapas de operación de los módulos de membranas para el modo de funcionamiento normal. Cuando coinciden diferentes etapas, el orden de ejecución es: contralavado-desgasificación-ventilación, siguiendo las líneas punteadas de la figura.

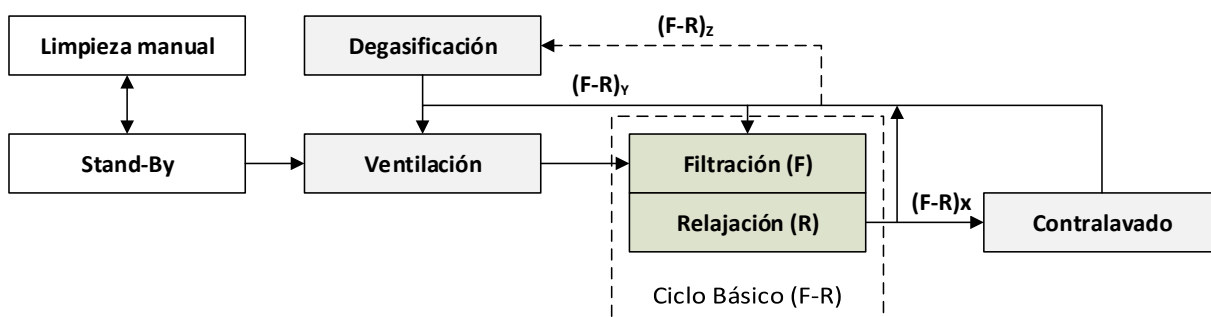


Figura 15. Diagrama de flujo de operación de los módulos de membrana.

3.3 Programación de experimentos.

Con la finalidad de evaluar la influencia de los principales parámetros operacionales sobre el funcionamiento del proceso de tratamiento anaerobio del ARU, utilizando la tecnología de membranas, se procedió a modificar dichos parámetros en sucesivos períodos experimentales. La Figura 16 muestra la duración de los diferentes períodos experimentales estudiados, mientras que la Tabla 8 muestra los valores de los principales parámetros operacionales fijados en cada uno de dichos períodos.

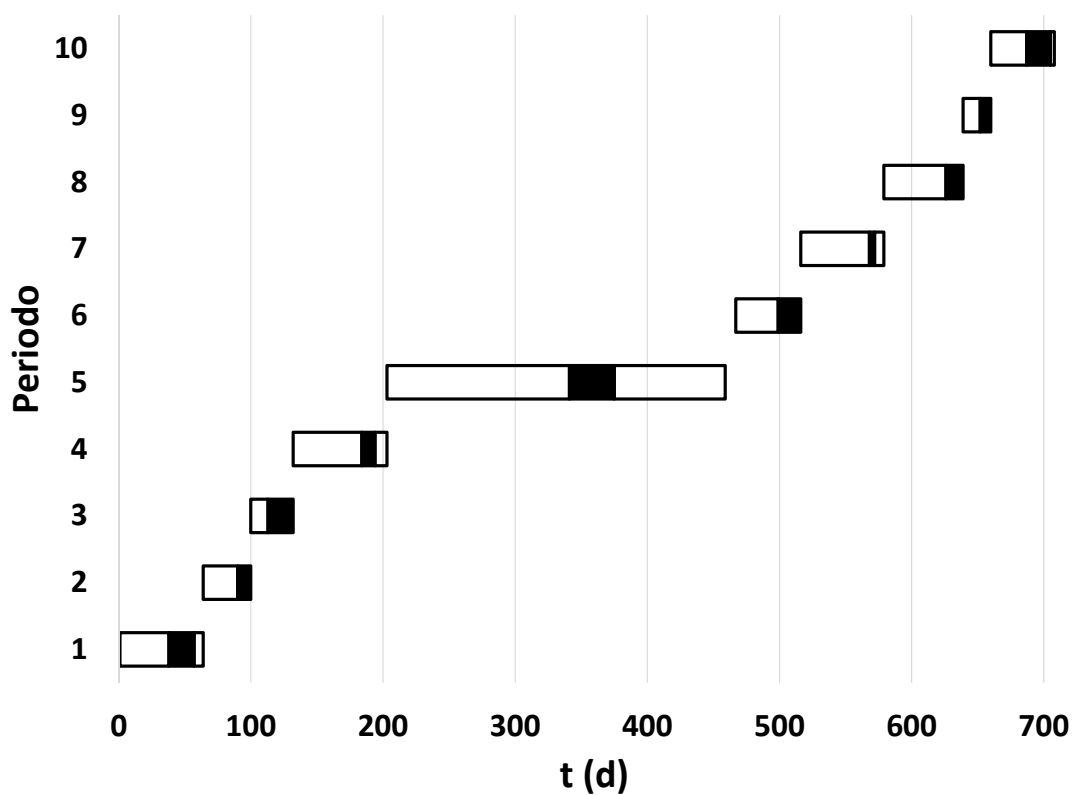


Figura 16. Cronograma de los diferentes períodos experimentales estudiados. La zona sombreada representa el período *pseudo-estacionario* seleccionado para la evaluación del funcionamiento del proceso.

Parámetro	Período	Mediana	(Q1 - Q3)	Rango
TRH (h)	1	16,6	(15,0 - 17,0)	6,6
	2	11,9	(11,5 - 12,8)	6,1
	3	9,3	(9,2 - 9,9)	2,1
	4	5,6	(5,3 - 6,8)	6,3
	5	24,5	(23,7 - 27,1)	29,5
	6	28,4	(27,0 - 30,2)	24,6
	7	13,7	(12,5 - 15,2)	8,1
	8	12,3	(11,7 - 15,4)	11,0
	9	11,8	(11,3 - 12,5)	18,7
	10	11,9	(11,6 - 16,9)	13,1
TRC (d)	1	70,8	(70,6 - 74,2)	4,1
	2	70,9	(70,7 - 73,4)	8,4
	3	74,4	(71,1 - 74,5)	3,9
	4	71,3	(70,6 - 73,9)	7,3
	5	69,2	(66,8 - 71,3)	27,2
	6	41,6	(40,1 - 44,4)	19,7
	7	39,5	(39,1 - 40,8)	13,1
	8	28,6	(27,4 - 29,5)	11,4
	9	29,5	(29,3 - 29,9)	5,8
	10	39,6	(28,9 - 40,4)	13,5
T (°C)	1	33,2	(33,1 - 33,4)	2,8
	2	33,2	(33,1 - 33,2)	0,3
	3	33,3	(33,2 - 33,4)	1,9
	4	32,7	(29,7 - 33,1)	7,6
	5	20,5	(20,2 - 21,3)	2,1
	6	29,2	(28,7 - 29,6)	4,7
	7	23,3	(21,2 - 25,2)	10,3
	8	17,1	(15,6 - 17,9)	5,7
	9	20,2	(19,8 - 20,4)	3,3
	10	20,0	(19,6 - 20,6)	4,2

Tabla 8. Condiciones operacionales fijadas en cada uno de los períodos experimentales estudiados.

Dada la dificultad para controlar la temperatura del sistema bajo determinadas condiciones ambientales, debido a su gran volumen y al elevado caudal de tratamiento, la planificación de los experimentos se realizó de manera que las condiciones ambientales de la época se ajustasen lo más posible a las deseadas. Es por esto que en algunos casos, determinados experimentos relacionados entre sí no siguen una secuencia ordenada cronológicamente.

Una vez fijados los parámetros operacionales, la planta se dejaba evolucionar hasta alcanzar un estado *pseudo-estacionario*. Durante la operación de la planta piloto se debe hablar de estado

pseudo-estacionario, en lugar de estacionario, debido a la dificultad para mantener el experimento en unas condiciones estrictamente estacionarias. Dicha dificultad radica en la elevada variabilidad de las características del ARU real utilizada como afluente.

3.4 Métodos Analíticos

Con la finalidad de caracterizar las diferentes corrientes del sistema, y llevar a cabo el seguimiento y caracterización del estado del sistema, se emplearon diversas técnicas analíticas que se describen a continuación.

De forma general, para realizar el seguimiento del estado del sistema, se analizaron con frecuencia diaria en el afluente, en el licor mezcla y en el permeado los siguientes parámetros:

- Ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV) y alcalinidad (Alk).
- pH y conductividad.
- Nitrógeno amoniacal (N-NH₄), ortofosfato (P-PO₄) y sulfato (S-SO₄).

Por otra parte, también se analizaron diariamente:

- Concentración de sólidos suspendidos totales (SST) y volátiles (SSV) en el afluente.
- Concentración de sólidos totales (ST) y volátiles (SV) en el licor mezcla.

Adicionalmente, con frecuencia semanal, se realizó la caracterización del estado del sistema y la caracterización completa del ARU, incluyendo:

- Demanda química de oxígeno total (DQO_T) y soluble (DQO_S).
- Demanda biológica de oxígeno total (DBO_T) y soluble (DBO_S).
- Nitrógeno total (N_T) y nitrógeno total soluble (N_{T,sol}).
- Fósforo total (P_T) y sulfuro (S-HS).

La producción y la composición del biogás se registraron mediante un contador de gases modelo gallus 2000-G4 con cuerpo de aluminio (Altaris), y un analizador de gases X-STREAM X2GP-General Purpose Gas Analyzer (Emerson), respectivamente.

3.4.1 Determinación del contenido en ácidos grasos volátiles de cadena corta y alcalinidad.

Para la determinación de la concentración de ácidos volátiles de cadena corta ($\text{mg CH}_3\text{COOH}\cdot\text{L}^{-1}$) y alcalinidad ($\text{mg CaCO}_3\cdot\text{L}^{-1}$), se utilizó el método de valoración ácido-base de 5 puntos propuesto por Moosbrugger y otros (1992). El procedimiento experimental consiste en la valoración con HCl 0,1N de la muestra previamente filtrada por papel filtro estándar. Se determinan los volúmenes de HCl necesarios para obtener los siguientes pH: 6,70, 5,90, 5,20 y 4,30 (método automatizado mediante el equipo Methom 716 DMS Titrino). La concentración de los ácidos volátiles y de la alcalinidad de la muestra, son calculadas mediante un programa informático distribuido por los propios autores del método analítico, basado en el equilibrio químico de las especies involucradas, tomando en cuenta no solo los ácidos grasos volátiles y los carbonatos, sino también los fosfatos, el amonio y los sulfuros, que se presentan comúnmente como ácidos/bases débiles en el agua.

3.4.2 Determinación del contenido en ortofosfato, nitrógeno amoniacal y sulfato.

Tras filtrar las muestras con un filtro de tamaño de poro de $0,45\ \mu\text{m}$, las concentraciones de P- PO_4 , N- NH_4 y S- SO_4 fueron determinadas automáticamente usando un analizador de inyección de flujo (Lachat QuikChem800).

3.4.2.1 Ortofosfato.

El ortofosfato engloba las especies disueltas H_3PO_4 , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} , PO_4^{3-} , cuya concentración relativa depende del pH del medio. El método empleado para la determinación del contenido en ortofosfatos es el método colorimétrico del ácido ascórbico (4500-P F) propuesto por APHA (2005).

El método consiste en la determinación del ión fosfato por la reacción del molibdato amónico y el tartrato de antimonio y potasio, que forman un complejo de antimonio-fosfomolibdato en medio ácido, que se reduce con el ácido ascórbico a un azul intenso en función de la concentración de fosfato. Posteriormente, se mide la absorbancia a 880 nm y se determina la concentración de fosfato mediante comparación con una curva de calibrado.

3.4.2.2 Nitrógeno amoniacal.

El nitrógeno amoniacal es la suma del nitrógeno como ion amonio (N-NH_4^+) y del amoníaco disuelto (N-NH_3). Estas dos formas se encuentran en equilibrio químico de manera que la concentración relativa de cada una depende del pH del medio. El método utilizado para el análisis del nitrógeno amoniacal es el método del phenato automatizado (4500-NH₃ G; APHA, 2005). El método consiste en la determinación de la absorbancia a 660 nm de un compuesto azul intenso (indophenol), formado por la reacción del amonio presente con hipoclorito y fenol catalizada por nitroprusiato sódico.

3.4.2.3 Sulfato.

El método utilizado para la determinación del S-SO₄ es el 4500-SO₄²⁻ E, propuesto por APHA (2005). El método consiste en la precipitación del ion sulfato con cloruro de bario (BaCl₂) en presencia de ácido acético, para formar cristales de sulfato de bario (BaSO₄) con un tamaño uniforme. Posteriormente se mide la absorbancia del BaSO₄ a 420 nm y se determina la concentración de SO₄²⁻ mediante comparación con una curva de calibrado.

3.4.3 Determinación de la demanda química de oxígeno.

La determinación de la demanda química de oxígeno (DQO) de las distintas corrientes del sistema, se llevó a cabo utilizando diferentes métodos en función de su contenido en material particulado. La DQO de las muestras con un elevado contenido en material particulado se determinó mediante el método del reflujo abierto (5220 B; APHA, 2005), mientras que la DQO de las muestras solubles o con bajo contenido en material particulado, se determinó mediante el método colorimétrico con digestión mediante reflujo cerrado (5220D; APHA, 2005).

5220 B. Método del reflujo abierto.

Este método resulta adecuado para muestras heterogéneas, dado que emplea un mayor volumen. Consiste en la oxidación de la materia orgánica con dicromato mediante digestión con reflujo abierto. Este test se lleva a cabo por calentamiento, bajo condiciones de reflujo total, de un determinado volumen de muestra con un exceso conocido de K₂Cr₂O₇, en presencia de H₂SO₄ al 96%. El periodo de reflujo estándar es de 120 minutos a 150°C. La reacción es catalizada con Ag₂SO₄, y se utiliza HgSO₄ para eliminar posibles interferencias con los haluros

presentes. El exceso de $K_2Cr_2O_7$ se valora con Sal de Mohr por medio de valoración potenciométrica redox en un valorador automático Metrohm 702 SM Titrino. Es necesario incluir un blanco, usando agua desionizada, para valorar la sal de Mohr y considerar las posibles interferencias de los reactivos empleados.

5220 D. Método del reflujo cerrado colorimétrico.

Este método resulta más económico (dado que se emplean menos reactivos) y genera una menor cantidad de residuos peligrosos que el método del reflujo abierto. Este método resulta adecuado para muestras homogéneas, en las que el volumen de muestra empleado no es decisivo para la obtención de resultados reproducibles.

Este método se basa en la absorción de luz a diferentes longitudes de onda de las especies Cr^{3+} y Cr^{6+} . Cuando una muestra es digerida, el ión dicromato ($Cr_2O_7^{2-}$) oxida la materia con DQO, reduciéndose desde Cr^{6+} hasta Cr^{3+} . Ambas especies son coloreadas, pero absorben a diferentes longitudes de onda. El ión dicromato absorbe fuertemente en la región de los 400 nm, donde la absorción del Cr^{3+} es mucho menor. Por el contrario, el Cr^{3+} absorbe en la región de 600 nm, donde el ión dicromato presenta una absorción cercana a cero. De este modo, es posible determinar valores de DQO entre 100 y 900 $mg \cdot L^{-1}$, mediante la determinación del incremento de Cr^{3+} a 660 nm, o valores inferiores a 90 $mg \cdot L^{-1}$, mediante la determinación de la disminución de $Cr_2O_7^{2-}$ a 420 nm.

3.4.4 Determinación de la demanda biológica de oxígeno.

Para la determinación de la demanda biológica de oxígeno (DBO) se ha utilizado un método experimental basado en el respirómetro de Warburg (Metcalf y Eddy, 2002) mediante el montaje experimental OxiTop diseñado por la firma comercial WTW.

3.4.5 Determinación del contenido en nitrógeno total

Se utilizó el test de determinación de nitrógeno total de la firma Merck. Los compuestos orgánicos e inorgánicos de nitrógeno se oxidan hasta nitratos mediante la digestión ácida en un termoreactor por el método de Koroleff. Estos nitratos, en solución sulfúrica y fosfórica forman

con 2,6-dimetilfenol (DMP) el compuesto 4-nitro-2,6-dimetil-fenol que se determina fotométricamente a 338 nm empleando un espectrofotómetro marca Spectroquant VEGA 400.

3.4.6 Determinación del contenido en fósforo total

La determinación de la concentración de fósforo total contenido en una muestra, requiere de una conversión previa de los polifósforos y del fósforo orgánico a ortofosforos. Esta conversión se suele realizar mediante una digestión ácida del fango con el fin de hidrolizar las cadenas poliméricas. Durante la etapa experimental se realizó un estudio comparativo entre dos métodos de digestión diferentes (microondas y reflujo abierto), realizando la determinación posterior de fosfato a diferentes pH (Gimenez y otros, 2009). Los resultados obtenidos indicaron que el método de digestión empleado no ejerció ninguna influencia sobre la determinación del fósforo total. Sin embargo, se obtuvieron concentraciones mayores al ajustar el valor del pH en el intervalo 3 – 4, indicando que a valores de pH superiores, el fosfato precipita formando diferentes sales metálicas, por lo que no se encuentra “disponible” para su determinación.

3.4.7 Determinación del contenido en sólidos.

Se llevó a cabo mediante la metodología gravimétrica propuesta por APHA (2005) (método 2540-D).

Sólidos totales.

La concentración de sólidos totales (ST) se determina mediante la eliminación de la humedad, a 105°C, de una muestra sin filtrar. Después de someter los ST a una temperatura de 550°C, la pérdida de peso se debe a los sólidos volátiles (SV).

Sólidos suspendidos.

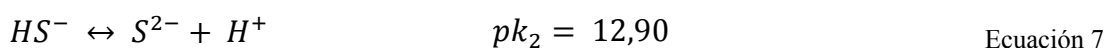
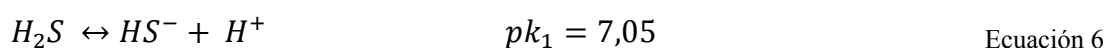
La concentración de sólidos suspendidos totales (SST) y la de sólidos suspendidos volátiles (SSV) se determina mediante la aplicación del método expuesto para el caso de los sólidos totales, sobre una muestra filtrada a través de un filtro de 0,45 m.

3.4.8 Determinación del contenido en sulfuro total

Bajo condiciones anaerobias, los organismos sulfatorreductores utilizan el sulfato como aceptor final de electrones, reduciéndolo a sulfuro. La importancia de la correcta cuantificación de este parámetro se resume a continuación:

Se ha observado que la presencia de sulfuro en el efluente puede ser un buen indicador del ambiente reductor en el interior del reactor, dado que los organismos sulfatorreductores son anaerobios estrictos y son muy sensibles a la presencia de oxígeno. Por otra parte, el sulfuro interfiere en la determinación de la DQO de cualquier muestra que lo contenga, dado que es cuantitativamente oxidado hasta sulfato por el medio reactivo que se utiliza para dicha determinación (APHA, 2005). Así pues, conocer su concentración en el efluente resulta de gran ayuda para asegurar el correcto funcionamiento del sistema, y necesario para la correcta realización de los balances de S y DQO.

El sulfuro de hidrógeno formado por la reducción de sulfatos se disocia según los siguientes equilibrios:



La Figura 17 muestra el equilibrio que las diferentes especies del sulfuro de hidrógeno establecen en disolución, en función del pH del medio.

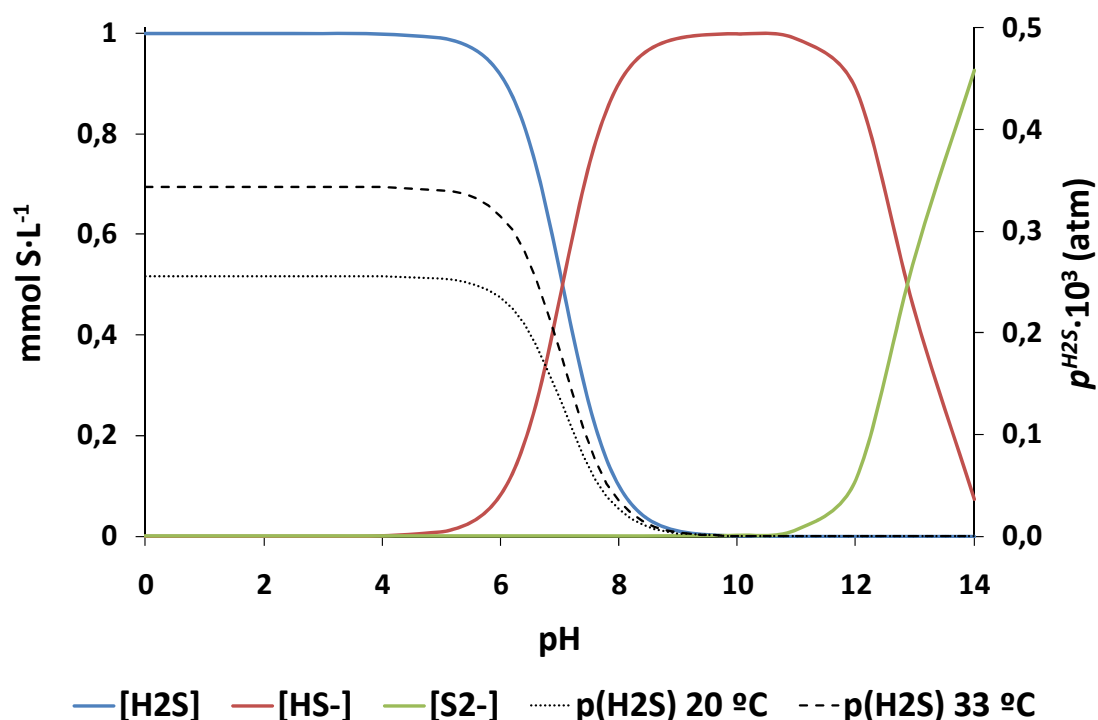


Figura 17. Equilibrio de disociación química del sulfuro de hidrógeno disuelto. La línea discontinua y la punteada representan la presión parcial del H₂S en la fase gas a 20 y a 33°C, respectivamente.

Entre las diferentes especies disueltas, la única que puede escapar del medio es el H₂S, en cuyo caso establecerá un equilibrio con la fase gas que podrá expresarse según la ley de Henry. Para el caso del sulfuro de hidrógeno, la ley de Henry tomará la forma que se expresa en la Ecuación 8.

$$P \cdot y^{H_2S} = H^{H_2S}(T) \cdot x^{H_2S} \quad \text{Ecuación 8}$$

Donde P es la presión total del sistema, x^{H_2S} e y^{H_2S} son las fracciones molares de H₂S en la fase líquido y gas, respectivamente, y $H^{H_2S}(T)$ es la constante de Henry para el H₂S a la temperatura del sistema (T), que se calcula mediante la Ecuación 9 (Tchobanoglous y otros, 2003).

$$H^{H_2S}(T) = 10^{\left(\frac{-884,94}{T(K)} + 5,703\right)} \quad \text{Ecuación 9}$$

En la Figura 17 es posible observar que a pH superior a 10, menos del 0,1 % del sulfuro total disuelto estará como H₂S, por lo que una vez tomada la muestra es posible evitar la pérdida de sulfuro, simplemente incrementando el pH de la muestra a analizar.

Para la determinación de la concentración de sulfuro en el efluente del sistema se puso a punto el método estándar del azul de metileno, (4500-S²⁻ D; APHA, 2005). Este método se basa en la reacción del sulfuro con cloruro férrico y dimetil-p-fenilendiamina, para producir azul de metileno. Después de que el color se haya desarrollado, se añade fosfato amónico para eliminar la interferencia por el color del cloruro férrico. Para determinar la concentración del sulfuro, se mide la absorbancia del azul de metileno a 664 nm y se compara con una curva de calibrado.

3.4.9 Determinación de la concentración de CH₄ disuelto en el efluente

Para determinar la concentración de CH₄ disuelto en el efluente, se utilizó la técnica de análisis estático del espacio de cabeza mediante cromatografía gaseosa (CG). Existen diferentes monográficos que proporcionan detalles teóricos y prácticos relacionados con esta técnica, para la determinación de la concentración de diferentes compuestos gaseosos disueltos en una fase líquida (Kolb y Etre, 2006; Hachemberg y Schmidt, 1977). Esta técnica se basa en el hecho de que cuando una muestra que contiene compuestos orgánicos volátiles es sellada en un vial, los compuestos orgánicos alcanzarán un equilibrio entre la fase líquida y el espacio de cabeza del vial. La distribución de los compuestos entre las dos fases dependerá de la temperatura, la presión de vapor de cada compuesto, la influencia de la matriz de la muestra en la actividad de los compuestos, y la relación de volúmenes entre el espacio de cabeza y el líquido en el vial (Dietz y Singley, 1979). La composición del espacio de cabeza se determina mediante análisis CG. Posteriormente se hace uso de la ley de equilibrio para determinar la concentración en la fase líquida, y se asume que originalmente todo el compuesto se encontraba disuelto.

La determinación del metano disuelto en efluentes de procesos anaerobios de tratamiento de aguas residuales resulta especialmente importante para evaluar el potencial de valorización energética real. Cuando la transferencia de materia entre las fases gas y líquido es deficiente, el metano puede encontrarse sobresaturado de forma que su distribución entre ambas fases puede ser diferente de la marcada por la ley de equilibrio. De este modo, si se calcula la eficiencia de recuperación de metano con el biogás a partir de las leyes de equilibrio, se estaría incurriendo

en la sobreestimación del potencial de recuperación energética, dado que la fracción del metano recuperado con el biogás sería menor que la estimada.

Para llevar a cabo la determinación de la concentración de metano disuelto en el efluente del sistema de tratamiento, se toma una muestra del mismo de volumen conocido (V_L) en un vial con *septum* de volumen también conocido (V_T), de modo que el volumen del espacio de cabeza (V_G) queda definido.

El vial está provisto de un sistema de agitación que facilita el contacto entre las fases líquido y gas. De este modo, se consigue reducir el tiempo necesario para poder asumir que se ha alcanzado el equilibrio entre las fases (tras realizar varios experimentos en los que se determinó la composición del espacio de cabeza a diferentes tiempos de equilibrado, se concluyó que para tiempos de equilibrado superiores a 4 horas, la composición de la fase gas era prácticamente la esperada según la ley de equilibrio). Posteriormente se determina la fracción molar de metano en la fase gas (y^{CH_4}) mediante análisis con CG, y se hace uso de la ley de Henry (Ecuación 10) para determinar la concentración de equilibrio del metano en la fase líquida (x^{CH_4}).

$$P \cdot y^{CH_4} = H^{CH_4}(T) \cdot x^{CH_4} \quad \text{Ecuación 10}$$

Donde P es la presión total del sistema y $H^{CH_4}(T)$ es la constante de Henry para el metano a la temperatura del sistema (T), que se calcula mediante la Ecuación 11 (Tchobanoglous y otros, 2003).

$$H^{CH_4}(T) = 10^{\left(\frac{-675.74}{T(K)} + 6.88\right)} \quad \text{Ecuación 11}$$

Inicialmente, el metano de la fase gaseosa se encontraba disuelto en la fase líquida, de modo que al sumar este metano al que, según la ley de Henry, permanece disuelto, resultará la concentración de metano que originalmente tenía la muestra del efluente. Tras realizar las transformaciones oportunas, es posible hacer uso de la Ecuación 12 para calcular la concentración que originalmente tenía el metano en la muestra efluente ($[CH_4]_{Disuelto}$), a partir de la fracción molar de metano en la fase gas:

$$[CH_4]_{Disuelto} = \left(\frac{V_G}{V_L \cdot R \cdot T} + \frac{M^{H_2O}}{H^{CH_4}(T) - P \cdot y^{CH_4}} \right) \cdot P \cdot \bar{M}^{CH_4} \cdot y^{CH_4} \quad \text{Ecuación 12}$$

Donde M^{H_2O} es la molaridad del agua ($55,56 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), R es la constante universal de los gases ($0,082 \text{ atm}\cdot\text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$) y \bar{M}^{CH_4} es la masa molecular del metano ($16 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$). Para el cálculo de la concentración de metano en la fase líquida, se ha asumido que esta está compuesta únicamente por metano y agua.

3.5 Balance de Demanda Química de Oxígeno.

Como se ha mencionado en el capítulo 2, la tendencia actual en el campo de la gestión de las aguas residuales se dirige hacia el desarrollo nuevos sistemas que permitan recuperar, no únicamente el agua, sino también los recursos contenidos en la misma. Así pues, para evaluar el funcionamiento de estos nuevos sistemas interesará conocer, además de su capacidad para eliminar los contaminantes contenidos en el agua residual, su capacidad para valorizar dichos componentes, transformándolos en recursos aprovechables (i.e., energía y nutrientes), y su eficiencia para recuperar dichos recursos.

El balance de DQO es muy útil cuando se pretende evaluar el funcionamiento de un sistema de tratamiento de aguas residuales a partir de datos experimentales, dado que proporciona una vía para comprobar la validez de dichos datos, y proporciona una base para el cálculo de parámetros que resulten útiles como indicadores del funcionamiento del sistema.

3.5.1 Balance de DQO: Validación de datos.

En el estado estacionario, la DQO afluente debería igualar a la suma de las siguientes fracciones:

- La DQO degradada,
- La DQO que se ha incorporado al licor mezcla vía síntesis de nuevas células, absorción o retención física, y que sale del sistema a través de la purga de fangos, y
- La DQO no degradada que sale del sistema con el efluente.

Según esto, el balance general de DQO en estado estacionario quedaría como:

$$DQO_{Afluente} = DQO_{Degradada} + DQO_{Purga} + DQO_{Efluente} \quad \text{Ecuación 13}$$

3.5.2 Balance de DQO a un AnMBR.

El balance de DQO aplicado a un sistema AnMBR, permite obtener información sobre la capacidad de eliminación de DQO, conocer qué proporción de la DQO eliminada puede ser energéticamente valorizada, y cuánta de la DQO valorizada puede ser recuperada.

A efectos de seleccionar los parámetros indicadores que nos permitan evaluar el funcionamiento de este tipo de sistemas (en términos de eliminación y valorización energética de la DQO, y recuperación de la DQO valorizada), es necesario cuantificar correctamente cada una de las fracciones que intervienen en la Ecuación 13. Para ello, resulta indispensable contar con un profundo conocimiento, no solo del esquema de tratamiento utilizado, sino también del proceso biológico involucrado en la degradación de la DQO.

Para el caso de reactores anaerobios con separación por membranas, es necesario tener en cuenta algunas particularidades de este tipo de sistemas, que ayudarán a comprender mejor de qué manera se distribuye la DQO afluente en cada una de las fracciones consideradas en el balance general, así como el funcionamiento del sistema.

3.5.2.1 DQO Degradada.

Una particularidad de los sistemas de tratamiento anaerobio es, que resulta posible cuantificar de manera razonable la DQO degradada biológicamente a través de los productos finales de la degradación anaerobia, dado que serán los principales aceptores de los electrones cedidos por los sustratos en las diferentes transformaciones catabólicas, conservando la mayor parte de la energía almacenada en los sustratos (90-97 %). El resto de la energía liberada durante el catabolismo de los sustratos (3-10 %), es la que utilizarán los microorganismos para mantenerse y generar nueva biomasa (Zitomer, 1998).

La DQO soluble biodegradable afluente ($DQO_{Soluble}^{BD}$) estará directamente disponible para ser oxidada hasta los productos finales de la degradación anaerobia. Sin embargo, tal y como se

ha expuesto en el apartado 1.4.4.1, para que la DQO suspendida biodegradable afluente pueda ser oxidada, es necesario que sufra una serie de transformaciones físico-químicas (desintegración) y biológicas (hidrólisis) previas, hasta compuestos orgánicos solubles asimilables por los microorganismos que llevan a cabo las etapas posteriores de la degradación anaerobia de la materia orgánica. Tras ser hidrolizada, la DQO asociada a los nuevos compuestos solubles formados, estará también disponible para ser degradada hasta los productos finales de la degradación anaerobia de la materia orgánica (principalmente CH₄, CO₂ y H₂S), o bien saldrá del sistema con el efluente.

De forma general, la hidrólisis suele ser la etapa limitante del proceso de degradación anaerobia (Veeken y Hamelers, 1999), por lo que la DQO hidrolizada ($DQO_{Hidrolizada}$) suele ser inmediatamente degradada hasta los productos finales de la degradación anaerobia ($DQO_{Productos}$), y la DQO degradada ($DQO_{Degradada}$) puede expresarse según la Ecuación 14

$$DQO_{Degradada} = DQO_{Hidrolizada} + DQO_{Soluble}^{BD} \cong DQO_{Productos} \quad \text{Ecuación 14}$$

La velocidad de hidrólisis es función de la temperatura, el pH, la concentración de biomasa hidrolítica, y el tipo, naturaleza y concentración del sustrato particulado (Elefsiniotis y otros, 1996), que junto con el tiempo de retención, establecerán el grado de hidrólisis de la DQO suspendida. Así pues, la DQO degradada será función de las características del afluente y de las condiciones operacionales fijadas en el sistema.

3.5.2.2 *DQO Purgada.*

Según lo expuesto en el apartado 3.5.1, la DQO de la purga (DQO_{Purga}) estará compuesta por DQO que se ha incorporado al licor mezcla vía síntesis de nuevas células ($DQO_{Biomasa}$), y DQO acumulada por retención física ($DQO_{Retenida}$). El uso de la tecnología de membranas posibilita la retención total de la DQO suspendida del afluente. Atendiendo a la capacidad de los microorganismos presentes en el sistema para degradarla, la DQO retenida puede clasificarse en biodegradable o no biodegradable.

Si asumimos que la DQO no biodegradable no es susceptible de ser hidrolizada, toda la DQO no biodegradable retenida por las membranas se acumulará, y su magnitud dependerá de las características físico-químicas del afluente y del TRC fijado en el sistema.

Por otra parte, la degradación anaerobia de la DQO biodegradable hasta los productos finales comienza con la etapa de desintegración e hidrólisis. Los nuevos compuestos solubles formados tras la hidrólisis no son susceptibles de ser retenidos por la membrana, por lo que la magnitud de la DQO biodegradable acumulada dependerá del grado de hidrólisis alcanzado por la fracción biodegradable de la DQO retenida.

Así pues, en sistemas AnMBR, la DQO purgada estará compuesta por DQO que se ha incorporado al licor mezcla vía síntesis de nuevas células y la DQO acumulada. La DQO acumulada, a su vez, constará de toda la DQO retenida no biodegradable y de la DQO retenida biodegradable que no se haya hidrolizado (Ecuación 15).

$$DQO_{Purga} = DQO_{Biomasa} + DQO_{Retenida} - DQO_{Hidrolizada} \quad \text{Ecuación 15}$$

Como se ha mencionado en el apartado anterior, el grado de hidrólisis de la DQO suspendida depende del tiempo de permanencia y de la velocidad de hidrólisis, que a su vez depende de la temperatura, el pH, la concentración de biomasa hidrolítica, y el tipo, naturaleza y concentración del sustrato particulado. Además, la DQO retenida no biodegradable depende de las características del afluente y del TRC fijado en el sistema, por lo que la DQO purgada será función de las características del afluente y de las condiciones operacionales fijadas en el sistema.

3.5.2.3 DQO Efluente.

La DQO hidrolizada estará disponible para ser degradada, en etapas posteriores, hasta CH₄, CO₂ y H₂S, que son principalmente gases. Estos gases se generan en el licor mezcla, y posteriormente se distribuyen entre las fases líquido y gas, según la ley de equilibrio (ver apartado 3.4.9, Ecuación 10). Para el caso particular del tratamiento anaerobio de aguas residuales con baja carga (e.g., agua residual urbana), la fracción de la DQO degradada asociada a productos que permanezca disuelta, supondrá un elevado porcentaje de la DQO total

degradada. Por otra parte, tal y como se ha comentado en el apartado 1.4.3.5, el uso de la tecnología de membranas posibilita la retención de la fracción suspendida en el interior del sistema, gracias a la presencia de una barrera física, permitiendo obtener un efluente libre de sólidos suspendidos.

En la Figura 18 se muestra un esquema de las diferentes fracciones que componen la DQO del efluente de un sistema de tratamiento anaerobio con separación por membranas.

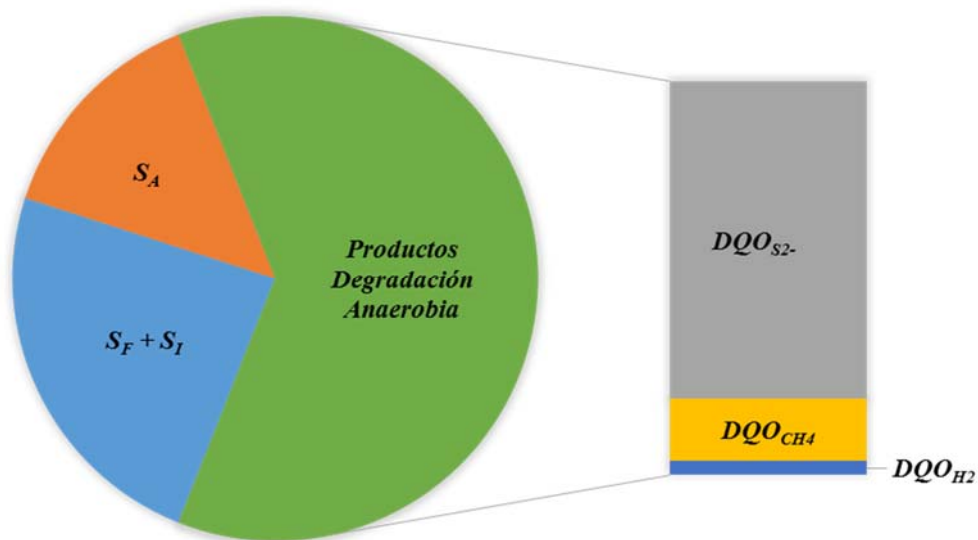


Figura 18. Fraccionamiento de la DQO efluente en AnMBR.

De forma general, la DQO del efluente ($DQO_{Efluente}^{Total}$) estará compuesta por todas las fracciones que aparecen en la Ecuación 16.

$$DQO_{Efluente}^{Total} = S_F + S_I + S_A + DQO_{S^{2-}} + DQO_{CH_4} + DQO_{H_2} \quad \text{Ecuación 16}$$

Donde:

- S_F es la fracción soluble fácilmente fermentable, que se corresponde principalmente con los productos microbianos solubles (PMS) capaces de atravesar la membrana.
- S_I es la fracción soluble inerte.
- S_A es la DQO correspondiente a los AGV presentes en el efluente.
- $DQO_{S^{2-}}$ es la DQO correspondiente al sulfuro presente en el efluente.

- DQO_{CH_4} es la DQO correspondiente al metano disuelto en el efluente.
- DQO_{H_2} es la DQO correspondiente al hidrógeno disuelto en el efluente

La DQO correspondiente al hidrógeno disuelto será despreciable bajo condiciones normales de funcionamiento, dado que por una parte, los organismos sulfatorreductores tienen una elevada afinidad por el hidrógeno (ver apartado 0), y por otra parte, la ausencia de productos intermedios indica que la β -Oxidación de los ácidos grasos, que únicamente es termodinámicamente favorable a presiones parciales de hidrógeno reducidas (ver apartado 1.4.4.3), se ha producido de forma completa.

Para la correcta evaluación del funcionamiento del proceso de tratamiento anaerobio de ARU, conviene definir una nueva fracción ($DQO_{Efluente}^{Residual}$) que contemple únicamente la DQO residual que sale del sistema con el efluente, no asociada a los diferentes productos finales de la degradación anaerobia (i.e., $DQO_{S^{2-}}$, DQO_{CH_4}).

$$DQO_{Efluente}^{Residual} = DQO_{Efluente}^{Total} - DQO_{Efluente}^{Productos} \quad \text{Ecuación 17}$$

Donde $DQO_{Efluente}^{Productos}$ incluye la DQO asociada a los productos finales de la degradación anaerobia de la materia orgánica disueltos en el efluente del sistema de tratamiento anaerobio, esto es:

$$DQO_{Efluente}^{Productos} = DQO_{S^{2-}} + DQO_{CH_4} \quad \text{Ecuación 18}$$

Esta fracción podría añadirse a la DQO recuperada con el biogás para cuantificar la DQO total asociada a productos de la degradación anaerobia, que tal y cómo se ha expuesto en el apartado 3.5.2.1, informará de forma aproximada de la DQO degradada.

La DQO residual en el efluente estará compuesta por las fracciones que aparecen en la Ecuación 19.

$$DQO_{Efluente}^{Residual} = S_F + S_I + S_A \quad \text{Ecuación 19}$$

Dado que no es posible cuantificar las fracciones $S_F + S_I$ directamente, la DQO residual podría cuantificarse a partir del valor de la DQO total medida en el efluente y la DQO asociada a los productos finales de la degradación anaerobia de la materia orgánica, según la Ecuación 17.

Para cuantificar la DQO asociada a los productos finales de la degradación anaerobia disueltos en el efluente, es necesario tener en cuenta algunas consideraciones que se plantean a continuación.

El sulfuro disuelto es completamente oxidado durante la determinación de la DQO (APHA, 2005), por lo que a la hora de corregir la DQO efluente, puede asumirse una oxidación estequiométrica del mismo. Para oxidar estequiométricamente el S^{2-} hasta SO_4^{2-} son necesarios 2 mg de $O_2 \cdot mg^{-1} S$, por lo que para determinar la componente de la DQO del efluente asociada al sulfuro, será suficiente con determinar el contenido en sulfuros y multiplicarlo por 2.

(Hartley y Lant, 2006), trataron de determinar si el CH_4 disuelto contribuye a la DQO de una muestra que lo contiene. Para ello, se analizó la DQO de dos muestras idénticas que contenían CH_4 disuelto. Una de ellas se agitó vigorosamente y se dejó abierta a la atmósfera para tratar de liberar el metano disuelto antes de llevar a cabo el análisis de la DQO, mientras que la otra fue analizada directamente. Los análisis realizados sobre ambas muestras no mostraron diferencias significativas, por lo que concluyeron el método analítico no era capaz de detectar la componente de la DQO asociada al CH_4 disuelto. Los autores del estudio no precisan si la ausencia de diferencias significativas entre la DQO de ambas muestras se debe a la ausencia de CH_4 disuelto, o a la presencia de este en concentración semejante en ambas muestras. Tampoco se ofrecen detalles de la manipulación sufrida por la muestra que se analizó directamente. La transferencia de la alícuota desde la propia muestra hasta el tubo donde se encontraba el medio reactivo, podría haber inducido a la pérdida de todo o parte del CH_4 disuelto. En tal caso, la ausencia de diferencia entre la DQO de ambas muestras se debería a que en ninguna de ellas había CH_4 disuelto al realizar el análisis, independientemente de la capacidad del método analítico para la determinación colorimétrica de la DQO de detectar la DQO asociada al CH_4 disuelto.

Para dar respuesta a las incógnitas planteadas (capacidad del método colorimétrico para detectar la DQO asociada al CH₄ y pérdida del CH₄ disuelto durante la manipulación de la muestra), se llevaron a cabo dos experimentos que se describen a continuación.

Efecto del CH₄ disuelto sobre la medida de la DQO.

Los experimentos que se describen a continuación se diseñaron para determinar si el medio reactivo utilizado para la determinación de la DQO mediante el método del reflujo cerrado colorimétrico (ver apartado 3.4.3) es capaz de oxidar el CH₄ disuelto. En caso afirmativo, la DQO asociada a este compuesto debería contabilizarse como DQO degradada. De forma teórica, para oxidar estequiométricamente el CH₄, serán necesarios 4 mg O₂·mg⁻¹ CH₄ (Ecuación 20)



Para evitar la pérdida de parte o la totalidad de los gases disueltos, al entrar en contacto con el aire, la muestra a analizar se inyectó directamente en el seno del medio reactivo.

Experimento 1

El primero de los experimentos consistió en introducir una cantidad conocida de metano (V^{CH_4}) en un sistema cerrado, conteniendo volúmenes conocidos de agua destilada ($V^{Agua\ Destilada}$) y aire ($V^{Espacio\ Cabeza}$) en la fase líquida y gas, respectivamente. El sistema incluía un *septum* a través del cual se introdujo el metano y se extrajo muestra de la fase gas (utilizando una jeringuilla con válvula para gases), una vez alcanzado el equilibrio, para analizar su contenido en metano mediante cromatografía gaseosa. Tras determinar el contenido en metano de la fase gas y asumiendo que se había alcanzado el equilibrio (24 h a T controlada), se estimó la concentración de metano en la fase líquida mediante la ley de Henry (Ecuación 10), y se determinó la DQO de la fase líquida.

Los resultados obtenidos se detallan en la Tabla 9, y confirman que el método colorimétrico para la determinación de la DQO es capaz de cuantificar la DQO del metano disuelto, dado que la DQO de la fase líquida (DQO-CH₄^{disuelto} Medida) se corresponde con la DQO del metano disuelto estimada (DQO-CH₄^{disuelto} Estimada) aplicando la ley de equilibrio.

	<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Valor</i>
Datos Iniciales	$V_{\text{Agua Destilada}}$	<i>mL</i>	250
	V_{CH_4}	<i>mL</i>	50
	V_{Botella}	<i>mL</i>	406
	$V_{\text{Espacio Cabeza}}$	<i>mL</i>	156
	<i>Temperatura</i>	<i>°C</i>	20
	$n_0^{\text{Espacio Cabeza}} (\text{Aire} + \text{CH}_4)$	<i>mol</i>	8.56
	$\% \text{CH}_4, 0^{\text{Espacio Cabeza}}$	<i>%</i>	24.3
	$P_0^{\text{Espacio Cabeza}}$	<i>atm.</i>	1.32
Cálculos	$P \cdot y_{\text{CH}_4}$	<i>atm.</i>	0.252 ± 0.005
	$\% \text{CH}_4^{\text{EC}}$	<i>%</i>	[19.1 – 25.2]
	$[\text{CH}_4]^{\text{disuelto}}$	<i>mg CH}_4\text{-L}^{-1}</i>	5.97 ± 0.11
	$DQO\text{-CH}_4^{\text{disuelto}} \text{ Estimada}$	<i>mg DQO}\cdot\text{L}^{-1}</i>	23.9 ± 0.4
	$DQO\text{-CH}_4^{\text{disuelto}} \text{ Medida}$	<i>mg DQO}\cdot\text{L}^{-1}</i>	21.8 ± 1.7

Tabla 9. Determinación DQO-CH₄ disuelto con método colorimétrico: Experimento 1.

Experimento 2

En el segundo de los experimentos se utilizó muestra efluente de la planta demostración para comprobar si el CH₄ disuelto se pierde durante la toma y posterior manipulación de la muestra. Este experimento consistió básicamente en cuantificar las diferentes fracciones que componen la DQO del efluente (ver Figura 18), antes y después de burbujear nitrógeno gas para arrastrar los gases disueltos.

S_A y $DQO_{S^{2-}}$, son fácilmente cuantificables. Así pues, al restar las fracciones anteriores a la DQO total del efluente (DQO_T), se obtiene la DQO correspondiente a las fracciones $S_F + S_I$, y DQO_{CH_4} (en el caso de que el método colorimétrico sea capaz de cuantificar la fracción de la DQO correspondiente al metano disuelto).

$$DQO_T = S_A + S_F + S_I + DQO_{S^{2-}} + DQO_{CH_4} \quad \text{Ecuación 21}$$

$$DQO_T - S_A - DQO_{S^{2-}} = S_F + S_I + DQO_{CH_4} \quad \text{Ecuación 22}$$

Si posteriormente se burbujea la muestra con nitrógeno para arrastrar los gases disueltos y se determina nuevamente su DQO ($DQO_{T,B}$), así como su contenido en sulfuro ($DQO_{S^{2-},B}$) y AGV ($S_{A,B}$), y se restan estos últimos al valor de la DQO total de la muestra burbujeadada, la

diferencia será la correspondiente a las fracciones $S_F + S_I$, dado que el metano es poco soluble y es fácilmente arrastrado por el nitrógeno.

$$DQO_{T,B} = S_{A,B} + S_F + S_I + DQO_{S^{2-},B} \quad \text{Ecuación 23}$$

$$DQO_{T,B} - S_{A,B} - DQO_{S^{2-},B} = S_F + S_I \quad \text{Ecuación 24}$$

De este modo, si el método es capaz de cuantificar la fracción de la DQO correspondiente al metano disuelto, la diferencia entre los valores de la DQO tras substrair las fracciones correspondientes al sulfuro y los AGV, antes y después de burbujear nitrógeno, debería corresponderse con la DQO del metano que, según la ley de Henry y la composición del biogás del espacio de cabeza del reactor, debería haber disuelto en el efluente.

$$\begin{aligned} & [DQO_T - S_A - DQO_{S^{2-}}] - [DQO_{T,B} - S_{A,B} - DQO_{S^{2-},B}] \\ & = [S_F + S_I + DQO_{CH_4}] - [S_F + S_I] = DQO_{CH_4} \end{aligned} \quad \text{Ecuación 25}$$

Los resultados correspondientes al segundo experimento se detallan en la Tabla 10.

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Antes burbujear N₂</i>	<i>Después burbujear N₂</i>
DQO_T	$mg\ DQO \cdot L^{-1}$	434	183
AGV	$mg\ HAc \cdot L^{-1}$	58.3	56.7
$DQO-AGV$	$mg\ DQO \cdot L^{-1}$	62.2	60.5
S^{2-}	$mg\ S \cdot L^{-1}$	111	8
$DQO-S^{2-}$	$mg\ DQO \cdot L^{-1}$	222	16
$DQO_{Efluente}^{Residual}$	$mg\ DQO \cdot L^{-1}$	150.0	106.5
$\Delta DQO_{Efluente}^{Residual}$	$mg\ DQO \cdot L^{-1}$		43.5
$\% CH_4^{Biogás}$	$\%$		47
$[CH_4]^{disuelto}$	$mg\ CH_4 \cdot L^{-1}$		11.1
$DQO-CH_4^{disuelto\ Estimada}$	$mg\ DQO \cdot L^{-1}$		44.2

Tabla 10. Determinación DQO-CH₄ disuelto con método colorimétrico: Experimento 2

En este caso, los resultados confirman nuevamente que el método colorimétrico para la determinación de la DQO es capaz de cuantificar la DQO del metano disuelto, dado que la DQO del metano disuelto estimada con la ley de equilibrio ($DQO-CH_4, disuelto Estimada$), coincide con

la disminución de la DQO residual del efluente tras burbujear nitrógeno ($\Delta DQO_{Residual}^{Efluente}$), asociada al metano disuelto desprendido.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, la aplicación del balance de DQO (ver Ecuación 13) a sistemas de tratamiento anaerobio de ARU utilizando la tecnología AnMBR, quedaría según se presenta en la Ecuación 26.

$$DQO_{Afluente} = DQO_{Efluente}^{Residual} + DQO_{Purga} + DQO_{Productos} \quad \text{Ecuación 26}$$

3.5.3 Evaluación del funcionamiento de un BRM Anaerobio

Como se ha mencionado anteriormente, para el caso de sistemas con potencial para la valorización energética de la materia orgánica, interesará evaluar su funcionamiento, no sólo en términos de eliminación de DQO, sino también en términos de valorización energética de dicha DQO, y de la posibilidad de recuperar la DQO valorizada. Para llevar a cabo dicha evaluación, resulta necesario contar con indicadores que permitan cuantificar cada uno de los aspectos considerados, los cuales se identifican a continuación.

3.5.3.1 DQO Eliminada

La DQO eliminada en cualquier sistema de tratamiento viene dada por la diferencia entre la DQO afluente y la DQO efluente, que según el balance de DQO (Ecuación 13) equivaldrá a la DQO purgada y la DQO degradada. Sin embargo, en el apartado 3.5.2, se ha puesto de manifiesto que, en sistemas de tratamiento anaerobios, una fracción de la DQO medida en el efluente estará asociada a productos finales de la degradación anaerobia (principalmente metano y sulfuro), por lo que la DQO eliminada no será representativa de la DQO purgada más la degradada.

El metano es un potente gas de efecto invernadero, y los sulfuros generan problemas de olores, toxicidad y corrosión, por lo que es necesario evitar su emisión incontrolada mediante algún postratamiento que permita eliminarlos y/o recuperarlos del efluente de los sistemas de tratamiento anaerobio. El metano posee un elevado poder calorífico ($39745 \text{ kJ}\cdot\text{m}^{-3}$) que le atribuye un elevado atractivo como combustible, por lo que su recuperación resulta preferible frente a su eliminación.

El postratamiento empleado para la eliminación/recuperación de los productos finales de la degradación anaerobia disueltos en el efluente de sistemas de tratamiento anaerobios queda fuera del alcance del presente trabajo de tesis, por lo que a efectos prácticos se asumirá que el efluente de un AnMBR no debe contener los productos finales de la degradación anaerobia y se considerará que la DQO del efluente asociada a dichos compuestos debe ser necesariamente eliminada. De este modo, se propone el uso de la DQO residual en el efluente, en lugar de la DQO total en el efluente, para cuantificar la eficiencia de eliminación de DQO en un AnMBR tratando ARU, que vendrá dada por la Ecuación 27.

$$DQO_{Eliminada} = DQO_{Afluente} - DQO_{Efluente}^{Residual} \quad \text{Ecuación 27}$$

En el apartado 3.5.2 se ha comentado que, dada la elevada capacidad de retención de las membranas, la concentración de DQO residual en el efluente dependerá principalmente de la magnitud de la fracción soluble inerte de la DQO afluente (S_I), de la fracción de los productos microbianos solubles capaces de atravesar la membrana (S_F) y del correcto funcionamiento del proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica, dado que el desequilibrio entre las diferentes etapas involucradas en el proceso conllevaría la acumulación de productos solubles intermedios (S_A) capaces de atravesar la membrana e incrementar la DQO del efluente, reduciendo así la DQO eliminada.

En el estado estacionario, para que la acumulación en el interior del sistema sea nula, la DQO suspendida (afluente y la asociada a la biomasa generada a partir de la DQO degradada) que está siendo retenida, debería coincidir con la suma de la fracción de la DQO biodegradable acumulada durante el último TRC que está siendo hidrolizada y la DQO que está siendo purgada. La DQO hidrolizada estará disponible para ser oxidada, por lo que si el proceso anaerobio funciona correctamente, la DQO eliminada coincidirá con la suma de la DQO transformada en productos y la DQO purgada, de acuerdo con la Ecuación 28.

$$\begin{aligned} DQO_{Eliminada} &= DQO_{Afluente} - DQO_{Efluente}^{Residual} \\ &= DQO_{Productos} + DQO_{Purga} \end{aligned} \quad \text{Ecuación 28}$$

A partir de la Ecuación 28 es sencillo identificar el carácter complementario de las fracciones de DQO correspondientes a los productos formados y a la purga de fangos. De este modo, cuanto mayor sea la DQO hidrolizada, mayor será la DQO transformada en productos, y menor la producción de fangos.

$$\frac{DQO_{Productos}}{DQO_{Eliminada}} = 1 - \frac{DQO_{Purga}}{DQO_{Eliminada}} \quad \text{Ecuación 29}$$

En el estado estacionario, la producción específica de fangos por unidad de DQO eliminada puede ser un buen indicador de la capacidad del proceso biológico para hidrolizar la DQO suspendida, que de forma general será representativa de la capacidad del proceso biológico para degradar la materia orgánica hasta los productos finales de la degradación anaerobia, aportando información complementaria a la eficiencia de eliminación de DQO en la evaluación del funcionamiento del proceso de tratamiento anaerobio de ARU en AnMBR.

3.5.3.2 *DQO Valorizable.*

Los productos finales de la degradación anaerobia son principalmente gases (i.e., CH₄, CO₂, H₂ y H₂S), algunos de los cuales poseen enlaces altamente energéticos que les confieren atractivo como combustibles. La proporción en la que se generen los diferentes gases, dependerá principalmente de la composición de los sustratos degradados, y del contenido en sulfato, que como se ha comentado en el apartado 1.5, promoverá la competición entre organismos metanogénicos y sulfatorreductores por la DQO disponible.

El H₂S generado por los organismos sulfatorreductores posee un elevado contenido energético, sin embargo, su uso como combustible no es recomendable. Su combustión genera óxidos de azufre (SO_x), que en contacto con la humedad se hidratan dando lugar a ácido sulfúrico, que resulta altamente corrosivo para los equipos que llevan a cabo la combustión.

El CH₄ también posee un elevado contenido energético y su combustión da lugar, únicamente, a moléculas de CO₂ y H₂O, que resultan inocuas para los equipos de combustión. Su recuperación y posterior combustión, permite valorizar la DQO en forma de calor y

electricidad, de modo que la fracción de DQO potencialmente valorizable en este tipo de sistemas podría ser cuantificada mediante la DQO asociada al CH₄.

$$DQO_{Valorizable} = DQO_{CH_4} \quad \text{Ecuación 30}$$

3.5.3.3 DQO Recuperada

La DQO valorizable disuelta en el licor mezcla, no será susceptible de ser recuperada sin aplicar un post-tratamiento adecuado, por lo que “*a priori*” la magnitud de la DQO recuperada dependerá de la manera en la que el CH₄ se distribuya entre el licor mezcla y el biogás. Así pues, la DQO recuperada podrá ser cuantificada como la DQO asociada al metano recuperado con el biogás, es decir, como la fracción de la DQO valorizable recuperada con el biogás (Ecuación 31).

$$DQO_{Recuperada} = DQO_{CH_4}^{Biogás} \equiv DQO_{Valorizable}^{Biogás} \quad \text{Ecuación 31}$$

Al comparar la magnitud de la DQO recuperada con la magnitud de la DQO valorizable, es posible cuantificar la eficiencia de recuperación de metano con el biogás, o lo que es lo mismo, la eficiencia del sistema de tratamiento para recuperar la DQO valorizable energéticamente (Ecuación 32).

$$\eta_{Recuperación}^{DQO} \equiv \eta_{Recuperación}^{CH_4} = \frac{DQO_{CH_4}^{Biogás}}{DQO_{CH_4}} \equiv \frac{DQO_{Valorizable}^{Biogás}}{DQO_{Valorizable}} \quad \text{Ecuación 32}$$

3.6 Balance de Sólidos Volátiles.

Como se ha comentado en el apartado 1.4.4.1, el proceso completo de hidrólisis enzimática comprende diversas etapas (i.e., producción de enzimas, difusión, adsorción, reacción y desactivación enzimática). Sin embargo, la cinética de primer orden es la más ampliamente empleada para describir el proceso de hidrólisis, dado que ecuaciones cinéticas más complejas únicamente proporcionan resultados ligeramente mejores (Batstone y otros, 2002). De este modo, la cinética de la hidrólisis podría ser descrita mediante la Ecuación 33.

$$\rho_H = k_H \cdot [SS_{BD}] \quad \text{Ecuación 33}$$

Donde ρ_H es la velocidad de hidrólisis ($\text{mg SS}_{BD} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), $[SS_{BD}]$ es la concentración de sólidos suspendidos biodegradables ($\text{mg SS}_{BD} \cdot \text{L}^{-1}$), y k_H es la constante de hidrólisis de primer orden (d^{-1}), que refleja el efecto acumulativo de todos los procesos involucrados en el proceso completo de hidrólisis enzimática. Los sólidos suspendidos biodegradables estarán asociados a la fracción volátil de los sólidos suspendidos, de forma que un cambio en la concentración de los sólidos suspendidos biodegradables, producirá un cambio de igual magnitud en los sólidos suspendidos volátiles. Así pues, es posible reescribir la Ecuación 33 en la forma:

$$\rho_H = k_H \cdot [SS_{BD}] \equiv k_H \cdot [SSV_{BD}] \equiv k_H \cdot f_{BD} \cdot [SSV] \quad \text{Ecuación 34}$$

Donde f_{BD} es la fracción biodegradable de los sólidos suspendidos volátiles en el interior del reactor. Si además, tenemos en consideración que la fracción disuelta de los sólidos volátiles será despreciable con respecto a la suspendida, la Ecuación 34 puede ser reescrita cómo:

$$\rho_H \cong k_H \cdot f_{BD} \cdot [SV] \equiv k_{H,Ap} \cdot [SV] \quad \text{Ecuación 35}$$

Donde:

$$k_{H,Ap} = k_H \cdot f_{BD} \quad \text{Ecuación 36}$$

De modo que es posible describir la velocidad de hidrólisis a partir de la concentración de SV en el interior del reactor. La constante de hidrólisis de los SV, en adelante $k_{H,Ap}$, será función de la constante de hidrólisis de los sólidos suspendidos biodegradables (k_H) y del % de biodegradabilidad de los sólidos suspendidos volátiles en el interior del reactor (f_{BD}).

Si planteamos el balance de sólidos volátiles al sistema de tratamiento, obtenemos que:

$$\begin{aligned} Q_{Purga} \cdot [SV]_{Reactor} - Q_{Tratamiento} \cdot [SV]_{Afluente} + V_{Reactor} \\ \cdot \frac{d[SV]_{Reactor}}{dt} = V_{Reactor} \cdot \rho_H \\ \equiv V_{Reactor} \cdot k_{H,Ap} \cdot [SV]_{Reactor} \end{aligned} \quad \text{Ecuación 37}$$

Reordenando la ecuación obtenemos la siguiente expresión:

$$\frac{d[SV]_{Reactor}}{dt} = [SV]_{Reactor} \cdot \left(k_{H,Ap} - \frac{1}{TRC} \right) + \frac{[SV]_{Afluente}}{TRH} \quad \text{Ecuación 38}$$

Para poder separar las variables, realizamos el siguiente cambio de variables:

$$\frac{d[SV]_{Reactor}}{dt} = A \cdot [SV]_{Reactor} + B \equiv A \cdot \left([SV]_{Reactor} + \frac{B}{A} \right) \quad \text{Ecuación 39}$$

Donde:

$$A = k_{H,Ap} - \frac{1}{TRC} \quad \text{Ecuación 40}$$

$$B = \frac{[SV]_{Afluente}}{TRH} \quad \text{Ecuación 41}$$

De modo que:

$$\frac{d[SV]_{Reactor}/dt}{[SV]_{Reactor} + B/A} = A \quad \text{Ecuación 42}$$

Si definimos una nueva función, $u([SV]_{Reactor})$, tal que:

$$u([SV]_{Reactor}) = [SV]_{Reactor} + \frac{B}{A} \quad \text{Ecuación 43}$$

Se cumple que:

$$\frac{d[SV]_{Reactor}}{dt} = \frac{du([SV]_{Reactor})}{dt} \quad \text{Ecuación 44}$$

Y sustituyendo la nueva función en la ecuación del balance:

$$\frac{d[SV]_{Reactor}/dt}{[SV]_{Reactor} + B/A} \equiv \frac{du([SV]_{Reactor})/dt}{u([SV]_{Reactor})} = A \quad \text{Ecuación 45}$$

Obtenemos una ecuación diferencial ordinaria de variables separables que podemos integrar:

$$\int \frac{du([SV]_{Reactor})/dt}{u([SV]_{Reactor})} \cdot dt = \int A \cdot dt \quad \text{Ecuación 46}$$

La integral de la ecuación diferencial ordinaria de variables separables es una integral inmediata, cuya solución viene dada por:

$$\ln[u([SV]_{Reactor})] + C = A \cdot t + D \quad \text{Ecuación 47}$$

$$u([SV]_{Reactor}) = \exp(A \cdot t + E) \quad \text{Ecuación 48}$$

Donde $E = D - C$.

$$u([SV]_{Reactor}) = \exp(E) \cdot \exp(A \cdot t) \equiv F \cdot \exp(A \cdot t) \quad \text{Ecuación 49}$$

Donde $F = \exp(E)$.

$$[SV]_{Reactor} + \frac{B}{A} = F \cdot \exp(A \cdot t) \quad \text{Ecuación 50}$$

Para tiempo $t = 0$:

$$F = [SV]_{Reactor}^0 + \frac{B}{A} \quad \text{Ecuación 51}$$

Donde $[SV]_{Reactor}^0$ es la concentración de sólidos volátiles en el interior del reactor a tiempo 0, de modo que:

$$[SV]_{Reactor} = -\frac{B}{A} + \left([SV]_{Reactor}^0 + \frac{B}{A} \right) \cdot \exp(A \cdot t) \quad \text{Ecuación 52}$$

Sustituyendo A y B, obtenemos que:

$$\begin{aligned} [SV]_{Reactor} = & -\frac{[SV]_{Afluente} \cdot TRC}{(k_{H,Ap} \cdot TRC - 1) \cdot TRH} \\ & + \left([SV]_{Reactor}^0 + \frac{[SV]_{Afluente} \cdot TRC}{(k_{H,Ap} \cdot TRC - 1) \cdot TRH} \right) \\ & \cdot \exp \left[\left(k_{H,Ap} - \frac{1}{TRC} \right) \cdot t \right] \end{aligned} \quad \text{Ecuación 53}$$

Que nos informa de la variación de la concentración de SV en el interior del reactor con el tiempo. A partir de la Ecuación 53, es posible observar que la concentración de SV en el interior

del reactor estará afectada por el TRC, el TRH, la concentración de SV en el afluente y la concentración inicial de SV en el reactor, y de la constante de hidrólisis aparente ($k_{H,Ap}$).

Del mismo modo, es posible plantear el balance de sólidos no volátiles (SNV). En este caso, puesto que los sólidos no volátiles no son biodegradables, el término de generación será igual a cero, por lo que la expresión general del balance de SNV vendrá dada por la Ecuación 54.

$$Q_{Purga} \cdot [SNV]_{Reactor} - Q_{Tratamiento} \cdot [SNV]_{Influyente} + V_{Reactor} \cdot \frac{d[SNV]_{Reactor}}{dt} = 0 \quad \text{Ecuación 54}$$

Que de nuevo se trata de una ecuación diferencial de variables separables. Tras separar las variables e integrar, se obtiene que es posible calcular la concentración de SNV en el interior del reactor mediante la Ecuación 55:

$$[SNV]_{Reactor} = \frac{[SNV]_{Afluente} \cdot TRC}{TRH} + \left([SNV]_{Reactor}^0 - \frac{[SNV]_{Afluente} \cdot TRC}{TRH} \right) \cdot \exp \left[-\frac{t}{TRC} \right] \quad \text{Ecuación 55}$$

Finalmente, es posible calcular el porcentaje de SV en el interior del reactor a partir de las concentraciones de SV y SNV, mediante la Ecuación 56.

$$\% SV_{Reactor} = \frac{[SV]_{Reactor}}{[ST]_{Reactor}} \cdot 100 = \frac{[SV]_{Reactor}}{[SV]_{Reactor} + [SNV]_{Reactor}} \cdot 100 \quad \text{Ecuación 56}$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Caracterización del agua residual afluyente

La EDAR del Barranco del Carraixet recibe principalmente las aguas residuales generadas en las poblaciones y las industrias situadas a lo largo de la cuenca del barranco del Carraixet, así como las aguas de tormenta, por lo que presenta características típicas de un ARU, tal y como se ha descrito en el apartado 1.1. La mezcla en diferentes proporciones de las distintas componentes atribuye al afluyente una elevada variabilidad a cualquier escala temporal (en el CAPITULO 6 se puede consultar la variabilidad, tanto diaria como estacional, de los principales parámetros físico-químicos característicos del ARU afluyente). Además, la EDAR recibe frecuentemente descargas puntuales que provocan un aumento de la carga afluyente, de carácter generalmente breve pero intenso. En la Tabla 11 se presentan los estadísticos resumen de los parámetros físico-químicos característicos del ARU afluyente.

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Distribución</i>	<i>Media^a</i>	<i>Desv. típica.^b</i>
<i>SST</i>	<i>mg SST·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	273,3	1,7
<i>DQO_T</i>	<i>mg DQO·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	543,9	1,5
<i>DQO_S</i>	<i>mg DQO·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	81,7	1,3
<i>DBO_T</i>	<i>mg DBO·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	369,5	1,4
<i>DBO_S</i>	<i>mg DBO·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	61,0	1,4
<i>AGV</i>	<i>mg CH₃COOH·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	6,5	2,1
<i>N_T</i>	<i>mg N·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	54,1	1,2
<i>N_S</i>	<i>mg N·L⁻¹</i>	<i>Normal</i>	38,0	5,9
<i>N-NH₄</i>	<i>mg N·L⁻¹</i>	<i>Normal</i>	33,1	9,1
<i>P_T</i>	<i>mg P·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	9,5	1,4
<i>P-PO₄</i>	<i>mg P·L⁻¹</i>	<i>Normal</i>	4,13	1,6
<i>S-SO₄</i>	<i>mg S·L⁻¹</i>	<i>Normal</i>	103,4	12,7
<i>DQO_T/S-SO₄</i>	<i>mg DQO·mg⁻¹ S</i>	<i>Log-Normal</i>	5,4	2,9
<i>pH</i>		<i>Normal</i>	7,71	0,17
<i>Conductividad</i>	<i>mS·m⁻¹</i>	<i>Normal</i>	190,7	17,6
<i>Alcalinidad</i>	<i>mg CaCO₃·L⁻¹</i>	<i>Log-Normal</i>	333,4	1,2

a. La media es geométrica para parámetros con distribución Log-Normal y aritmética para parámetros con distribución Normal.

b. La desviación típica es geométrica para parámetros con distribución Log-Normal y aritmética para parámetros con distribución Normal.

Tabla 11. Principales parámetros físico-químicos característicos del ARU afluyente.

La medida de la tendencia central está representada por la media aritmética o la media geométrica, en función de si la distribución de frecuencias es Normal o Log-Normal, respectivamente. La medida de la dispersión está representada por la desviación típica o la desviación típica geométrica, en función de si la distribución de frecuencias es Normal o Log-Normal, respectivamente. El apartado A II.2 del Anexo II recoge el tratamiento estadístico realizado sobre los diferentes parámetros característicos del ARU afluente.

En la Tabla 11 es posible observar que los parámetros característicos del ARU que involucran fracciones particuladas (i.e., SST, DQO_T, DBO_T, N_T y P_T) y los calculados a partir de los anteriores (DQO_T/S-SO₄), las fracciones orgánicas solubles (i.e. DQO_S, DBO_S y AGV), y la alcalinidad, se ajustan al modelo de distribución de frecuencias Log-Normal. Los histogramas correspondientes a la distribución de frecuencias de las fracciones disueltas de N y P (i.e., N-NH₄ y N_{T,S}, y P-PO₄), S-SO₄, conductividad y pH se ajustan al modelo de distribución Normal de frecuencias. Estos resultados sugieren que las descargas puntuales recibidas en la EDAR del barranco del Carraixet tenían una elevada fracción particulada, una elevada concentración de AGV, que contribuyeron a incrementar las fracciones orgánicas solubles (i.e. DQO_S y DBO_S), y una elevada alcalinidad.

4.1.1 Correlación entre la DQO_T y los SST del afluente.

Con la finalidad de disponer de un mayor número de datos de velocidad carga orgánica sin la necesidad de incrementar el número de analíticas realizadas (dado el elevado coste y generación de residuos vinculados a la determinación de la DQO de una muestra), se correlacionaron los datos de concentración de SST con los de concentración de DQO_T de las muestras de ARU afluente. En la Figura 19 se han representado gráficamente los valores experimentales de la DQO_T frente a los de SST obtenidos a lo largo de todo el periodo experimental (n = 156).

El grado de correlación entre los SST y la DQO_T en el afluente fué similar al obtenido con los SST. La elección de los SST como variable independiente, se debió a que se disponía de un sensor que proporcionó una lectura *on-line* de este parámetro que permitió monitorizar la VCO a partir de la correlación encontrada, posibilitando el control de la VCO mediante la manipulación de los tiempos de filtración y relajación empleados.

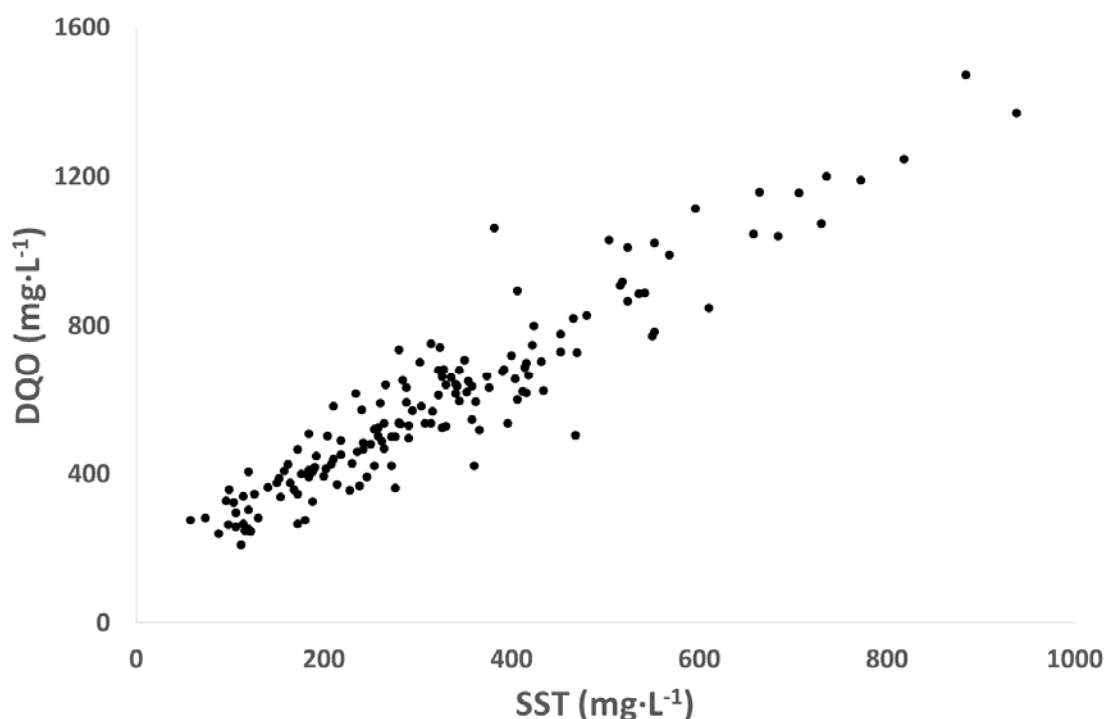


Figura 19. Dispersión de los valores experimentales de DQO_T y SST del ARU afluente.

La representación gráfica de los pares de valores SST- DQO_T sugirió la existencia de una relación lineal entre ambos parámetros, por lo que se aplicó el modelo de regresión lineal simple, descrito en la sección A II.1.2.1 del Anexo II.

En la Tabla 12 se presentan los estimadores de los parámetros del modelo de regresión lineal simple, obtenidos mediante el ajuste de los mínimos cuadrados, siendo la concentración de SST la variable independiente y la concentración de DQO_T la dependiente. $\hat{\beta}_1$ es el estimador de la pendiente y $\hat{\beta}_0$ es el estimador de la ordenada en el origen.

Parámetro	Coeficientes	Error típico	Intervalo de Confianza (95%)	
			Inferior	Superior
$\hat{\beta}_0$	149,2	12,8	123,6	174,1
$\hat{\beta}_1$	1,3774	0,0353	1,3076	1,4472

Tabla 12. Estimaciones de los coeficientes del modelo de regresión lineal.

En la Tabla 13 se presentan los resultados correspondientes al análisis de la bondad del ajuste de la regresión. En el caso particular que se estudia, un 90,8% de la variación de la DQO_T está explicada por la variación de la concentración de los SST. Además, dado que el número de

observaciones es elevado ($n = 156$), y hay una única variable independiente, el valor de R^2 corregido es muy similar al del coeficiente de determinación.

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación de Pearson (R)	0,9529
Coeficiente de determinación (R^2)	0,9080
R^2 ajustado	0,9074
Error típico (S_e)	75,2
Observaciones	156

Tabla 13. Estudio de la bondad del ajuste lineal entre la concentración de DQO_T y SST.

Con la finalidad de decidir si el efecto de la variable independiente es, o no, significativa sobre la variable dependiente, se plantean los contrastes de hipótesis sobre los parámetros del modelo, β_0 y β_1 . Las hipótesis nulas las constituyen que los parámetros poblacionales sean iguales a cero, mientras que la hipótesis alternativa sería que dichos parámetros sean distintos de cero. En la Tabla 14 se presentan los resultados de los contraste de hipótesis realizados sobre los parámetros poblacionales de la regresión. Se observa que el estadístico t se sitúa en la región de rechazo, tanto para β_0 como para β_1 . Además, el P-Valor es inferior al nivel de significación ($\alpha = 0,05$) en ambos casos, por lo que es posible rechazar la hipótesis nula, y concluir que existe una relación significativa entre la variable dependiente y la variable independiente.

<i>Parámetro</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>$t_{0,975;154}$</i>	<i>P-Valor</i>
β_0	10,54	1,96	6,099E-20
β_1	34,83	1,96	1,788E-75

Tabla 14. Contraste de hipótesis sobre los parámetros estimados del modelo de regresión lineal

De forma alternativa al contraste de hipótesis, los intervalos de confianza calculados (ver Tabla 12) definen la región en la que, con una probabilidad del 95 %, se encontrarán los parámetros de la regresión, por lo que si el intervalo de confianza para el valor estimado de β_1 contiene el 0, no podremos concluir que las variables están relacionadas.

En la Figura 20 se han representado la recta de regresión y las bandas de confianza para los parámetros (B.C. parámetros) de la regresión al 95 % junto con los valores experimentales de la concentración de DQO_T y SST del ARU afluente. Las bandas de confianza para los

parámetros de la regresión al 95 %, enmarcan la región del gráfico en la que con una probabilidad del 95 % se encontrará la recta de regresión.

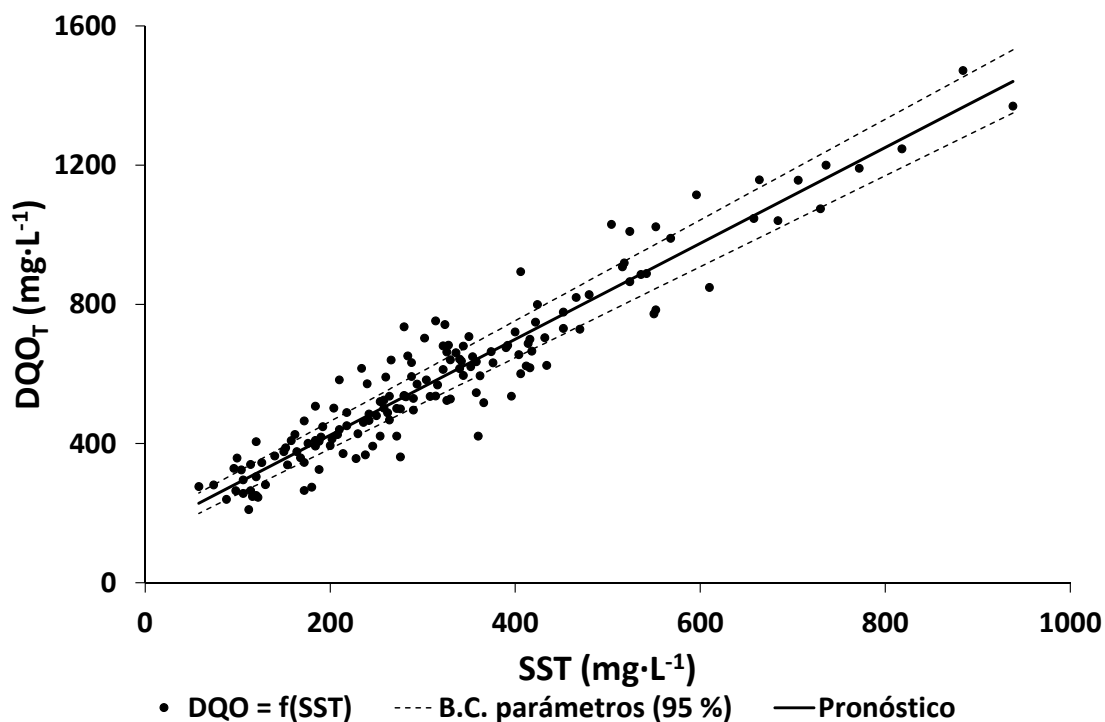


Figura 20. Modelo de regresión lineal ajustado a los valores experimentales de la concentración de DQO_T y SST del ARU afluente.

Tras la estimación de los parámetros, conviene efectuar un conjunto de pruebas de validación de los resultados obtenidos, con la finalidad de identificar posibles divergencias con los supuestos en los que se basa el modelo de regresión lineal (ver apartado A II.1.2.1 del Anexo II).

- *Linealidad:* En cuanto al cumplimiento del primer supuesto, la inspección del diagrama de dispersión (Figura 19) puede darnos una idea de si existe relación lineal entre las variables dependiente e independiente. A la vista del diagrama de dispersión generado para los pares de valores DQO_T -SST de los que se dispone, resulta bastante razonable asumir que existe relación lineal entre ambas variables. Adicionalmente, los intervalos de confianza calculados para la estimación de los parámetros del modelo no contienen el valor 0, evidenciando una correlación lineal positiva. El

quinto supuesto no aplica al caso de regresión lineal simple, pues es imprescindible la presencia de más de una variable independiente.

Para validar el resto de los supuestos (*independencia, homocedasticidad y normalidad*) se ha llevado a cabo un análisis de los residuos

- *Independencia*: Para la validación del supuesto de independencia de los residuos, se calculó el estadístico de Durbin-Watson (Ecuación 83; apartado A II.1.2.1 del Anexo II). El estadístico DW para los residuos del modelo de regresión lineal simple aplicado a las observaciones de las variables DQO_T y SST del ARU afluente, toma el valor de 1,676, que está incluido en el intervalo 1,5–2,5, dentro del cual podemos asumir que los residuos son independientes entre sí.
- *Homocedasticidad*: El supuesto de igualdad de varianzas implica que la variación de los residuos debe ser uniforme en todo el rango de valores pronosticados. La Figura 21 muestra el diagrama de dispersión de los residuos tipificados (residuos entre desviación típica) frente a los pronósticos tipificados (pronósticos entre desviación típica), evidenciando que no existe ninguna pauta asociativa entre las variables representadas.

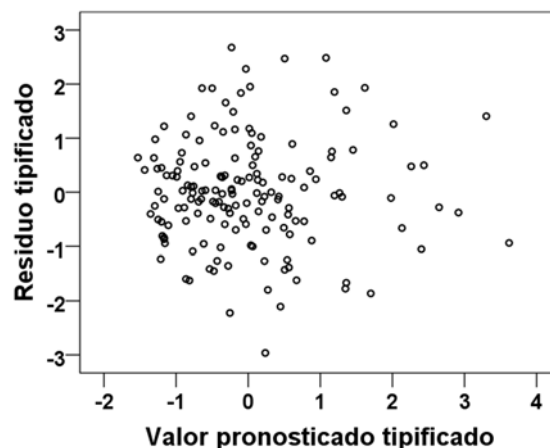


Figura 21. Dispersión de los residuos tipificados frente a los pronósticos tipificados.

- *Normalidad*: Para validar el supuesto de normalidad es posible recurrir a métodos gráficos, como el histograma de frecuencias o el diagrama de probabilidad normal, o a test de bondad de ajuste, como el test de Kolmogorov-Smirnov. La Figura 22

muestra el histograma de frecuencias de los residuos junto con la curva de distribución normal (izquierda), y el diagrama de probabilidad normal (derecha). El histograma de frecuencias revela que en la parte central de la distribución existen más casos de los que cabría esperar según la curva de distribución normal teórica, aunque parece simétrica. En el gráfico de probabilidad normal, se observa cómo la mayoría de las observaciones se sitúan bastante cerca de la diagonal, aunque no sobre esta.

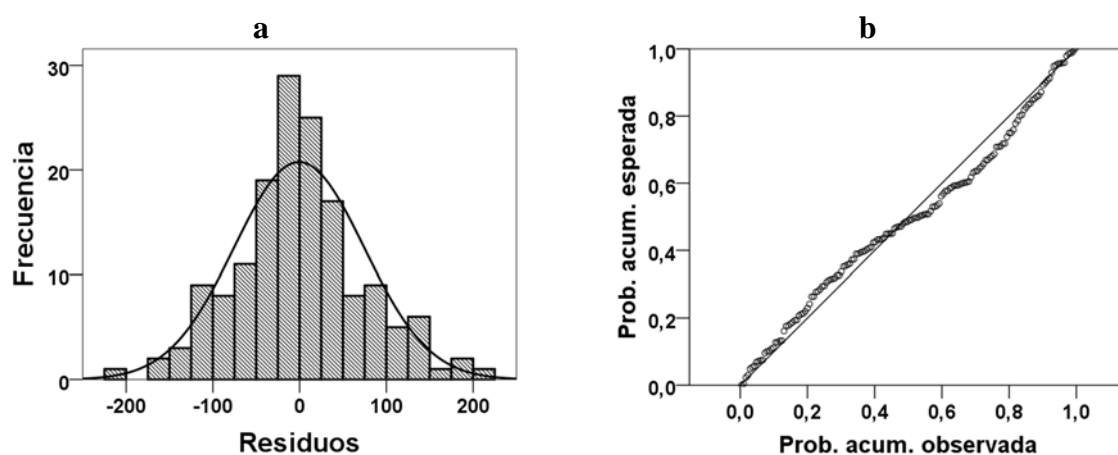


Figura 22. Histograma de frecuencias (a) y gráfico de probabilidad normal (b) de los residuos.

Para garantizar la validez del supuesto de normalidad de los residuos, se aplicó el test de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov (K-S) a los mismos, utilizando la distribución normal como distribución de contraste.

<i>Parámetro</i>	<i>N</i>	<i>Parámetros normales^a</i>		<i>D^b</i>	<i>D_α</i>	<i>P-Valor</i>
		<i>Media</i>	<i>Desv. típica</i>			
Residuos	156	-0,628	74,98	0,062	0,110	0,582

a. Los parámetros normales han sido calculados a partir de la muestra.
 b. La distribución de contraste es la normal.

Tabla 15. Test de bondad de ajuste K-S para los residuos.

La Tabla 15 muestra los resultados de la aplicación de dicho test. Además de los parámetros que se han utilizado para el cálculo de la función de distribución normal de contraste, se presenta el valor del estadístico de K-S y el P-Valor asociado al contraste. Puesto que el P-valor es mayor que el nivel de significación ($\alpha = 0,05$), no se rechaza la hipótesis nula, por lo que se puede afirmar que existe evidencia estadística de que los residuos están distribuidos normalmente.

Tras validar cada uno de los supuestos sobre los que se basa el modelo de regresión lineal, es posible garantizar su validez y afirmar que existe una relación lineal positiva entre la concentración de DQO_T y la de SST del A.R.U afluente. Es posible, por lo tanto, predecir el valor de la concentración de DQO_T en una muestra sustituyendo el valor de la concentración de SST en dicha muestra en la Ecuación 57.

$$DQO_T (mg \cdot L^{-1}) = 1,3774 \cdot SST (mg \cdot L^{-1}) + 149,2 \quad \text{Ecuación 57}$$

El error para la predicción de la concentración de DQO_T a partir de un valor puntual de la concentración de SST viene dado por el intervalo de predicción. El conjunto de los intervalos de predicción para cualquier valor de la concentración de SST da lugar a las bandas de predicción (B.P.), que es posible cuantificar mediante la Ecuación 58

$$B.P. (95\%) = \pm 148,6 \cdot \sqrt{1,0065 + \frac{([SST] - 319)^2}{4530117}} \quad \text{Ecuación 58}$$

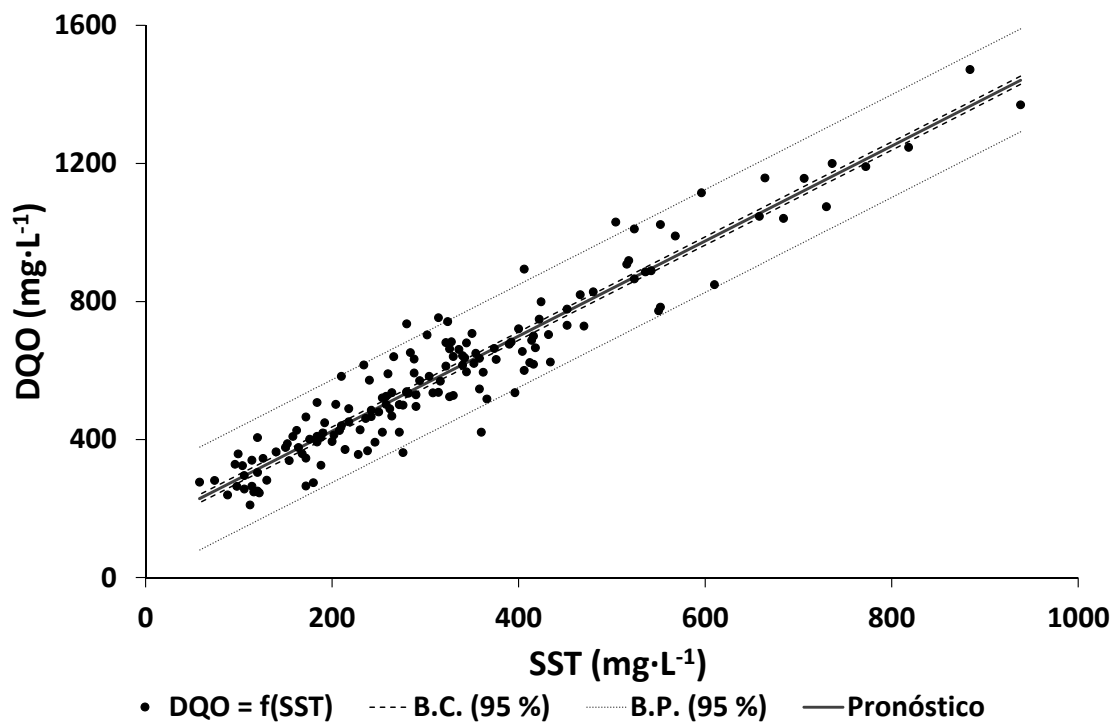


Figura 23. Dispersión de los valores experimentales de DQO_T y SST del ARU afluente.

El error para la estimación del valor medio de la concentración de DQO_T, para todas las muestras con una misma concentración de SST, vendrá dado por el intervalo de confianza para la estimación. El conjunto de los intervalos de confianza para cualquier valor de la concentración de SST dará lugar a las bandas de confianza (B.C.), que es posible cuantificar mediante la Ecuación 59.

$$B.C.(95\%) = \pm 148,6 \cdot \sqrt{0,0065 + \frac{([SST] - 319)^2}{4530117}} \quad \text{Ecuación 59}$$

4.1.2 Correlación entre la DQO_T y los SV en el licor mezcla

Del mismo modo que para el caso de las concentraciones de DQO_T y SST del ARU afluente, la representación de los valores experimentales de la concentración de DQO_T y de SV en el licor mezcla (Figura 24) indicó la existencia de una relación de tipo lineal, por lo que se aplicó el modelo de regresión lineal simple, con la finalidad de disponer de un mayor número de valores de DQO_T del fango sin la necesidad de incrementar el número de analíticas de DQO.

En este caso se utilizó la concentración de SV en el licor mezcla porque el grado de correlación con la DQO_T fué mayor que con los sólidos totales. Además, a diferencia que en el caso de los SST en el afluente (parámetro para el que se disponía de una medida *on-line*), no existía un interés especial por correlacionar la DQO_T del licor mezcla con los ST.

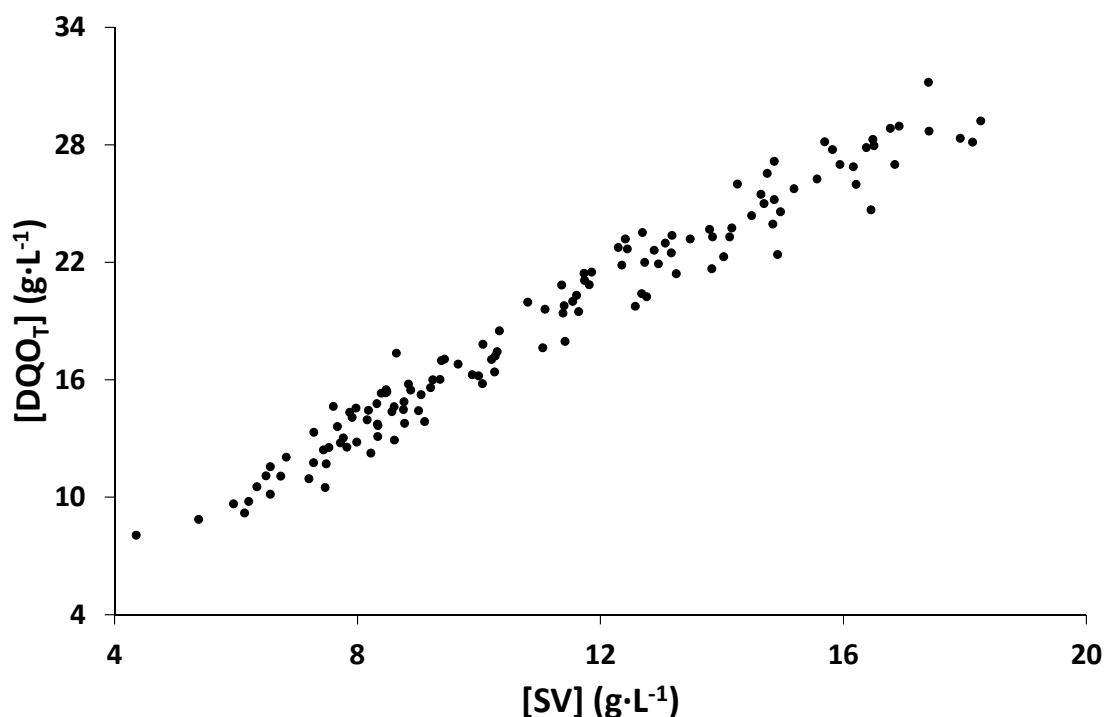


Figura 24. Dispersión de los valores experimentales de DQO_T y SV en el interior del reactor.

En la Tabla 16 se presentan los estimadores de los parámetros del modelo de regresión lineal simple, obtenidos mediante el ajuste de los mínimos cuadrados, siendo la concentración de SV la variable independiente y la concentración de DQO_T la dependiente. $\hat{\beta}_1$ es el estimador de la pendiente y $\hat{\beta}_0$ es el estimador de la ordenada en el origen.

Parámetro	Coeficientes	Error típico	Intervalo de Confianza (95%)	
			Inferior	Superior
$\hat{\beta}_0$	0,3201	0,0334	-0,3413	0,9815
$\hat{\beta}_1$	1,6669	0,0287	1,6100	1,7238

Tabla 16. Coeficientes del modelo de regresión lineal.

En la Tabla 17 se presentan los resultados correspondientes al análisis de la bondad del ajuste de la regresión. En el caso particular que se estudia, un 96,33% de la variación de la concentración de DQO_T está explicada por la variación de la concentración de los SV. Además, dado que el número de observaciones es elevado ($n = 130$), y hay una única variable independiente, el valor de R^2 corregido es muy similar al del coeficiente de determinación.

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación de Pearson (R)	0,9815
Coefficiente de determinación (R²)	0,9633
R² ajustado	0,9630
Error típico (S_e)	1,1030
Observaciones	130

Tabla 17. Estudio de la bondad del ajuste lineal entre la concentración de DQO_T y SV.

Con la finalidad de decidir si el efecto de la variable independiente es, o no, significativa sobre la variable dependiente, se plantean los contrastes de hipótesis sobre los parámetros del modelo, β_0 y β_1 . En la Tabla 14 se presentan los resultados de los contrastes de hipótesis realizados sobre los parámetros poblacionales de la regresión. Se observa que el estadístico t se sitúa en la región de rechazo para β_1 . Además, el P-Valor es inferior al nivel de significación ($\alpha = 0,05$), por lo que es posible rechazar la hipótesis de que la pendiente es igual a cero. En este caso, el contraste de hipótesis no nos permitiría rechazar la hipótesis de que la ordenada en el origen sea igual a cero. Sin embargo, el resultado de la inferencia sobre la ordenada en el origen no modifica el resultado de la inferencia sobre la pendiente. Así pues, es posible concluir que existe una relación significativa entre la variable dependiente y la variable independiente.

<i>Parámetro</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>t</i> _{0,975;128}	<i>P-Valor</i>
β_0	0,9576	1,96	0,3401
β_1	57,98	1,96	9,453E-94

Tabla 18. Contraste de hipótesis sobre los parámetros estimados del modelo de regresión lineal

Los intervalos de confianza calculados para los parámetros de la regresión (Tabla 16), confirman los resultados obtenidos a partir de los contrastes de hipótesis. En la Figura 25 se han representado la recta de regresión y las bandas de confianza para los parámetros de la regresión (B.C. Parámetros) al 95 % junto con los valores experimentales de la concentración de DQO_T y SV en el interior del reactor. Las bandas de confianza para los parámetros de la regresión al 95 %, enmarcan la región del gráfico en la que con una probabilidad del 95 % se encontrará la recta de regresión.

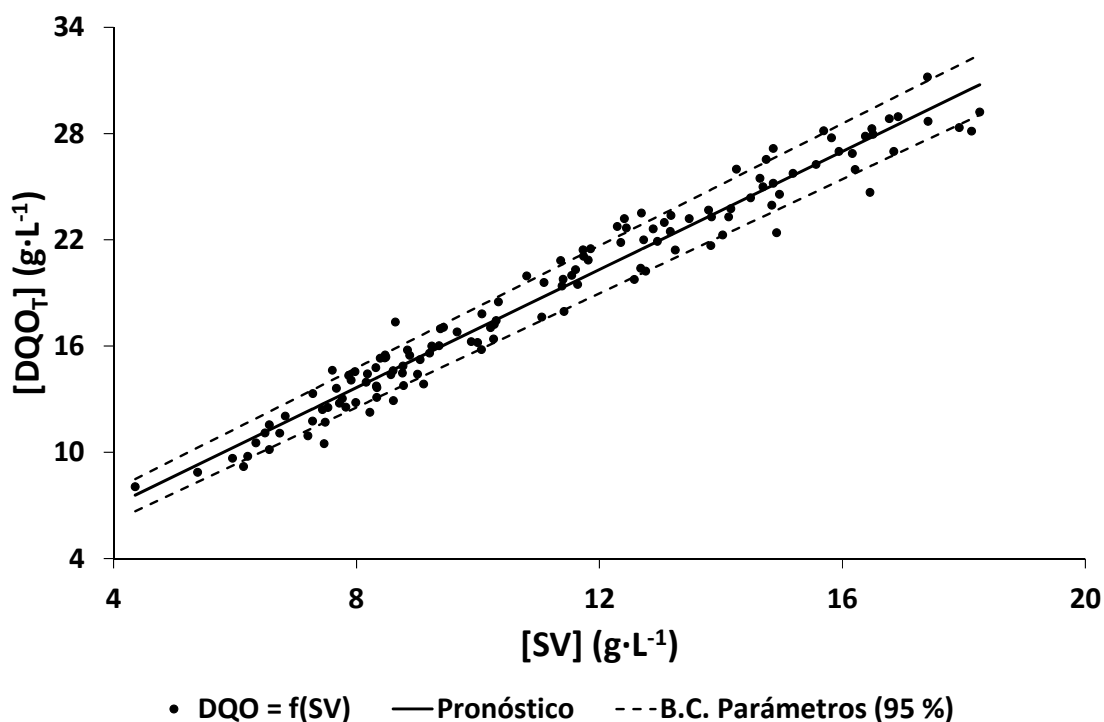


Figura 25. Modelo de regresión lineal ajustado a los valores experimentales de la concentración de DQO_T y SV en el licor mezcla.

Tras la estimación de los parámetros, conviene efectuar un conjunto de pruebas de validación de los resultados obtenidos, con la finalidad de identificar posibles divergencias con los supuestos en los que se basa el modelo de regresión lineal (ver apartado A II.1.2.1 del Anexo II).

- *Linealidad*: A la vista de la representación gráfica de los valores experimentales de concentración de DQO_T y de SV de los que se dispone (Figura 24), parece bastante razonable asumir que existe relación lineal entre ambas variables. Adicionalmente, los intervalos de confianza calculados para la estimación de los parámetros del modelo no contienen el valor 0, evidenciando una correlación lineal positiva
- *Independencia*: El estadístico Durbin-Watson (Ecuación 83) para los residuos del modelo de regresión lineal simple aplicado a los datos experimentales de concentración de DQO_T y SV en el interior del sistema, toma el valor de 1,818, que está incluido en del intervalo 1,5–2,5, dentro del cual podemos asumir que los residuos son independientes entre sí.

- *Homocedasticidad*: La Figura 26 muestra el diagrama de dispersión de los residuos tipificados frente a los pronósticos tipificados, evidenciando que no existe ninguna pauta asociativa entre las variables representadas.

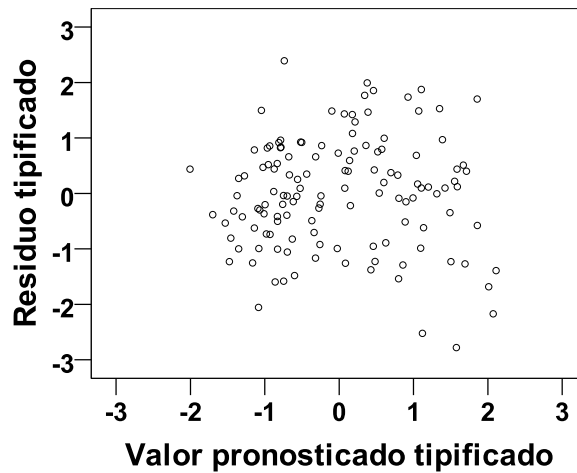


Figura 26. Dispersión de los residuos tipificados frente a los pronósticos tipificados.

- *Normalidad*: La Figura 27 muestra el histograma de frecuencias de los residuos junto con la curva de distribución normal (izquierda), y el diagrama de probabilidad normal (derecha). En ambos casos se observa que la distribución de los residuos se ajusta en gran medida a la distribución normal de frecuencias.

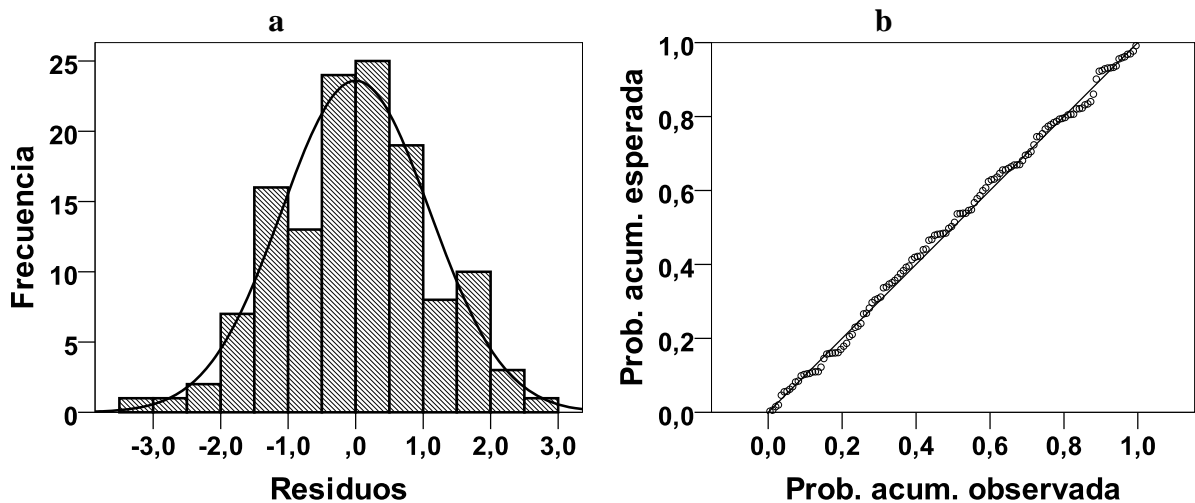


Figura 27. Histograma de frecuencias (a) y gráfico de probabilidad normal (b).

Para garantizar la validez del supuesto de normalidad de los residuos, se aplicó el test de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov (K-S) a los mismos, utilizando la distribución normal como distribución de contraste.

<i>Parámetro</i>	<i>N</i>	<i>Parámetros normales^a</i>		<i>D^b</i>	<i>D_α</i>	<i>P-Valor</i>
		<i>Media</i>	<i>Desv. típica</i>			
<i>Residuos</i>	130	-0.000	1.099	0.036	0.119	0.996

a. Los parámetros normales han sido calculados a partir de la muestra.
b. La distribución de contraste es la normal.

Tabla 19. Test de bondad de ajuste K-S para los residuos.

La Tabla 19 muestra los resultados de la aplicación de dicho test. Además de los parámetros que se han utilizado para el cálculo de la función de distribución normal de contraste, se presenta el valor del estadístico de K-S y el P-Valor asociado al contraste. Puesto que el P-valor es mayor que el nivel de significación ($\alpha = 0,05$), no se rechaza la hipótesis nula, por lo que es posible afirmar que existe evidencia estadística de que los residuos están distribuidos normalmente.

Tras validar cada uno de los supuestos sobre los que se basa el modelo de regresión lineal, es posible garantizar su validez y afirmar que existe una relación lineal positiva entre la concentración de DQO_T y la concentración de SV en el interior del reactor, de forma que la concentración de DQO_T puede ser explicada a través de la concentración de SV según la Ecuación 60:

$$DQO_T (g \cdot L^{-1}) = 1,6601 \cdot SV (g \cdot L^{-1}) + 0,3201 \quad \text{Ecuación 60}$$

Las bandas de predicción se pueden cuantificar mediante la Ecuación 61.

$$B.P. (95\%) = \pm 2,1825 \cdot \sqrt{1,0077 + \frac{([SV] - 11,13)^2}{1472,2}} \quad \text{Ecuación 61}$$

Las bandas de confianza vendrán dadas por la Ecuación 62.

$$B.C. (95\%) = \pm 2,1825 \cdot \sqrt{0,0077 + \frac{([SV] - 11,13)^2}{1472,2}}$$

Ecuación 62

En la Figura 28, es posible observar el ajuste lineal realizado sobre los pares de valores analíticos de DQO_T y SV del licor mezcla, junto con las bandas de predicción y las bandas de confianza.

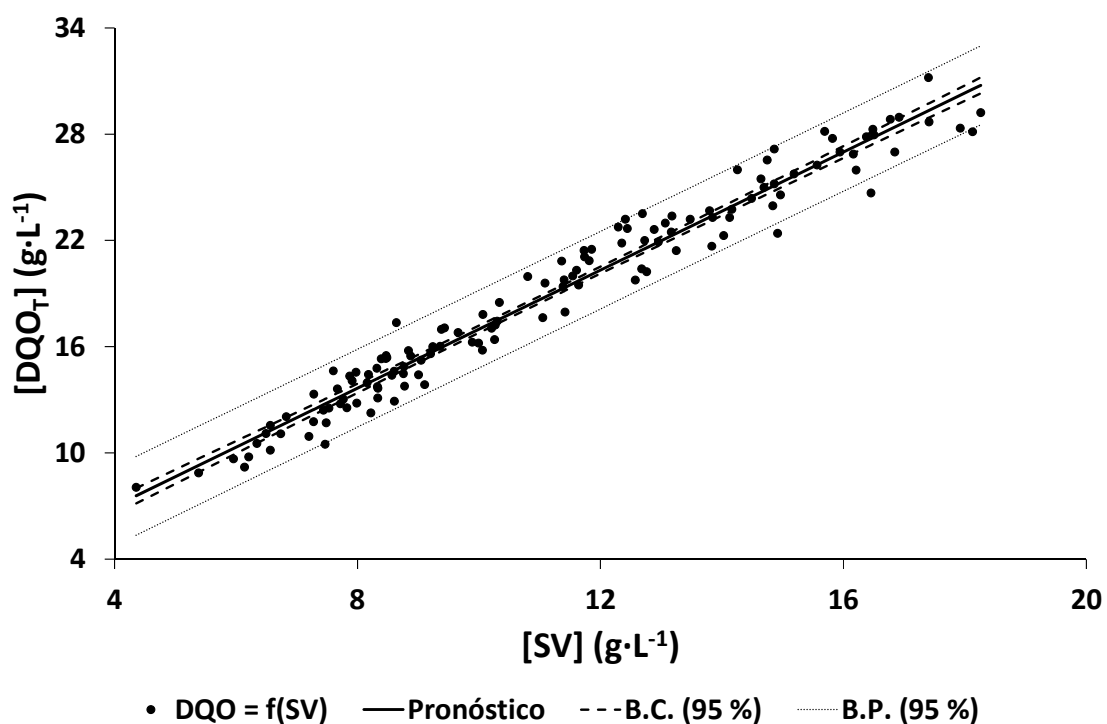


Figura 28. Dispersión de los valores experimentales de concentración de DQO_T y SV en el reactor.

4.2 Aplicación del Balance de DQO.

En el apartado 3.5 se ha puesto de manifiesto la importancia de plantear los balances de DQO a sistemas de tratamiento de aguas residuales, con el fin de comprobar la validez de los datos experimentales obtenidos en el mismo, y/o evaluar su funcionamiento. Además, en el apartado 3.5.3, se ha expuesto de forma particular el funcionamiento de un reactor de membranas para el tratamiento anaerobio de aguas residuales, proponiendo el uso de diferentes parámetros (Eficiencia de eliminación de DQO, producción de fangos, producción de CH₄ y eficiencia de recuperación de CH₄ con el biogás), como indicadores del funcionamiento del proceso en términos de DQO eliminada, DQO valorizable y DQO recuperada.

Por una parte, la aplicación del balance de DQO a un AnMBR (Ecuación 26, apartado 3.5.2), en los estados *pseudo-estacionarios* considerados, puso de manifiesto la validez de los datos experimentales disponibles, dado que el error obtenido al comparar la DQO afluente con la DQO asociada a todas las corrientes de salida ($DQO_{Efluente}^{Residual} + DQO_{Purga} + DQO_{Productos}$) fue inferior al 3,9 % en todos los periodos estudiados.

Por otra parte, en el apartado 3.5.2 se ha puesto de manifiesto la importancia de caracterizar la DQO del efluente, y se ha propuesto utilizar la DQO residual en el efluente (DQO del efluente no asociada a los productos finales de la degradación anaerobia) para cuantificar correctamente los indicadores de funcionamiento del proceso. La determinación de gases disueltos siempre resulta compleja, dado que tienden a establecer un equilibrio con la fase gas con la que están en contacto. En los apartados 3.4.8 y 3.4.9 se ha descrito la metodología para la determinación del sulfuro total y del metano disuelto, respectivamente. En el caso del sulfuro total, este inconveniente puede solventarse incrementando el pH de la muestra, de manera que prácticamente todo el sulfuro se encontrará en forma de la especie ionizada HS⁻, que no es volátil. Sin embargo, no es posible minimizar la tendencia del metano a escapar de la fase líquida, por lo que la manipulación de las muestras siempre es un factor crítico.

Una forma más sencilla de determinar la concentración de metano disuelto en el efluente sería mediante la aplicación de la ley de equilibrio, a partir del contenido en metano del biogás que ocupa el espacio de cabeza. Sin embargo, en la bibliografía, existen diferentes referencias (Pauss y otros, 1990; Hartley y Lant, 2006; Souza y otros, 2011) que sugieren una posible

sobresaturación de los gases producidos durante la degradación anaerobia de la materia orgánica. De este modo, para poder cuantificar la concentración de metano disuelto en el efluente a partir de la ley de equilibrio, sería necesario asegurar previamente que no se encuentra sobresaturado.

Resulta posible analizar el grado de saturación a partir del índice de saturación de metano ($i_{sat}^{CH_4}$), que es la relación existente entre la concentración de metano disuelto ($[CH_4]_{Disuelto}$) y la concentración de saturación ($[CH_4]_{Saturación}$) bajo las condiciones a las que está operando el sistema para el cual se determina.

$$i_{sat}^{CH_4} = \frac{[CH_4]_{Disuelto}}{[CH_4]_{Saturación}} \quad \text{Ecuación 63}$$

4.2.1 Determinación del índice de saturación del CH₄ en el efluente.

Bajo la condición de equilibrio, la concentración de metano en el efluente debería coincidir con la concentración de saturación, que vendrá dada por la Ecuación 64.

$$[CH_4]_{Saturación} = \frac{M^{H_2O}}{H^{CH_4}(T) - P \cdot y^{CH_4}} \cdot P \cdot \bar{M}^{CH_4} \cdot y^{CH_4} \quad \text{Ecuación 64}$$

Donde:

- M^{H_2O} : Molaridad del agua (55,56 mol·L⁻¹).
- $H^{CH_4}(T)$: Constante de Henry dependiente de la temperatura para el metano.
- P : Presión.
- y^{CH_4} : fracción molar de metano en la fase gas.
- \bar{M}^{CH_4} : Peso molecular del metano (16 g·mol⁻¹).

En la Figura 29 se ha representado la concentración de metano en el efluente, obtenida al utilizar la metodología descrita en el apartado 3.4.9. para un amplio rango de valores de la concentración de metano en el biogás. Además, dado que la solubilidad del metano depende inversamente de la temperatura, el estudio se ha llevado a cabo a dos temperaturas diferentes (20 y 33°C), con la finalidad de comprobar si el índice de saturación del metano está también afectado por la temperatura. La línea continua y la línea discontinua representan la

concentración de saturación en el efluente (Ecuación 64), en función de la concentración de metano en el espacio de cabeza, a 20 y 33 °C, respectivamente. En la Figura 29 es posible observar que la concentración de metano disuelto en el efluente coincide prácticamente con la concentración de saturación, para cualquier valor de la concentración de metano en el biogás, tanto a 20 como a 33°C.

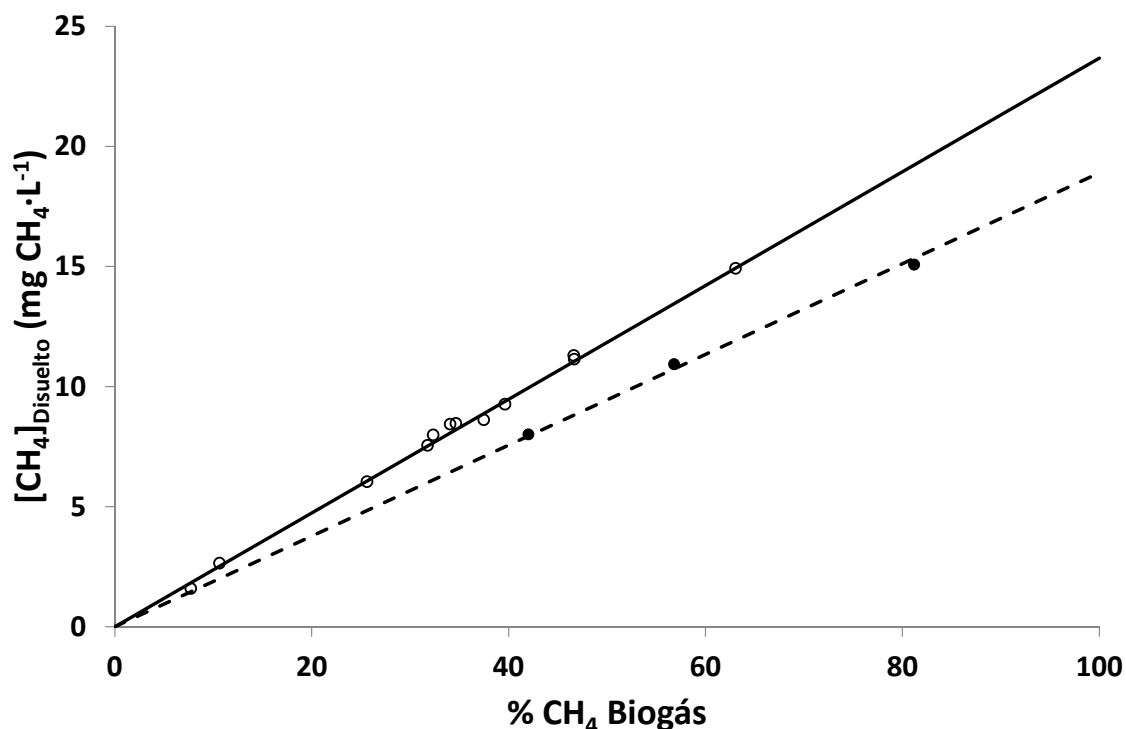


Figura 29. Concentración de metano disuelto en el efluente a 20 °C (●) y a 33°C (○). Concentración de saturación a 20 °C (línea continua) y a 33°C (línea discontinua).

El $i_{sat}^{CH_4}$ medio calculado a partir de los datos mostrados en la Figura 29, a 20 y a 33°C es de $1,001 \pm 0,026$ y $1,032 \pm 0,100$, respectivamente.

En la Figura 30 se presentan los resultados obtenidos para la concentración de metano disuelto frente a la concentración de saturación del metano. En este caso, la pendiente de la representación nos informa sobre el $i_{sat}^{CH_4}$ medio para todos los experimentos realizados sobre el efluente del sistema.

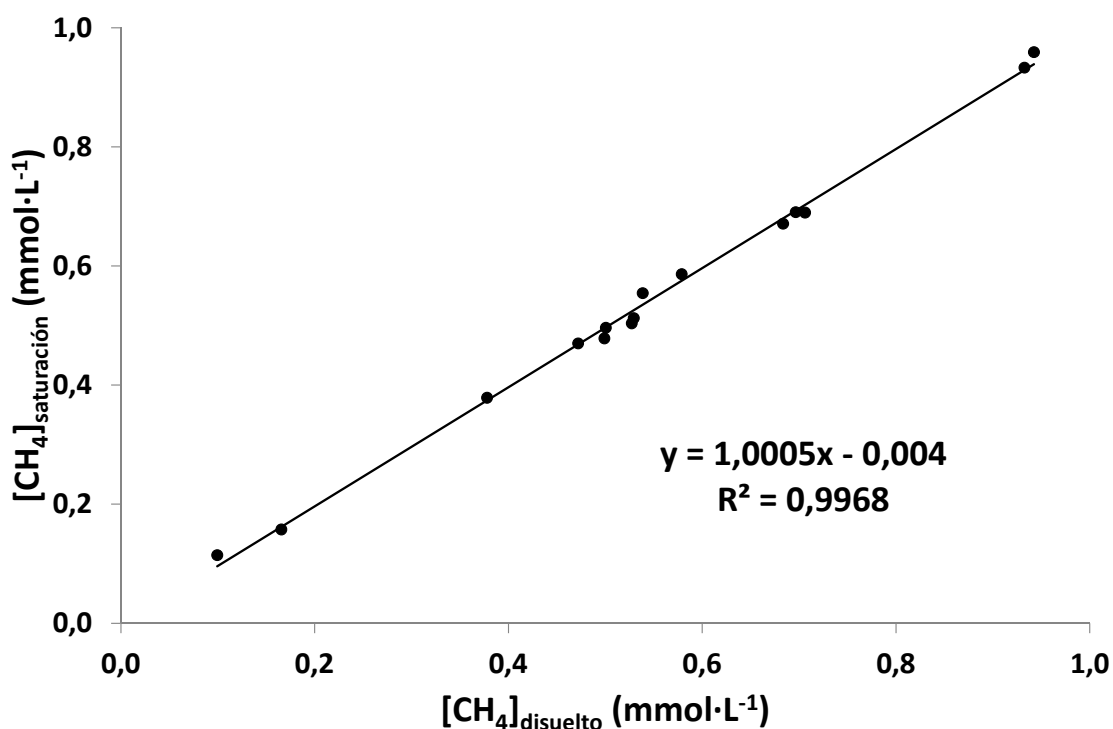


Figura 30 Concentración metano disuelto, según metodología propuesta, frente a concentración de saturación de metano.

A partir de los resultados obtenidos para el $i_{sat}^{CH_4}$, es posible concluir que la concentración del metano disuelto en el efluente se corresponde con la concentración esperada según la ley de equilibrio, independientemente de la temperatura y de la concentración del metano en la fase gas. Así pues, será posible estimar la concentración de metano disuelto en el efluente del sistema a partir de la ley de equilibrio, sin incurrir, según lo expuesto en el apartado 3.4.9, en la sobreestimación del potencial de valorización energética del sistema.

4.3 Puesta en marcha de la planta a escala demostración.

4.3.1 Inóculo.

Para llevar a cabo la puesta en marcha, el reactor de la planta a escala demostración fue inoculado con fango anaerobio procedente del digester de la EDAR del Carraixet. Las características principales del inóculo utilizado se detallan en la Tabla 20.

<i>Parámetro</i>	<i>Unidades</i>	<i>Valor</i>
[ST]	g ST·L ⁻¹	21,9
% SV	%	61,4
Volumen	L	620

Tabla 20. Características principales del inóculo utilizado

El análisis microbiológico del inóculo mostró una clara predominancia de los organismos metanogénicos (7 %, principalmente del orden *metanosarcinales*) frente a los sulfatorreductores (3 %).

El fango procedente del digester de la EDAR del Carraixet se mezcló con ARU procedente de la etapa de desengrasado-desarenado hasta completar el volumen útil del sistema. El volumen de inóculo se calculó para obtener una concentración de ST en el reactor inferior a 12 g·L⁻¹, siguiendo las indicaciones suministradas por el fabricante de las membranas. La concentración del licor mezcla resultante fue de 8,9 g ST·L⁻¹.

4.3.2 Evolución del sistema durante la puesta en marcha.

En la Tabla 21 se muestran las condiciones operacionales iniciales fijadas en la planta AnMBR a escala demostración. La temperatura se fijó en 33 °C, de manera que se asemejase a la del digester anaerobio de la EDAR del barranco del Carraixet, de donde procedía el fango anaerobio utilizado como inóculo, con la intención de generar el menor estrés posible sobre las diferentes poblaciones de microorganismos existentes en el mismo.

<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>
TRC (d)	70
T (°C)	33
TRH (h)	16

Tabla 21. Parámetros operacionales fijados inicialmente.

La Figura 31 muestra la evolución de los ST y del % de SV durante los 60 primeros días de operación, observándose un incremento en ambos parámetros, hasta aproximadamente el día 40 de operación.

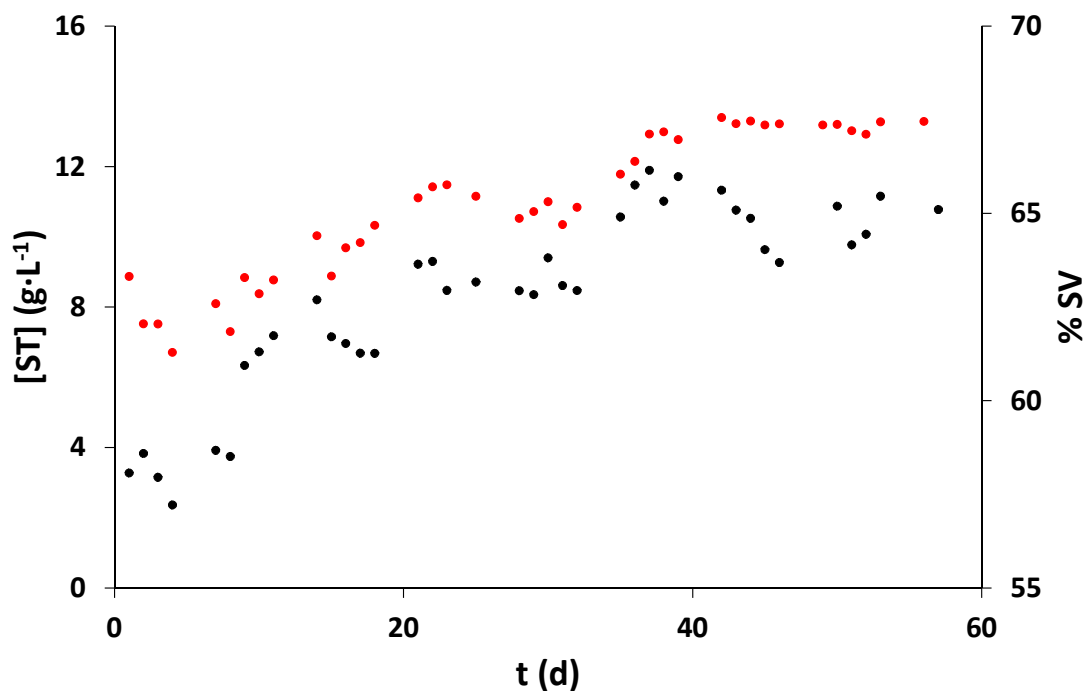


Figura 31. Evolución de la concentración de ST (●) y del % de SV (●) en el sistema durante la puesta en marcha.

La Figura 32 muestra la evolución de la concentración de DQO_T en el afluente, la concentración de DQO residual en el efluente y el % de eliminación de DQO, durante la puesta en marcha.

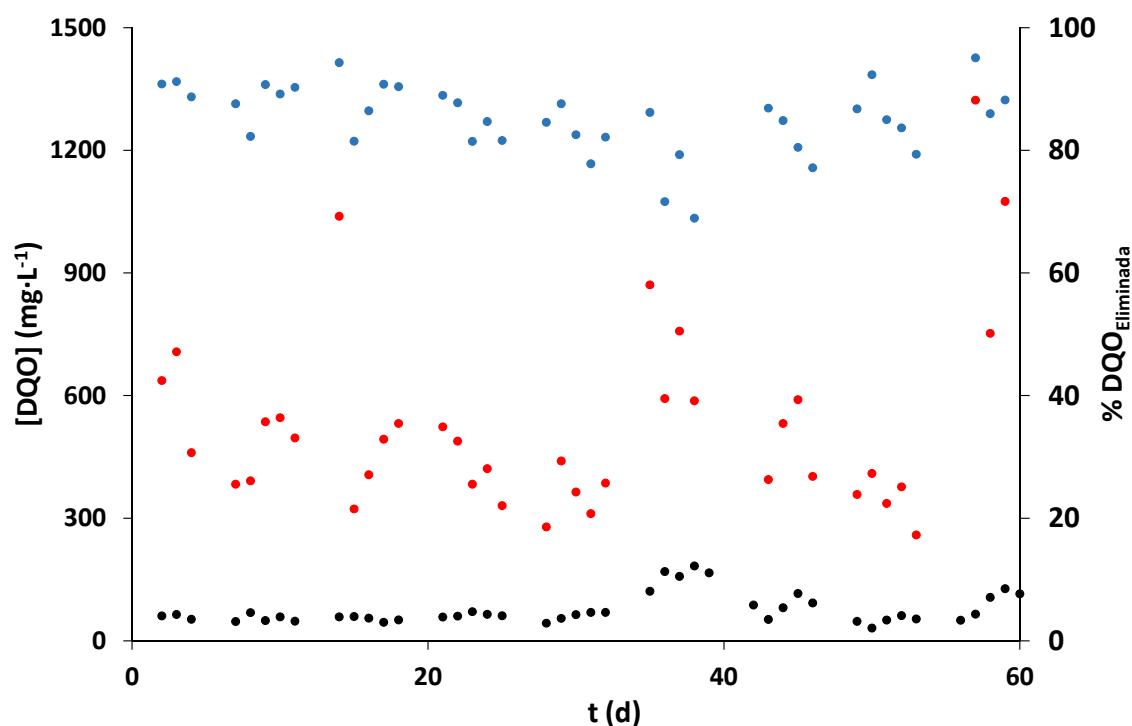


Figura 32. Evolución de la concentración de DQO afluente (●) y residual efluente (●), y del % de DQO eliminada (●) durante la puesta en marcha.

El % de eliminación de DQO fue elevado desde el primer día de operación, gracias a la retención total del material particulado promovida por la membrana. Alrededor del día 35, coincidiendo con una punta de carga afluente, se observa un ligero descenso del % de eliminación de DQO, reflejado en un incremento de la DQO residual del efluente. Posteriormente, tras cesar la punta de carga afluente, la concentración de DQO residual disminuyó, recuperándose la eficiencia de eliminación de DQO original.

La Figura 33 muestra la concentración de sulfato en el afluente y en el efluente, y el % de eliminación de sulfato. En esta figura se observa que la concentración de sulfato afluente, apenas varió durante todo el periodo considerado. Inicialmente, la eliminación de sulfato no fue completa. Sin embargo, el consumo prácticamente completo del sulfato afluente tras 40 días de operación, indicó que los microorganismos sulfatorreductores se adaptaron rápidamente a la menor relación $DQO_T/S-SO_4$ del ARU afluente, con respecto a los lodos típicos de EDAR urbana con el que se alimentaba el digestor de la EDAR del barranco del Carraixet.

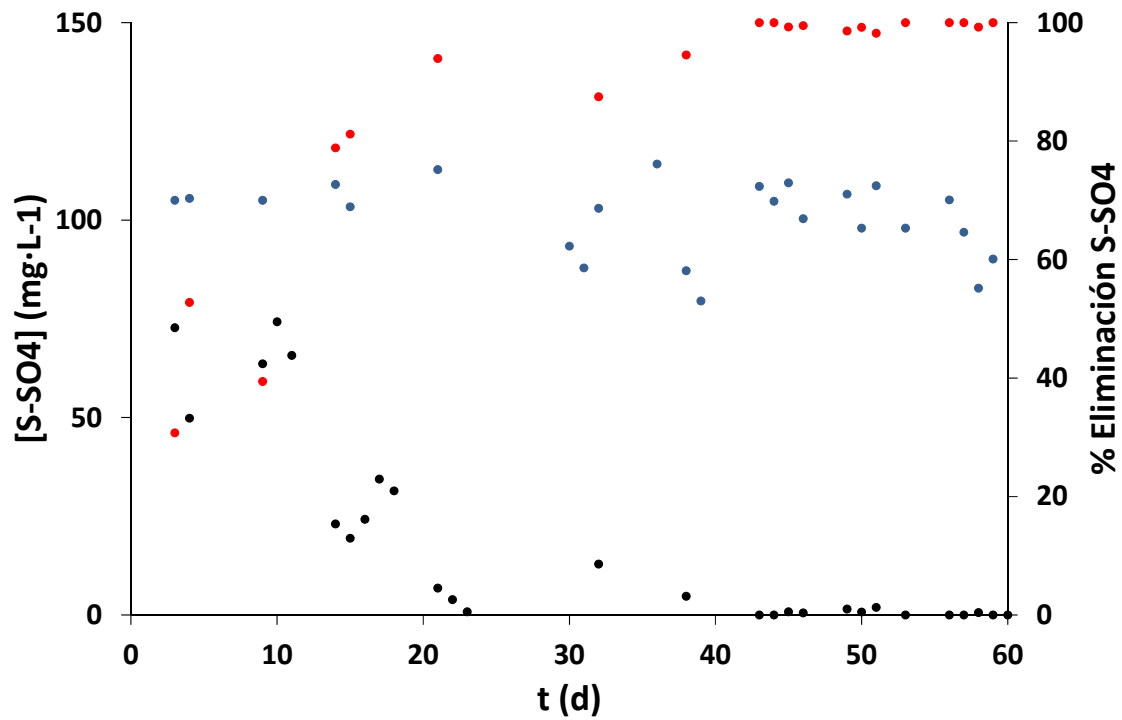


Figura 33. Evolución de la concentración de sulfato afluente (●) y efluente (●), y del % eliminación de sulfato (●) durante la puesta en marcha.

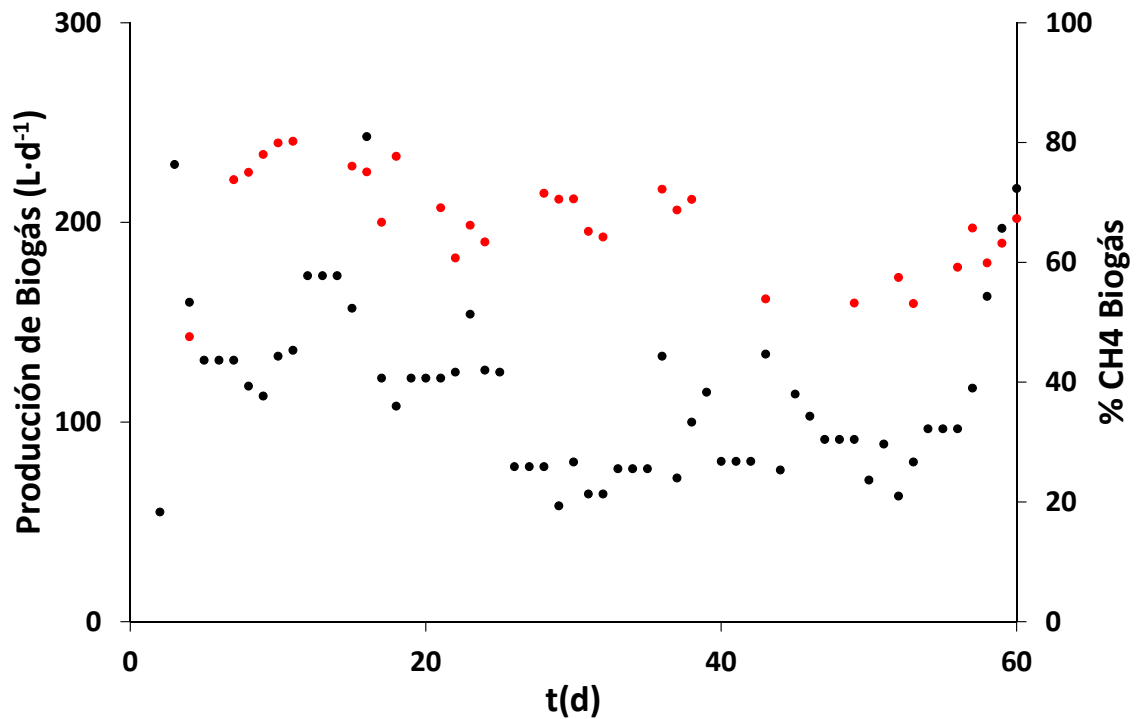


Figura 34. Evolución de la producción de biogás (●) y de la proporción de CH₄ (●) en el mismo durante la puesta en marcha.

En la Figura 34 se observa que la producción de biogás y la proporción de metano en el mismo se redujeron gradualmente, siguiendo una tendencia opuesta al consumo de sulfato afluente por parte de los organismos sulfatorreductores.

4.4 Influencia del TRH sobre el funcionamiento del sistema

Hasta la fecha, diversos autores han estudiado el efecto del TRH sobre el funcionamiento del proceso de tratamiento anaerobio de ARU en bioreactores de membrana. Algunos de estos estudios, han concluido que la influencia del TRH sobre el % de eliminación de DQO es baja o nula (Chu y otros, 2005; Ho y Sung, 2009; Lew y otros, 2009; Baek y otros, 2010; Huang y otros, 2011), en un rango de TRH entre 3 y 48 horas. Sin embargo, Salazar-Pelaez y otros (2011) observaron un incremento en la concentración de DQO efluente al reducir el TRH hasta 4 horas, indicando la proximidad al TRH mínimo necesario para degradar los compuestos orgánicos solubles. Los resultados obtenidos en los estudios anteriores parecen indicar que es posible operar un bioreactor anaerobio de membrana a reducidos TRH (superiores a 4 h), sin afectar al funcionamiento del proceso biológico. Sin embargo, todos ellos coinciden en que el TRH mínimo estará limitado por el proceso físico de separación, dado que la combinación de TRH bajos con TRC elevados, conducirá necesariamente a elevadas concentraciones de sólidos totales en el interior del sistema, directamente correlacionadas con el ensuciamiento de las membranas.

Para llevar a cabo el estudio de la influencia del TRH sobre el funcionamiento general del sistema, se procedió a disminuir el mismo desde $16,2 \pm 1,4$ hasta $5,9 \pm 1,1$ horas, mediante el aumento del caudal de tratamiento en 3 escalones consecutivos, manteniendo constantes el resto de parámetros operacionales. En la Tabla 22 se presentan los intervalos temporales que ocuparon los 4 períodos considerados.

<i>Período</i>	<i>Tiempo (d)</i>
P1	1-63
P2	64-99
P3	100-131
P4	132-202

Tabla 22. Intervalos temporales de cada período.

La Tabla 23 muestra los principales parámetros operacionales (TRH, TRC y T) durante los 4 períodos experimentales en los que se subdividió el estudio del efecto del TRH sobre el funcionamiento del sistema. Los estadísticos utilizados para describir la variación de los parámetros operacionales en los periodos considerados son la mediana, el primer y tercer cuartil (Q_1 y Q_3 , respectivamente) y el rango (diferencia entre los valores máximo y mínimo).

Parámetro	Periodo	Mediana	(Q_1 - Q_3)	Rango
TRH (h)	P1	16,6	(15,0 - 17,0)	6,6
	P2	11,9	(11,5 - 12,8)	6,1
	P3	9,3	(9,2 - 9,9)	2,1
	P4	5,6	(5,3 - 6,8)	6,3
TRC (d)	P1	70,8	(70,6 - 74,2)	4,1
	P2	70,9	(70,7 - 73,4)	8,4
	P3	74,4	(71,1 - 74,5)	3,9
	P4	71,3	(70,6 - 73,9)	7,3
T (°C)	P1	33,2	(33,1 - 33,4)	2,8
	P2	33,2	(33,1 - 33,2)	0,3
	P3	33,3	(33,2 - 33,4)	1,9
	P4	32,7	(29,7 - 33,1)	7,6

Tabla 23. Condiciones operacionales fijadas en cada periodo.

La variación de los diferentes parámetros operacionales en los periodos considerados se muestra gráficamente en la Figura 35.

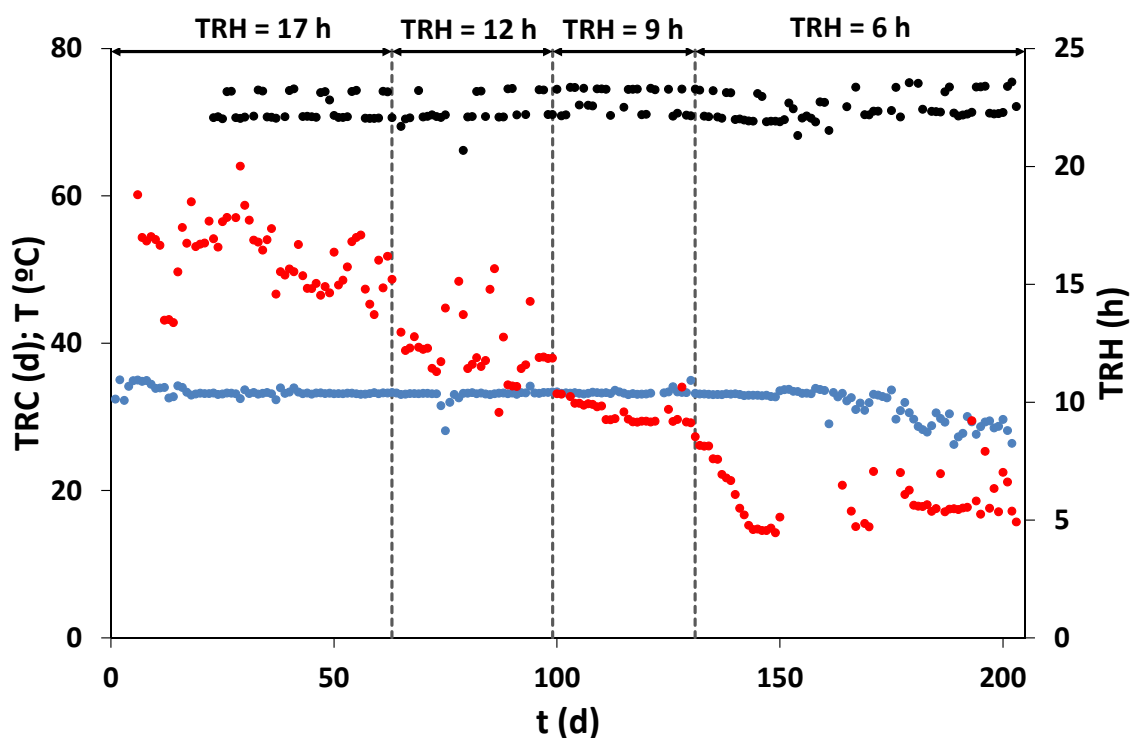


Figura 35. Evolución de los principales parámetros operacionales durante el período experimental considerado: (●) TRC, (●) TRH y (●) Temperatura.

En la Figura 35 es posible observar que el TRC y la temperatura se mantuvieron constantes durante los 4 periodos considerados, en 70 días y 33 °C, respectivamente. Hacia el final del 4º periodo se observa una ligera disminución de la temperatura debido a la llegada del invierno.

La disminución de la temperatura ambiente durante el 4º periodo dificultó el control de la temperatura de operación.

En la Figura 36 se muestra la dispersión que presentó la concentración de DQO_T afluyente a lo largo de los diferentes periodos experimentales considerados (a), junto con el diagrama de caja y bigotes de los logaritmos de la concentración de DQO_T a modo de resumen gráfico (b). Adicionalmente, la Tabla 24 resume la variación de la DQO_T afluyente durante los 4 periodos experimentales considerados.

<i>Período</i>	<i>Media^a</i>	<i>- Desv. típica^a</i>	<i>; (Q₁ - Q₃)</i>	<i>Rango</i>
P1	483,2	- 1,453	; (378,5 - 589,3)	1064,0
P2	403,2	- 1,606	; (282,0 - 535,0)	989,0
P3	385,7	- 1,383	; (271,3 - 522,5)	339,0
P4	473,2	- 1,536	; (340,0 - 656,0)	1008,0
a. Media y desviación típica geométricas				

Tabla 24. Estadísticos descriptivos de la concentración de DQO_T (mg·L⁻¹).

A partir de los resultados del análisis de la varianza (P-Valor = 0,151), no es posible rechazar la hipótesis de igualdad de las medias de los logaritmos de la concentración de DQO_T en los diferentes periodos considerados, debido a la elevada variabilidad de este parámetro. Sin embargo, el análisis *post-hoc* de Bonferroni, señala una mayor similitud entre las medias de la DQO_T afluyente en los periodos 1 y 4, y los periodos 2 y 3.

La concentración de DQO_T en los periodos 2 y 3 fue algo menor que en los periodos 1 y 4. Concretamente, la concentración de DQO_T en el periodo 3 fue la menor de todas debido a la llegada del periodo estival, durante el cual no se observaron puntas de carga y la componente mayoritaria del ARU fue la doméstica.

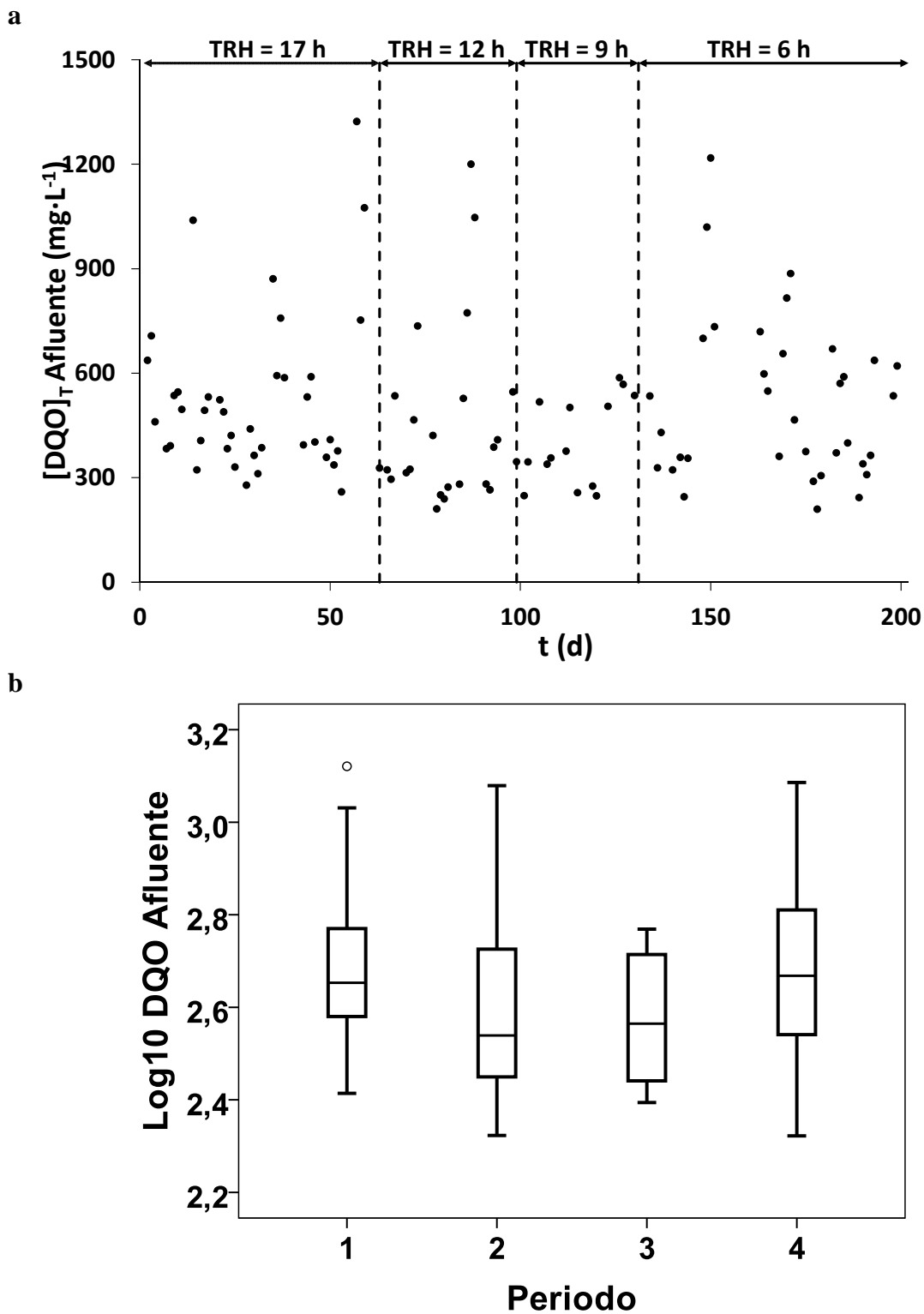


Figura 36. Evolución de la concentración de DQO_T afluente (a). Diagramas de caja y bigotes de los logaritmos de la concentración de DQO_T afluente (b).

A pesar de la disminución progresiva del TRH, la velocidad de carga orgánica (VCO) fue similar durante los tres primeros períodos, debido al mayor caudal de tratamiento en los períodos 2 y 3, con respecto al período 1. En el período 4, la concentración de DQO_T afluente aumentó nuevamente hasta los valores pre-estivales contribuyendo, junto con el incremento del caudal, a incrementar la VCO. La Figura 37 muestra la variación de la VCO durante los diferentes periodos considerados (a), junto con el diagrama de caja y bigotes de los logaritmos de la VCO a modo de resumen gráfico (b). En esta figura se han señalado las sobrecargas orgánicas puntuales ocasionadas por las puntas de carga afluente mencionadas en el apartado 4.1.

Adicionalmente, la Tabla 25 muestra los valores de la VCO en cada uno de los períodos experimentales considerados.

Período	Media^a - Desv. típica^a	; (Q₁ - Q₃)	Rango
P1	0,658 - 1,611	; (0,521 - 0,808)	1,898
P2	0,736 - 1,791	; (0,565 - 1,044)	2,824
P3	0,980 - 1,434	; (0,730 - 1,382)	1,249
P4	1,535 - 2,044	; (1,052 - 2,682)	5,416
a. Media y desviación típica geométricas			

Tabla 25. Estadísticos descriptivos de la VCO (kg·m⁻³·d⁻¹).

El análisis de la varianza de los logaritmos de la VCO, puso de manifiesto que las medias de dicha variable no fueron iguales durante los diferentes períodos considerados (P-Valor = 0,000). El análisis *post-hoc* de Bonferroni, confirmó que existieron diferencias significativas al comparar la media de los logaritmos de la VCO en el período 4 con la de los períodos 1 y 2. Al comparar el periodo 3 con el resto de periodos las diferencias no fueron significativas. Sin embargo, la probabilidad de no cometer error al aceptar la hipótesis de igualdad de medias entre los periodos 1 y 3, y 2 y 3 fue mayor que al comparar las medias en los períodos 3 y 4, indicando que la VCO durante el período 3 fue más similar a la VCO durante los períodos 1 y 2, que a la VCO durante el período 4.

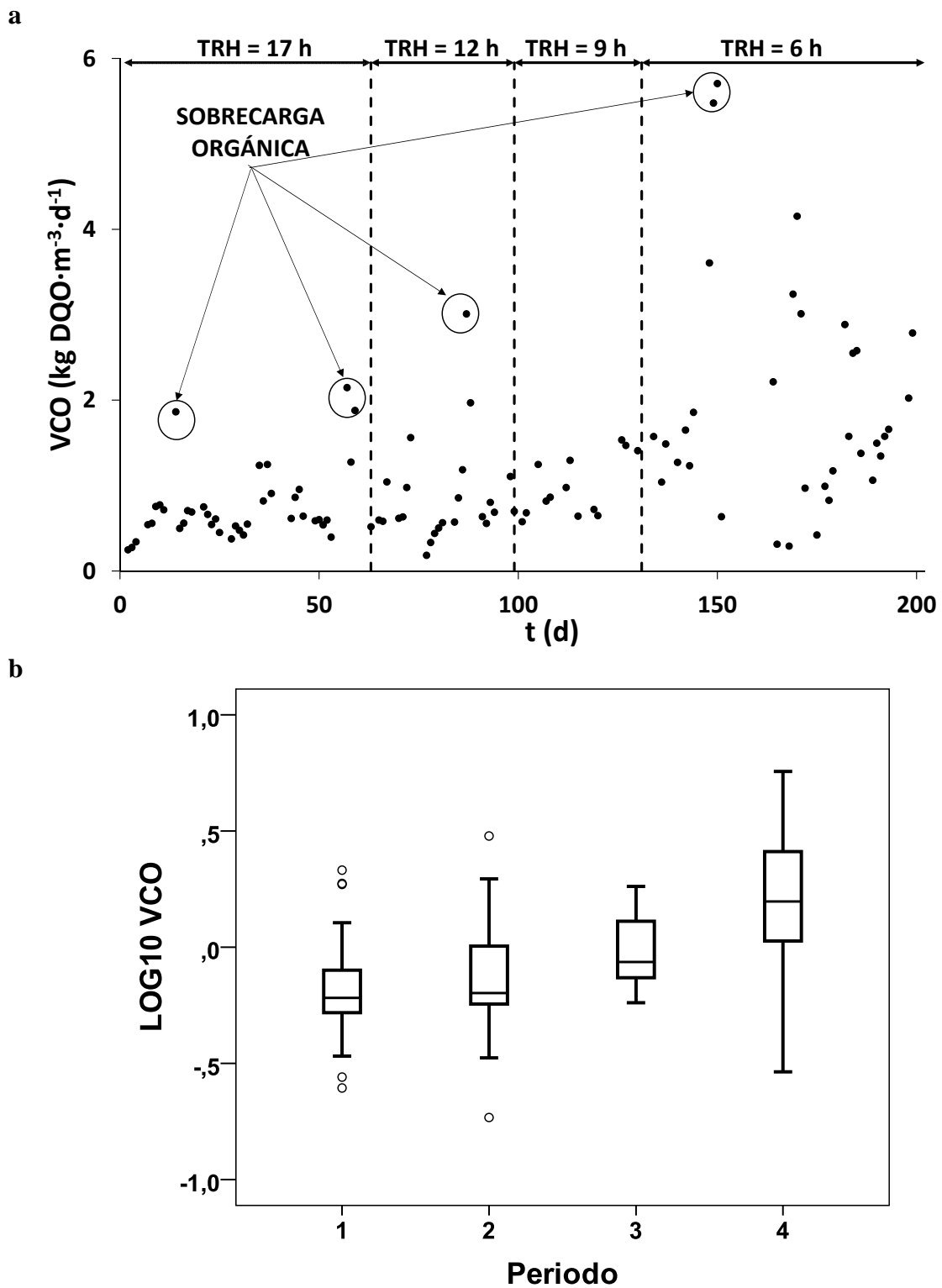


Figura 37. Evolución de la VCO (a). Diagramas de caja y bigotes de los logaritmos de la VCO (b).

4.4.1 Influencia del TRH sobre la eliminación de DQO.

En este apartado se evalúa el funcionamiento del sistema, en términos de eficiencia de eliminación de DQO, a los diferentes TRH estudiados. Para ello se comparan los % de eliminación de DQO obtenidos a cada TRH, y se analizan las posibles diferencias.

La Figura 38 muestra la evolución de la concentración de DQO_T en el afluente y la DQO residual del efluente del sistema, y el % de eliminación de DQO durante los diferentes periodos considerados para el estudio de la influencia del TRH sobre el funcionamiento del proceso.

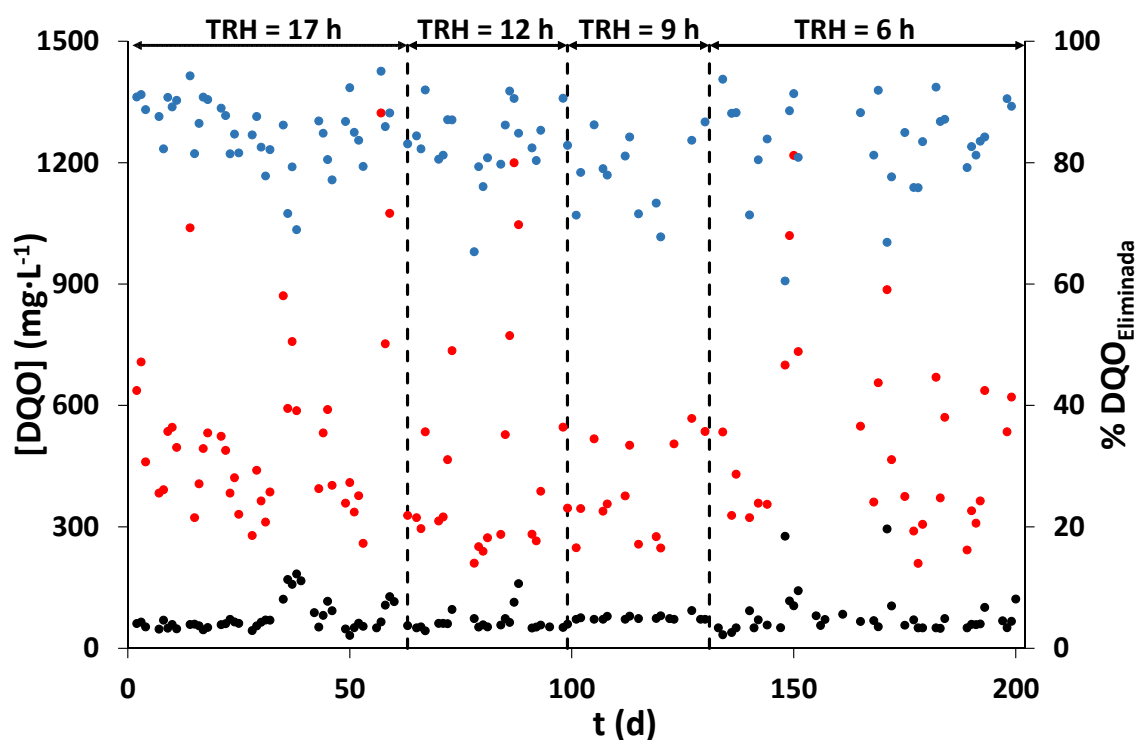


Figura 38. Evolución de la concentración de DQO_T afluente (●), DQO residual efluente (●), y del % de DQO eliminada (●).

En la Tabla 26 se presentan los estadísticos que resumen la concentración de DQO residual en el efluente del sistema en los periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados para cada uno de los 4 periodos considerados.

<i>Período</i>	<i>[DQO]_{Efluente}^{Residual} (mg·L⁻¹)</i>	
	<i>Media</i>	<i>± Desv. típica</i>
P1	49,5	± 10,0
P2	54,0	± 3,7
P3	76,0	± 6,8
P4	55,4	± 8,6

Tabla 26. Concentración de DQO residual en el efluente.

El análisis de la varianza permitió rechazar la hipótesis de igualdad de las medias de la DQO residual en el efluente durante los diferentes periodos (P-Valor = 0,000). El análisis *post-hoc* de Bonferroni puso de manifiesto la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los periodos 1, 2 y 4, mientras que la media del periodo 3 fue diferente a la del resto de periodos.

A la vista de los datos mostrados en la Tabla 26, la DQO residual efluente durante el periodo 3, fue significativamente superior que en el resto de periodos. Sin embargo, esta diferencia no se debió al deterioro del proceso biológico, dado que no se observó acumulación de productos intermedios, sino que se atribuyó a un incremento de la fracción soluble no biodegradable, indicando la menor biodegradabilidad de la componente doméstica del ARU que resultó ser la mayoritaria durante el periodo 3.

La Tabla 27 muestra el % de DQO eliminada en el sistema en cada uno de los períodos *pseudo-estacionarios* seleccionados, para los diferentes períodos considerados.

<i>Período</i>	<i>% DQO Eliminada</i>		
	<i>Media</i>	<i>±</i>	<i>Desv. típica</i>
P1	84,1	±	4,7
P2	84,3	±	3,9
P3	77,9	±	4,7
P4	84,4	±	3,6

Tabla 27. % de DQO eliminada.

El análisis de la varianza del % de DQO eliminada permitió rechazar la hipótesis de igualdad de medias para los diferentes periodos considerados (P-Valor = 0,030). Del mismo modo que para la DQO residual efluente, el análisis *post-hoc* de Bonferroni para el % de eliminación de DQO puso de manifiesto la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre las

medias de los periodos 1, 2 y 4, mientras que la media del periodo 3 fue distinta de la del resto de periodos. Los datos mostrados en la tabla indican que el % de eliminación de DQO durante el periodo 3 resultó ser inferior que durante el resto de periodos, debido a la mayor DQO residual efluente durante dicho periodo.

Sin embargo, la comparación de los periodos 1 y 4, en los que la composición del ARU afluente fue similar, puso de manifiesto la ausencia de diferencias estadísticamente significativas entre las medias de la DQO residual efluente (P-Valor = 0,252), y del % de eliminación de DQO (P-Valor = 0,866), demostrando que el TRH no influyó sobre la eficiencia de eliminación de DQO en el rango de valores estudiado.

Por otra parte, en la Figura 38 se aprecian incrementos en la concentración de DQO residual en el efluente que se reflejaron en un descenso del % de DQO eliminada. Carrhá Leitao y otros (2006) revisaron los efectos de las perturbaciones operacionales y ambientales más comunes en sistemas anaerobios de tratamiento de aguas residuales. Los resultados obtenidos indicaron que una posible respuesta de un reactor anaerobio sometido a una sobrecarga hidráulica u orgánica, podía ser la acumulación de productos intermedios (AGV), como consecuencia del desequilibrio entre los diferentes grupos tróficos que llevan a cabo la degradación anaerobia de la materia orgánica. Por su parte, Borja y Banks (1995) estudiaron la respuesta de un reactor anaerobio de lecho fluidizado tras someter el sistema a una sobrecarga orgánica (tanto al incrementar el caudal de tratamiento como la concentración de DQO afluente en 100 y 150 % de los valores iniciales), durante 6 y 12 horas. En ambos casos experimentaron un rápido incremento en la concentración de AGV, indicando una sobrecarga de la fase metanogénica. Sin embargo, la concentración de AGV volvió a su valor original tras un periodo de entre 6 y 14 horas. Así pues, una fuerte variación, tanto en el caudal de tratamiento como en la concentración de DQO, podría tener efectos adversos sobre el funcionamiento del sistema, en términos de eficiencia de eliminación de DQO.

Efectivamente, en la Figura 39 se observa que los incrementos observados en la concentración de DQO residual del efluente, coincidieron con la presencia de AGV.

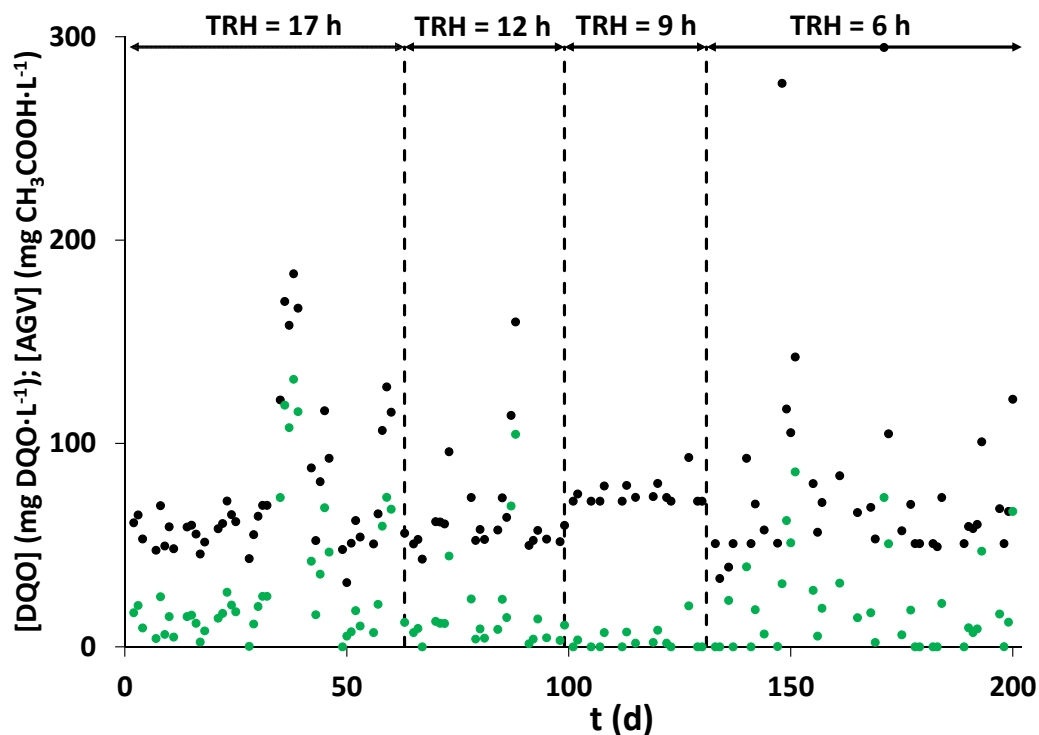


Figura 39. Evolución de la Concentración de DQO residual (●) y de los AGV (●) en el efluente.

En esta figura se observa que la acumulación de AGV en el sistema cesó tras desaparecer la perturbación que la había ocasionado, reduciéndose la concentración de DQO en el efluente. Sin embargo, la presencia de AGV en el efluente únicamente se detectó coincidiendo con valores elevados de la VCO provocados por el incremento de la concentración de DQO en el afluente y no al reducirse el TRH, sugiriendo que el funcionamiento del proceso biológico se vio afectado por sobrecargas orgánicas, pero no por sobrecargas hidráulicas, en el rango de TRH estudiado.

4.4.2 Influencia del TRH sobre la producción de fangos.

Tal y cómo se ha puesto de manifiesto en el apartado 4.1.2, existe una buena correlación entre la DQO_T y los SV en el licor mezcla. De este modo, la producción de fangos en términos de SV será proporcional a la producción de fangos en términos de DQO (según se ha descrito en el apartado 3.5.3). Esta relación resulta interesante, dado que los SV se analizaron con mayor frecuencia que la DQO_T .

La Figura 40 muestra la evolución de la concentración de ST y del % de SV en el interior del sistema. La concentración de ST se incrementó paulatinamente a medida que se redujo el TRH, debido a la mayor VCO, mientras que el % de SV se mantuvo constante a lo largo de los diferentes períodos, observándose un ligero aumento al final del cuarto período como consecuencia de una ligera disminución de la temperatura de operación.

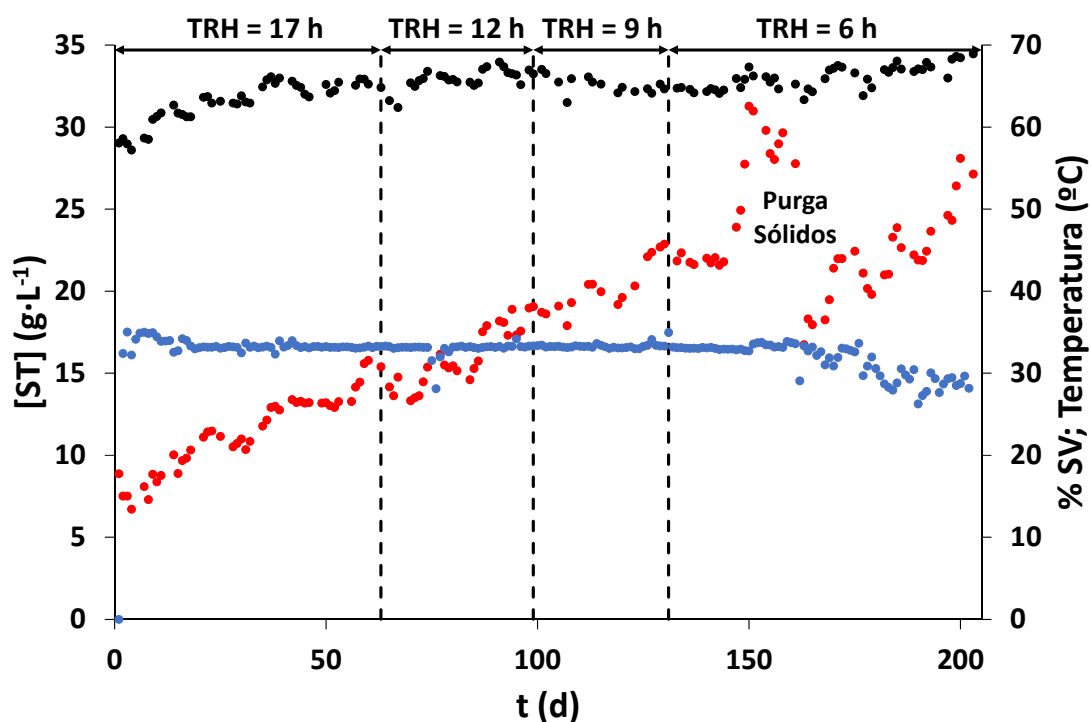


Figura 40. Evolución de la concentración de ST (●), del % de SV (●) y de la temperatura (●).

La disminución del TRH por debajo de 5 horas, junto con una punta de carga alrededor del día 144, incrementó la concentración de ST en el interior del reactor hasta un valor cercano a $31 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$. La elevada concentración de ST en el sistema ocasionó la operación de las membranas bajo condiciones supra-críticas, confirmando la proximidad al TRH mínimo que limitaría el proceso físico a TRC de 70 días y temperatura de $33 \text{ }^\circ\text{C}$. A partir del día 161, se observa una bajada considerable en la concentración de ST en el reactor anaerobio, a causa de una purga de sólidos realizada para recuperar la operatividad de las membranas.

De forma general, la cantidad de SV purgados del sistema se incrementó a medida que se incrementó la concentración de ST en el reactor, dado que el % de SV apenas varió durante los 4 períodos experimentales considerados. Por otra parte, la elevada variabilidad diaria en la

concentración de DQO_T afluente provocó una elevada variabilidad en el valor putual de la producción de fangos por unidad de DQO eliminada, por lo que se decidió realizar el cálculo de la producción de fangos como el cociente entre la suma de los SV purgados y la DQO_T eliminada durante los periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados. La Tabla 28 presenta los valores de la producción de fangos en los diferentes periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados.

<i>Período</i>	<i>Producción de fangos</i>
P1	0,201
P2	0,262
P3	0,278
P4	0,203

Tabla 28. Producción de fangos ($\text{kg SV}_{\text{Purgados}} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DQO}_{\text{Eliminada}}$).

Los resultados obtenidos indican que la producción de fangos por unidad de DQO eliminada no estuvo influenciada por el TRH, dado que fue muy similar durante los periodos de menor y mayor TRH. Sin embargo, la producción de fangos sí estuvo relacionada con la composición del afluente. En concreto, tal y como se observa en la Tabla 28, la mayor producción de fangos se correspondió con la época estival (periodo 3), donde la componente predominante fue la doméstica, cuya biodegradabilidad resultó ser menor que la del ARU tal y como se verá en el apartado 4.7.1, y no se observaron puntas de carga orgánica.

En la Figura 41 se ha representado la DQO de los SSV en el afluente y la concentración de DQO suspendida. Dado que, como se ha visto en el apartado 4.1, las puntas de carga contribuyeron a incrementar principalmente la fracción particulada, se ha tomado como criterio para considerar que se produjo una punta de carga, que la concentración de DQO suspendida en el afluente fuese superior a 1,5 veces la concentración media para todo el periodo experimental ($735,7 \text{ mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$).

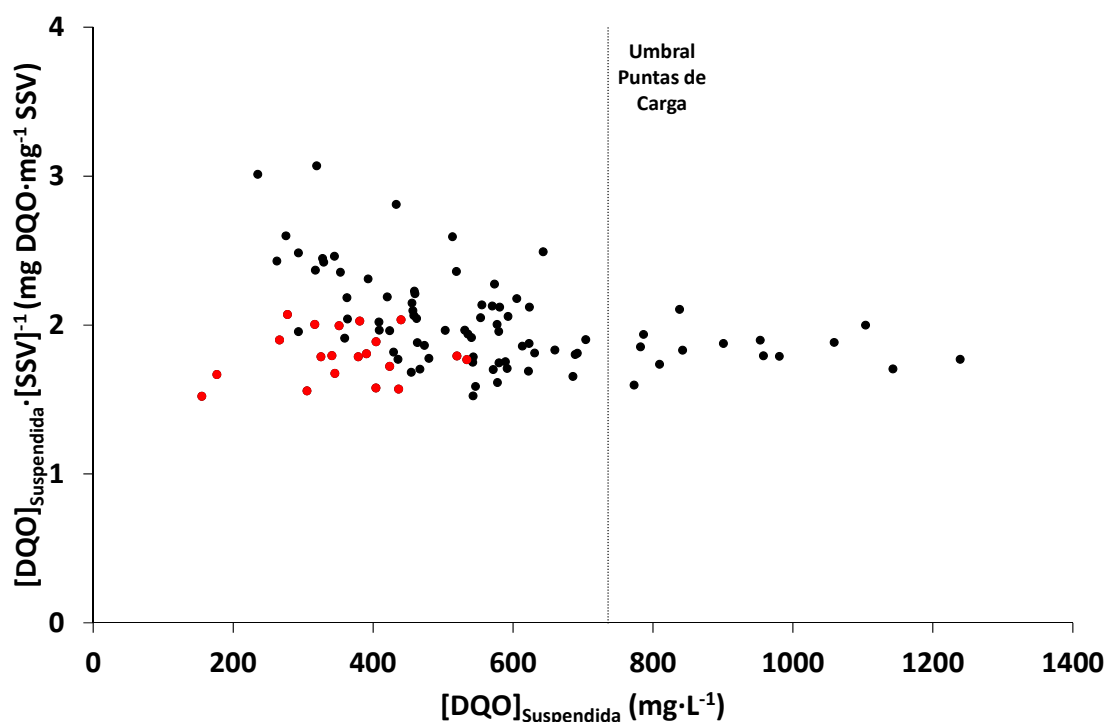


Figura 41 Relación entre la concentración de DQO suspendida y la DQO de los SSV durante los diferentes periodos estudiados (●), y durante la época estival, lunes y martes (●).

En la Figura 41 es posible observar que la DQO de los SSV se mantuvo en valores reducidos cuando hubo puntas de carga (y presentó menor variabilidad), que cuando la concentración de DQO suspendida del afluente fue baja, indicando la diferente composición de las puntas de carga con respecto a la composición media del ARU afluente. También se han resaltado los puntos correspondientes a la época estival, o a los días en los que el análisis se realizó en lunes o martes cuando, por proximidad al fin de semana, tuvieron una mayor componente doméstica que los días centrales de la semana. La menor componente industrial y la ausencia de puntas de carga orgánica se reflejó en una disminución tanto de la concentración de DQO suspendida, como de la variabilidad de la relación $DQO_{Suspendida}/SSV$ en el afluente, indicando la diferente composición de la componente doméstica del ARU con respecto a la componente industrial. En la Tabla 29 se presentan los valores promedio de la DQO de los SSV del afluente, tanto cuando hubo puntas de carga como cuando no las hubo, y durante el periodo estival, lunes y martes.

<i>ARU</i>	<i>DQO_{Suspendida}/SSV</i> <i>(mg DQO·mg⁻¹ SSV)</i>
	<i>Media ± Desv. Típica</i>
Con puntas de carga	1,84 ± 0,13
Sin puntas de carga	2,00 ± 0,32
Periodo estival	1,83 ± 0,19

Tabla 29. DQO de los SSV del ARU.

Los resultados mostrados indican que la relación $DQO_{Suspendida}/SSV$ fue mayor en la componente industrial del ARU que en la doméstica. De este modo, la variabilidad en la relación $DQO_{Suspendida}/SSV$ del ARU resultante se debió a la mezcla en diferentes proporciones de dichas componentes. La menor relación $DQO_{Suspendida}/SSV$ durante el periodo estival, promovió una mayor acumulación de SSV por unidad de DQO eliminada, lo que justificaría el incremento experimentado por la producción de fangos durante este periodo, ya que el cálculo se ha realizado en base a la DQO eliminada. Además, tal y cómo se comprobará posteriormente en el apartado 4.7, la biodegradabilidad del ARU durante la época estival, con una componente mayoritariamente doméstica, resultó ser menor que la biodegradabilidad del ARU durante el resto del año, cuando estuvo compuesta por la mezcla, en diferentes proporciones, de las componentes doméstica e industrial, contribuyendo a incrementar la producción de fangos por unidad de DQO eliminada.

4.4.3 Influencia del TRH sobre la producción de metano.

Anteriormente, se ha expuesto que la VCO se mantuvo prácticamente constante durante los tres primeros periodos (ver Figura 37 y/o Tabla 25) debido a que, a pesar del incremento del caudal de tratamiento, la concentración de DQO_T afluente se redujo como consecuencia de la llegada de la época estival (ver Tabla 24). Sin embargo, la concentración de $S-SO_4$ afluente se mantuvo prácticamente constante, tal y cómo muestra la Tabla 30.

<i>Período</i>	<i>Media ± Desv. Típica</i>	<i>; (Q₁ - Q₃)</i>	<i>Rango</i>
P1	101,9 ± 9,7	; (97,7 - 108,8)	34,7
P2	98,2 ± 6,0	; (94,6 - 101,3)	24,1
P3	96,6 ± 10,4	; (88,2 - 104,3)	28,6
P4	102,0 ± 15,1	; (89,7 - 114,2)	53,7

Tabla 30. Concentración de $S-SO_4$ ($mg \cdot L^{-1}$) en el afluente.

El análisis de la varianza de la concentración de S-SO₄, puso de manifiesto la ausencia de diferencias significativas entre la concentración media de S-SO₄ durante los diferentes períodos considerados (P-Valor = 0,093), que se mantuvo estable alrededor de 100 mg S-SO₄·L⁻¹. Así pues, la carga de S-SO₄ afluente se incrementó a medida que se redujo el TRH, tal y como se observa en la Tabla 31.

<i>Período</i>	<i>Media</i> ± <i>Desv. Típica</i>	<i>;</i> (<i>Q₁</i> - <i>Q₃</i>)	<i>Rango</i>
P1	0,237 ± 0,025	<i>;</i> (0,221 - 0,256)	0,105
P2	0,283 ± 0,035	<i>;</i> (0,268 - 0,304)	0,146
P3	0,346 ± 0,051	<i>;</i> (0,328 - 0,380)	0,183
P4	0,671 ± 0,099	<i>;</i> (0,578 - 0,762)	0,275

Tabla 31 Estadísticos descriptivos de la carga de S-SO₄ (Kg·d⁻¹).

En la Tabla 32 se observa que la relación DQO_T/S-SO₄ en el afluente durante los períodos 2 y 3 resultó ser inferior que durante los periodos 1 y 4, debido a la disminución de la concentración de DQO_T afluente.

<i>Período</i>	<i>[DQO]_T</i> (<i>mg DQO</i> · <i>L</i> ⁻¹)	<i>DQO_T/S-SO₄ (kg DQO</i> · <i>kg</i> ⁻¹ <i>S-SO₄)</i>			
		<i>Media</i> ^a	- <i>Desv. Típica</i> ^a	<i>;</i> (<i>Q₁</i> - <i>Q₃</i>)	<i>Rango</i>
P1	483,2	4,78	- 1,47	<i>;</i> (3,44 - 7,98)	11,0
P2	403,2	4,34	- 1,74	<i>;</i> (2,82 - 6,31)	10,7
P3	385,7	3,64	- 1,18	<i>;</i> (2,89 - 4,04)	4,8
P4	473,2	4,66	- 1,63	<i>;</i> (2,30 - 8,36)	13,7

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 32. Estadísticos de la relación DQO_T/S-SO₄ afluente.

Especialmente, durante el periodo 3, la relación DQO_T/S-SO₄ en el afluente fue más baja y presentó menor dispersión que en el resto de periodos, debido a las características que presentó el ARU afluente durante el periodo estival. Además, en la Figura 42 se muestran las concentraciones de DQO_T y de sulfato en el afluente, junto con su cociente. En esta figura es posible observar que la elevada variabilidad de la relación DQO_T/S-SO₄ en el afluente estuvo ligada a la variabilidad de la concentración de DQO_T afluente.

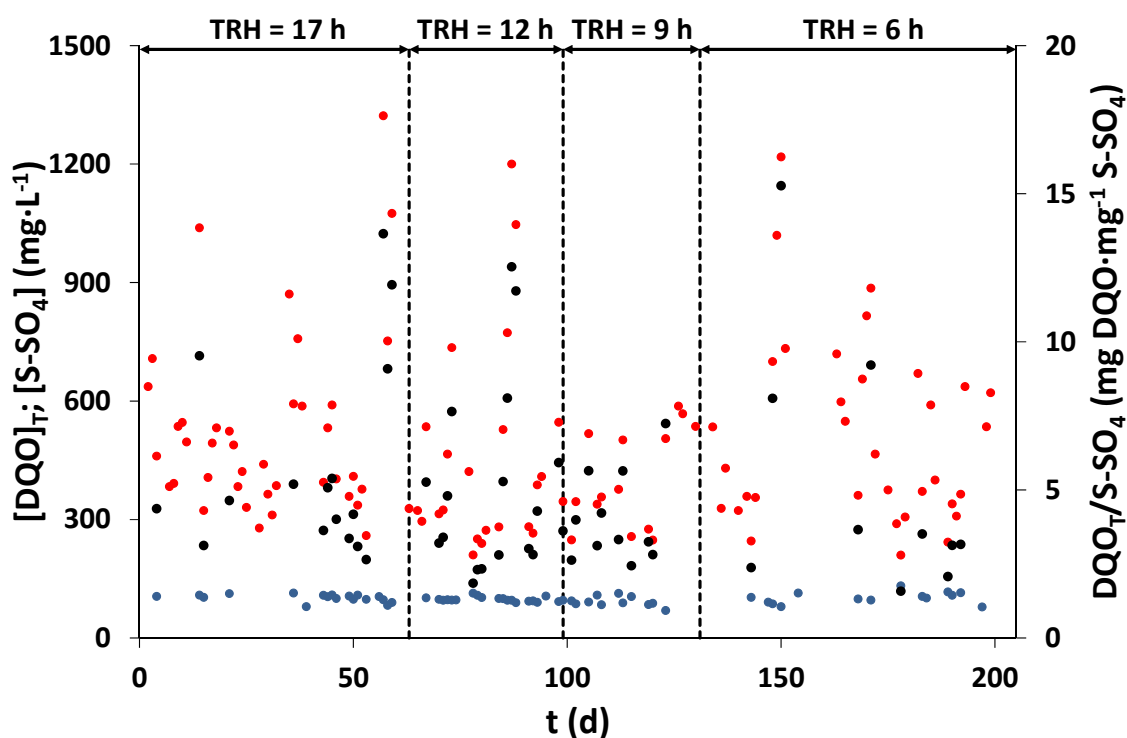


Figura 42 Concentración de DQO_T (●) y $S-SO_4$ (●), y relación $DQO_T/S-SO_4$ (●) en el afluente.

Tal y como se ha expuesto en el apartado 1.5.2, la competición por los diferentes sustratos comunes entre los organismos que llevan a cabo la degradación metanogénica y sulfurogénica de la materia orgánica, se hace más importante a medida que disminuye la relación $DQO_T/S-SO_4$. El resultado de la competición entre organismos sulfatorreductores, y organismos acetogénicos productores obligados de hidrógeno, metanogénicos hidrogenotróficos y homoacetogénicos es claro: mientras exista sulfato presente en el medio, los organismos sulfatorreductores aventajarán al resto de grupos en la competición por los sustratos comunes, dado que presentan mejores características cinéticas y termodinámicas. Sin embargo, el resultado de la competición por el acetato en reactores con retención de la biomasa, y en concreto en bioreactores anaerobios de membranas no está completamente claro, incluso bajo condiciones de exceso de sulfato, y depende de diferentes factores que han sido expuestos en el apartado 1.5.2.4 (i.e., concentración de sulfato y de hierro, propiedades de inmovilización, pH y temperatura).

Si, como es el caso en el presente estudio, el sulfato es limitante ($DQO_T/S-SO_4 > 2 \text{ mg DQO} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ S}$), los organismos sulfatorreductores con diferentes

metabolismos competirán entre sí por el sulfato disponible, consumiendo preferentemente el hidrógeno, el lactato y el etanol, antes que el propionato o el acetato. Sin embargo, si los compuestos intermedios de la fermentación son consumidos completamente antes de que se consuma el sulfato, entrarán en juego los factores enumerados anteriormente en el apartado 1.5.2.4, que desempeñarán un papel fundamental en la competición entre organismos metanogénicos y sulfatorreductores acetoclásticos por los sustratos comunes. La DQO restante tras consumir el sulfato completamente, se oxidará exclusivamente vía metanogénesis.

La Figura 43 muestra la concentración de sulfato en las corrientes afluente y efluente del sistema de tratamiento, así como el % de eliminación de sulfato. En esta figura es posible observar que, independientemente del resultado de esta competición, la eliminación de sulfato durante los 3 primeros periodos considerados estuvo próxima al 100 %.

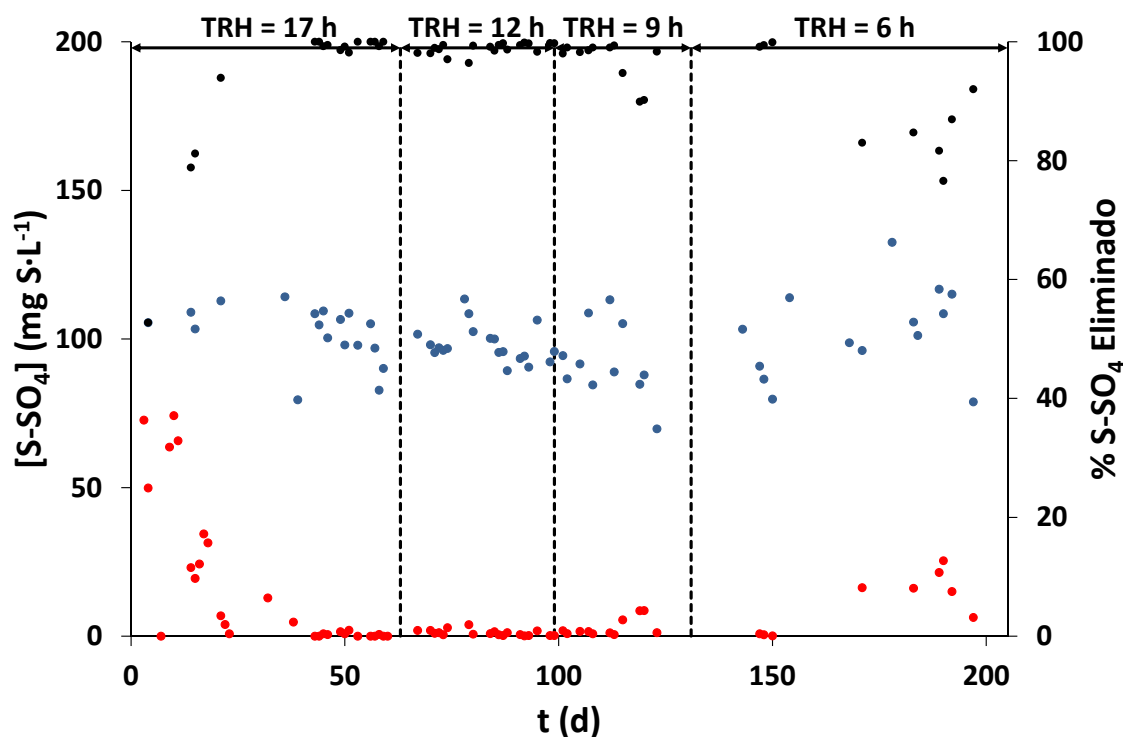


Figura 43 Concentración de sulfato en el afluente (●) y efluente (●) del sistema de tratamiento, y % de eliminación de sulfato (●).

Durante el cuarto período, la carga de sulfato afluente al sistema prácticamente se duplicó con respecto al período anterior (ver Tabla 31). Probablemente, los organismos sulfatorreductores no fueron inicialmente capaces de reducir todo el sulfato introducido, pero

tal y como sucedió durante la puesta en marcha, fueron capaces de adaptarse rápidamente a la nueva situación, llegando a reducir prácticamente todo el sulfato hacia el final del período.

La eliminación prácticamente completa de sulfato sugirió que: i) la concentración de sulfato fue lo suficientemente baja como para que se agotase antes de consumir completamente los compuestos intermedios de la fermentación, sin que se llegara a dar la competición por el acetato, o ii) que los organismos metanogénicos acetoclásticos no fueron capaces de aventajar a los organismos sulfatorreductores acetoclásticos en la competición por el acetato, dado que de lo contrario, la eliminación de sulfato no hubiese sido completa.

Dada la elevada variabilidad de la relación $DQO_T/S-SO_4$, resulta bastante probable que tuviese lugar la competición entre organismos metanogénicos y sulfatorreductores acetoclásticos, y que los organismos sulfatorreductores aventajaran a los que llevan a cabo la degradación metanogénica en cualquiera de las etapas de la misma. En cualquier caso, el agotamiento total del sulfato en el sistema puso de manifiesto la clara ventaja competitiva de los organismos sulfatorreductores, frente a los que llevan a cabo la degradación metanogénica de la materia orgánica, mientras hubo sulfato presente. Tras consumirse el sulfato, la DQO restante estuvo disponible para ser degradada exclusivamente vía metanogénesis.

Realmente, únicamente la fracción biodegradable de la materia orgánica puede ser transformada en los productos finales de la degradación anaerobia, por lo que en adelante se asumirá que la DQO disponible para ser degradada vía metanogénesis será proporcional a la DQO restante tras consumir el sulfato, y que el factor de proporcionalidad dependerá de la biodegradabilidad del ARU. Además, no hay que olvidar que para que la materia orgánica biodegradable pueda ser degradada hasta los productos finales de la degradación anaerobia, debe sufrir una serie de transformaciones (i.e., desintegración e hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis), cuya extensión depende de las condiciones operacionales fijadas, por lo que cabe diferenciar entre la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis, y la carga orgánica realmente degradada por los organismos metanogénicos para dar lugar a la formación de metano.

La producción de metano vendrá dada por la DQO degradada por los organismos metanogénicos, que cómo se ha expuesto en los párrafos anteriores, será función de la carga

orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis y de las condiciones operacionales fijadas en cada periodo. A su vez, la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis dependerá de la carga orgánica total, y de la relación $DQO_T/S-SO_4$ del afluente. A efectos prácticos, se considerará que la biodegradabilidad anaerobia del ARU no varió significativamente, a excepción de los periodos estivales en los que, como se ha comentado en el apartado 4.4.2, la biodegradabilidad fue más baja debido a la composición predominantemente doméstica del ARU.

En la Tabla 33 se muestra la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis junto con la VCO y la relación $DQO_T/S-SO_4$ del afluente. En esta tabla es posible observar que, a pesar de que la VCO se incrementó al reducir el TRH desde 17 hasta 9 horas entre los periodos 1 y 3 (ver Tabla 23), la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis no siguió la misma tendencia, debido a la menor relación $DQO_T/S-SO_4$ afluente. Posteriormente, en el 4º periodo, la disminución del TRH y el incremento de la relación $DQO_T/S-SO_4$ afluente incrementaron la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis.

<i>Periodo</i>	<i>VCO</i> (kg $DQO \cdot m^{-3} \cdot d^{-1}$)	<i>DQO_T/S-SO₄</i> (kg $DQO \cdot kg^{-1} S-SO_4$)	<i>Carga Orgánica metanogénesis (kg $DQO \cdot d^{-1}$)</i>			
			<i>Media^a</i>	<i>- Desv. Típica^a</i>	<i>; (Q₁ - Q₃)</i>	<i>Rango</i>
P1	0,658	4,78	0,66	- 2,37	; (0,36 - 1,48)	2,57
P2	0,736	4,34	0,59	- 2,74	; (0,29 - 1,20)	3,66
P3	0,980	3,64	0,51	- 1,83	; (0,32 - 0,82)	1,04
P4	1,535	4,66	1,78	- 2,83	; (1,06 - 4,02)	6,97

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 33. Carga orgánica disponible para organismos metanogénicos y relación $DQO_T/S-SO_4$.

La Figura 44 muestra la evolución de la producción total de metano (biogás y disuelto) y la actividad metanogénica real (AMR), definida como la producción diaria de metano por kg de SV en el interior del reactor, durante los 4 periodos experimentales considerados.

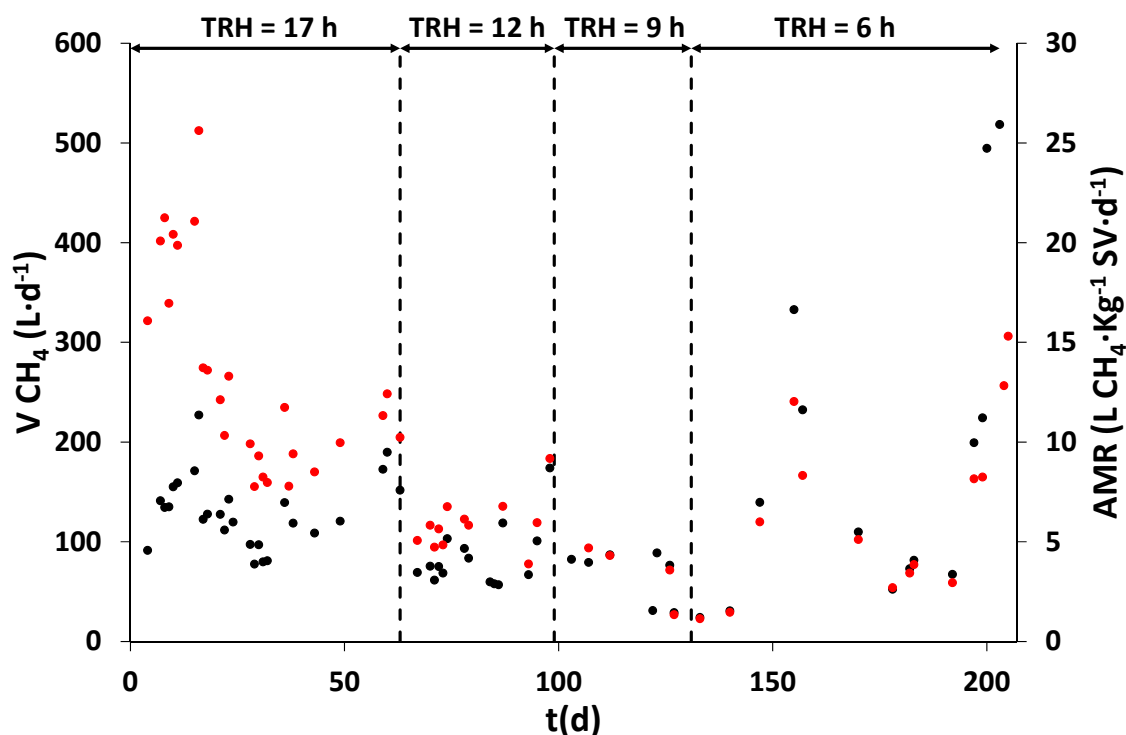


Figura 44. Evolución de la producción de CH_4 (●) y de la AMR (●).

Además, la Tabla 34 muestra los estadísticos descriptivos de la producción de metano y de la AMR durante los diferentes periodos considerados.

<i>Parámetro</i>	<i>Periodo</i>	<i>Media</i>	\pm	<i>Desv. Típica</i>
<i>Producción de CH_4 ($\text{L CH}_4\text{d}^{-1}$)</i>	P1	118,0	\pm	36,0
	P2	114,0	\pm	44,7
	P3	70,9	\pm	27,1
	P4	274,1	\pm	78,7
<i>AMR ($\text{L CH}_4\text{kg}^{-1}\text{SV}\cdot\text{d}^{-1}$)</i>	P1	9,6	\pm	1,5
	P2	6,5	\pm	2,2
	P3	4,2	\pm	0,6
	P4	9,9	\pm	2,3

Tabla 34. Producción de metano y AMR.

En la Figura 44 es posible observar que la producción de metano disminuyó durante los 3 primeros periodos, y se incrementó en el cuarto periodo. La tendencia exhibida concuerda con la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis mostrada en la Tabla 33. Al comparar la producción de metano en los periodos primero y cuarto, en los que las características del afluente fueron muy similares (ver Tabla 24 y Tabla 32), es posible

comprobar que el TRH influyó sobre la producción de metano al modificar la carga orgánica disponible para los organismos metanogénicos.

Por otra parte, la AMR se redujo progresivamente durante los 3 primeros periodos, debido a la menor carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis y al incremento de los sólidos volátiles en el interior del sistema. Durante el cuarto periodo, los sólidos volátiles siguieron incrementándose, sin embargo, la mayor producción de metano dio lugar a un valor de la AMR cercano al obtenido durante el primer periodo, por lo que se puede asumir que el crecimiento de los organismos metanogénicos durante el segundo y tercer periodo estuvo limitado por la disponibilidad de sustrato. Adicionalmente, la similitud entre los valores de la AMR en los periodos primero y cuarto, donde las características del afluente fueron similares, indicó que el TRH no ejerció ninguna influencia sobre la AMR del fango.

Con la finalidad de evaluar la capacidad de recuperar la DQO transformada en metano, se ha definido en el apartado 3.5.3 la eficiencia de recuperación del metano producido con el biogás (Ecuación 32), como el cociente entre la DQO recuperada y la DQO potencialmente valorizable (i.e., recuperada + disuelta en el efluente). Si tenemos en cuenta que la DQO potencialmente valorizable está compuesta principalmente por el metano producido, podemos expresarla según la Ecuación 65:

$$\eta_{Recuperación}^{DQO} = \eta_{Recuperación CH_4} = \frac{V_{CH_4}^{Biogás}}{V_{CH_4}^{Total}} \quad \text{Ecuación 65}$$

O lo que es lo mismo:

$$\eta_{Recuperación CH_4} = \frac{\frac{Q^{BG}}{Q^{Tratamiento}}}{\frac{Q^{BG}}{Q^{Tratamiento}} + \frac{R \cdot T \cdot M^W}{H(T) - P \cdot \gamma^{CH_4}}} \quad \text{Ecuación 66}$$

Donde:

- Q^{BG} : Caudal volumétrico de biogás ($L \cdot d^{-1}$).
- $Q^{Permeado}$: Caudal volumétrico de permeado ($L \cdot d^{-1}$).
- R : Constante universal de los gases ($0,082 \text{ atm} \cdot L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot K^{-1}$).

- $H(T)$: Constante de Henry dependiente de la temperatura.
- M^W : Molaridad del agua ($55,55 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$)
- y^{CH_4} : Fracción molar de metano en el biogás.

La Figura 45 muestra la relación teórica existente entre la eficiencia de recuperación de metano y los caudales de tratamiento y biogás, suponiendo una fracción de metano en el biogás del 50 %. En esta figura se observa que la eficiencia de recuperación de metano se incrementa al incrementarse la producción de biogás por litro de ARU tratada ($Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$), debido a que una menor proporción del metano producido se escapará con el efluente.

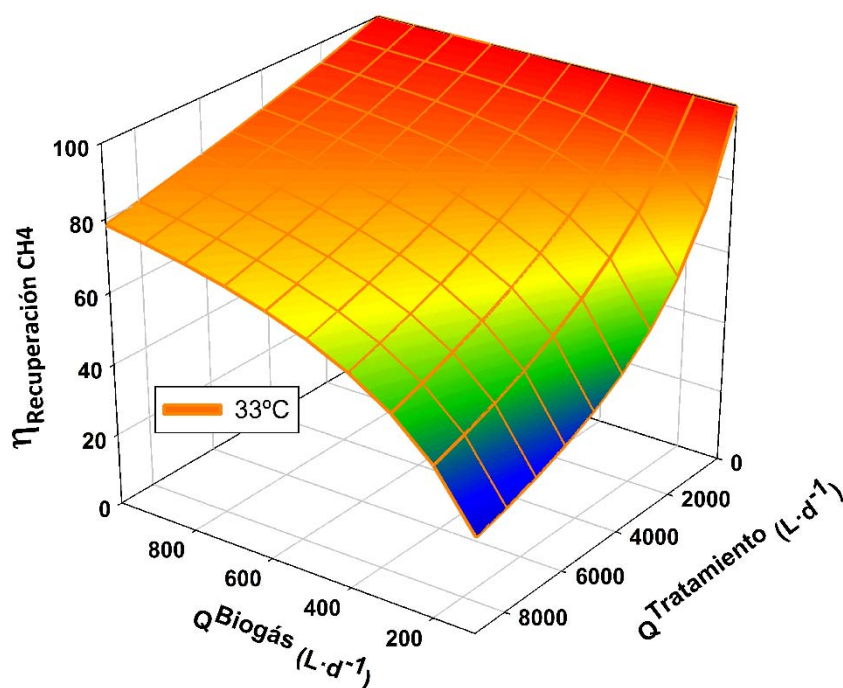


Figura 45. Relación teórica entre la eficiencia de recuperación de metano con el biogás y los caudales de permeado y biogás a 33°C.

Anteriormente se ha expuesto que la producción de metano (y la de biogás) es función de las condiciones operacionales fijadas en cada periodo y de la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis, que a su vez depende de la carga orgánica total y de la relación $DQO_T/S-SO_4$ afluente.

La Figura 46 muestra la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ y la evolución de la eficiencia de recuperación de metano durante los diferentes periodos considerados. Durante los 4 periodos considerados, el TRC y la T se mantuvieron constantes, por lo que la variación de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ y de la eficiencia de recuperación de metano dependió de la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis. La fracción molar de metano en el biogás no ejerció una gran influencia sobre la eficiencia de recuperación de metano, dado que una variación de la misma provocaría un cambio proporcional en la fracción molar de metano disuelto, de modo que las cantidades de metano recuperado con el biogás y disuelto en el efluente variarían de forma proporcional.

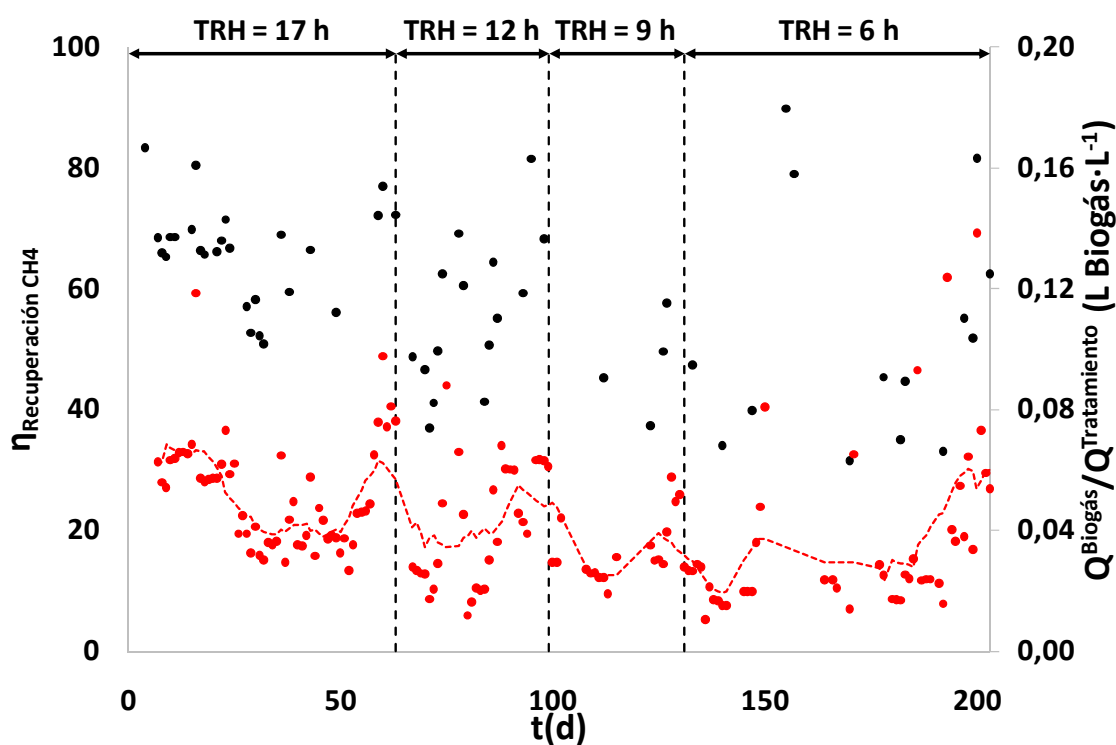


Figura 46. Evolución de la eficiencia de recuperación de metano (●) y de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ (●). Media móvil para la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ (---).

En la Tabla 35 se presentan los estadísticos descriptivos de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ y de la eficiencia de recuperación de metano para los diferentes periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados.

<i>Parámetro</i>	<i>Periodo</i>	<i>Media</i>	\pm	<i>Desv. Típica</i>
$Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ (L Biogás·L ⁻¹)	P1	0,068	\pm	0,018
	P2	0,055	\pm	0,011
	P3	0,023	\pm	0,016
	P4	0,067	\pm	0,033
η^{CH_4} <i>Recuperación</i>	P1	67,4	\pm	7,4
	P2	60,9	\pm	6,7
	P3	36,7	\pm	12,6
	P4	64,2	\pm	12,0

Tabla 35. Eficiencia de recuperación de metano y relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{tratamiento}}$.

Durante los tres primeros períodos, la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis disminuyó, a pesar del incremento en la VCO, debido a la disminución de la relación $DQO_T/S-SO_4$ y de la biodegradabilidad del ARU (ver Tabla 33), ocasionando una disminución en la producción de biogás. Adicionalmente, el incremento del caudal de tratamiento contribuyó a disminuir la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$, por lo que la eficiencia de recuperación de metano también disminuyó. En el cuarto período, la producción de metano fue notablemente mayor que en el resto de períodos (ver Tabla 34), sin embargo el caudal de tratamiento también fue mayor, de modo que la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ resultó ser similar a la del primer periodo, por lo que la eficiencia de recuperación de metano fue también similar en ambos periodos. La similitud entre los resultados obtenidos para la eficiencia de recuperación de metano con el biogás en los periodos primero y cuarto, en los que las características del afluente y las condiciones operacionales fueron similares, indican que el TRH no tuvo, por sí mismo, una influencia significativa sobre dicho parámetro.

4.5 Influencia del TRC sobre el funcionamiento del sistema

En sistemas de tratamiento anaerobios, la reducida velocidad de crecimiento de los microorganismos involucrados en el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica hace necesario mantener un elevado TRC para evitar el lavado de la biomasa. Adicionalmente, en el apartado 1.4.6.2 se ha expuesto la necesidad de operar a temperatura ambiente para poder llevar a cabo el tratamiento anaerobio del ARU de una forma sostenible, lo que suele hacer necesario operar a TRC más elevados.

Entre los sistemas capaces de retener la biomasa, los bioreactores anaerobios de membrana resultan especialmente útiles en el tratamiento anaerobio de ARU a baja temperatura, dado que permiten retener completamente la fracción suspendida (incrementando el grado de hidrólisis y posterior degradación), y posibilitan un control óptimo del TRC, con la ventaja añadida de ofrecer un efluente de elevada calidad.

En este tipo de reactores, el TRC resulta un parámetro operacional muy importante dado que, además de influir sobre el funcionamiento del proceso biológico, también lo hace sobre el proceso físico de separación. En consecuencia, diferentes autores han abordado el estudio de la influencia del TRC sobre el funcionamiento de los bioreactores anaerobios de membranas. Baek y otros (2010) realizaron un estudio en un bioreactor anaerobio de membranas a escala de laboratorio en el que redujeron el TRC desde 213 hasta 40 días en 5 escalones consecutivos, concluyendo que el funcionamiento del sistema o el ensuciamiento de las membranas no estuvieron afectados significativamente por las variaciones inducidas sobre el TRC. Huang y otros (2011; 2013) estudiaron el efecto de la variación del TRC sobre el tratamiento anaerobio de ARU sintética y real. Estos autores no apreciaron diferencias significativas en el % de eliminación de DQO total (biológico + físico) entre los reactores operados a diferentes TRC, que atribuyeron a la excelente capacidad de retención de la membrana. Sin embargo, observaron un incremento en la producción de metano y la eliminación biológica de DQO al hacerlo el TRC, concluyendo que un mayor tiempo de permanencia de la materia orgánica suspendida en el interior del sistema indujo una mayor hidrólisis que favoreció a las etapas posteriores de acidogénesis y metanogénesis.

En este apartado se aborda la evaluación de la influencia del TRC sobre el funcionamiento de un biorreactor anaerobio, en términos de eliminación de DQO, producción de fangos, y producción de biogás y eficiencia de recuperación de metano. La Tabla 36 muestra los valores de los principales parámetros operacionales fijados durante los diferentes periodos experimentales en los que se sub-dividió el estudio de la influencia del TRC sobre el funcionamiento del sistema.

<i>Parámetro</i>	<i>Período</i>	<i>Mediana</i>	<i>(Q₁ - Q₃)</i>	<i>Rango</i>
TRH (h)	P5	24,5	(23,7 - 27,1)	29,5
	P9	11,8	(11,3 - 12,5)	18,7
	P10	11,9	(11,6 - 16,9)	13,1
TRC (d)	P5	69,2	(66,8 - 71,3)	27,2
	P9	29,5	(29,3 - 29,9)	5,8
	P10	39,6	(28,9 - 40,4)	13,5
T (°C)	P5	20,5	(20,2 - 21,3)	2,1
	P9	20,2	(19,8 - 20,4)	3,3
	P10	20,0	(19,6 - 20,6)	4,2

Tabla 36. Condiciones operacionales fijadas en cada período.

En la Tabla 37 se presentan los intervalos temporales que ocuparon cada uno de los diferentes períodos experimentales considerados en el estudio de la influencia del TRC sobre el funcionamiento del proceso.

<i>Período</i>	<i>tiempo (d)</i>
P5	210-458
P9	639-659
P10	660-707

Tabla 37. Intervalos temporales de cada período.

La Figura 47 muestra la evolución de los principales parámetros operacionales durante los diferentes periodos seleccionados para llevar a cabo el estudio de la influencia del TRC sobre el funcionamiento del proceso.

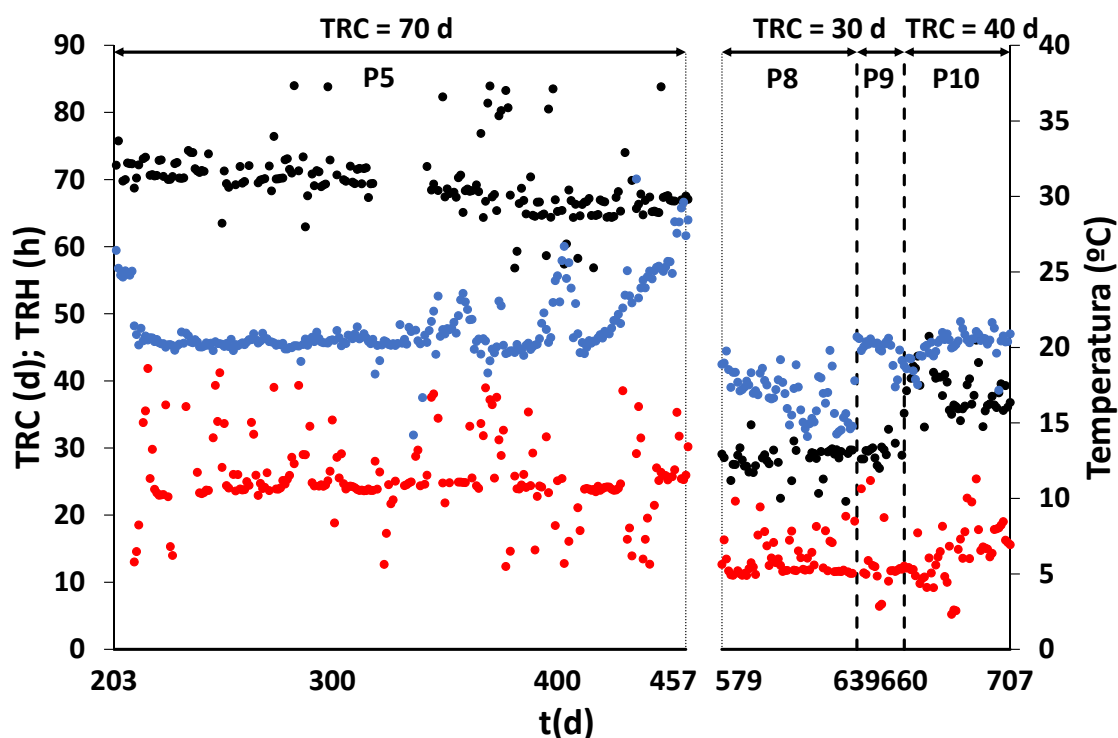


Figura 47. Evolución del TRC (●), TRH (●) y temperatura (●).

En la figura anterior se ha incluido el periodo 8 para justificar la corta duración del periodo 9, dado que la similitud de las condiciones operacionales en ambos periodos permitió alcanzar unas condiciones estables de forma rápida. Además, con la finalidad de comprobar que el ARU afluente tuvo características similares durante los periodos 8 y 9, también se ha incluido el periodo 8 en el resto de gráficos de este apartado.

Del mismo modo que para el resto de periodos, la concentración de la DQO_T afluente presentó una gran variabilidad durante los periodos considerados para el estudio de la influencia del TRC sobre el funcionamiento del proceso. En la Figura 48 se muestra la evolución de la concentración de DQO_T en el afluente (a), junto con el diagrama de caja y bigotes de sus logaritmos a modo de resumen gráfico (b), durante los diferentes periodos considerados.

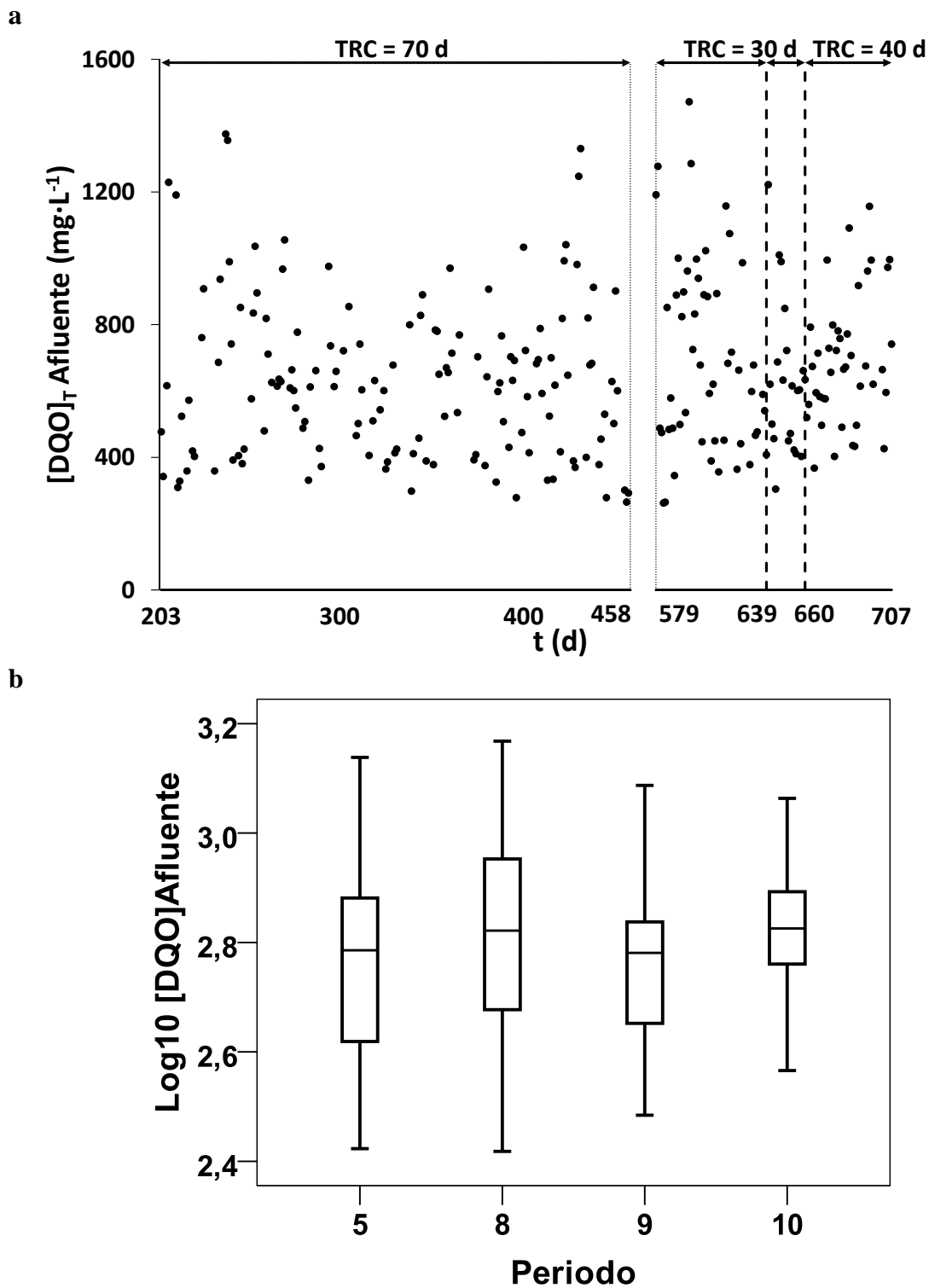


Figura 48. Concentración de DQO_T afluente (a). Diagramas de caja y bigotes de los logaritmos de la concentración de DQO_T afluente (b).

Además, en la Tabla 38 se presentan los estadísticos resumen de la concentración de DQO_T de la corriente afluente al sistema.

Período	Media^a - Desv. Típica^a	; (Q₁ - Q₃)	Rango
P5	582,0 - 1,458	; (416,0 - 762,3)	1110,0
P9	584,3 - 1,422	; (435,5 - 705,0)	917,0
P10	665,6 - 1,323	; (572,0 - 783,8)	789,0

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 38. Concentración de DQO_T afluente (mg·L⁻¹).

El análisis de la varianza puso de manifiesto la ausencia de diferencias significativas entre las medias de la concentración de DQO_T afluente en los diferentes periodos experimentales considerados (P-Valor = 0,093), aunque el análisis post-hoc de Bonferroni indicó una mayor similitud entre las medias de los periodos 5 (TRC = 70 días) y 9 (TRC = 30 días). La media del periodo 10 (TRC = 40 días) resultó algo mayor que en el resto de periodos.

De este modo, la velocidad de carga orgánica (VCO) introducida, dependió básicamente del caudal afluente en cada uno de los periodos. En la Figura 49 se muestra la evolución de la VCO (a), junto con el diagrama de caja y bigotes de sus logaritmos a modo de resumen gráfico (b), durante los diferentes periodos considerados. Del mismo modo que en la Figura 37, en la que se representa la variación de la VCO durante los periodos considerados para el estudio de la influencia del TRH sobre el funcionamiento del sistema, en la Figura 49 se han señalado las sobrecargas orgánicas puntuales ocasionadas por las puntas de carga afluente mencionadas en el apartado 4.1. Además, la Tabla 39 muestra los estadísticos resumen de la VCO durante los diferentes periodos considerados.

Período	Media^a - Desv. Típica^a	; (Q₁ - Q₃)	Rango
P5	0,520 - 1,727	; (0,379 - 0,719)	2,125
P9	0,920 - 2,037	; (0,587 - 1,423)	3,007
P10	1,217 - 1,557	; (0,866 - 1,653)	2,682

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 39. Estadísticos de la VCO (Kg DQO·m⁻³·d⁻¹).

El análisis de la varianza permitió rechazar la hipótesis de igualdad de la media de la VCO en los diferentes periodos experimentales considerados (P-Valor = 0,000). El análisis *post hoc* de Bonferroni indicó la ausencia de diferencias significativas entre los periodos 9 (TRC = 30 días) y 10 (TRC = 40 días), mientras que la media del periodo 5 (TRC = 70 días) fue diferente al resto de periodos. A partir de los datos mostrados en la tabla, se observa que la VCO

fue menor en el periodo 5 que en el resto de periodos como consecuencia del menor caudal de tratamiento fijado durante este periodo (ver Tabla 36).

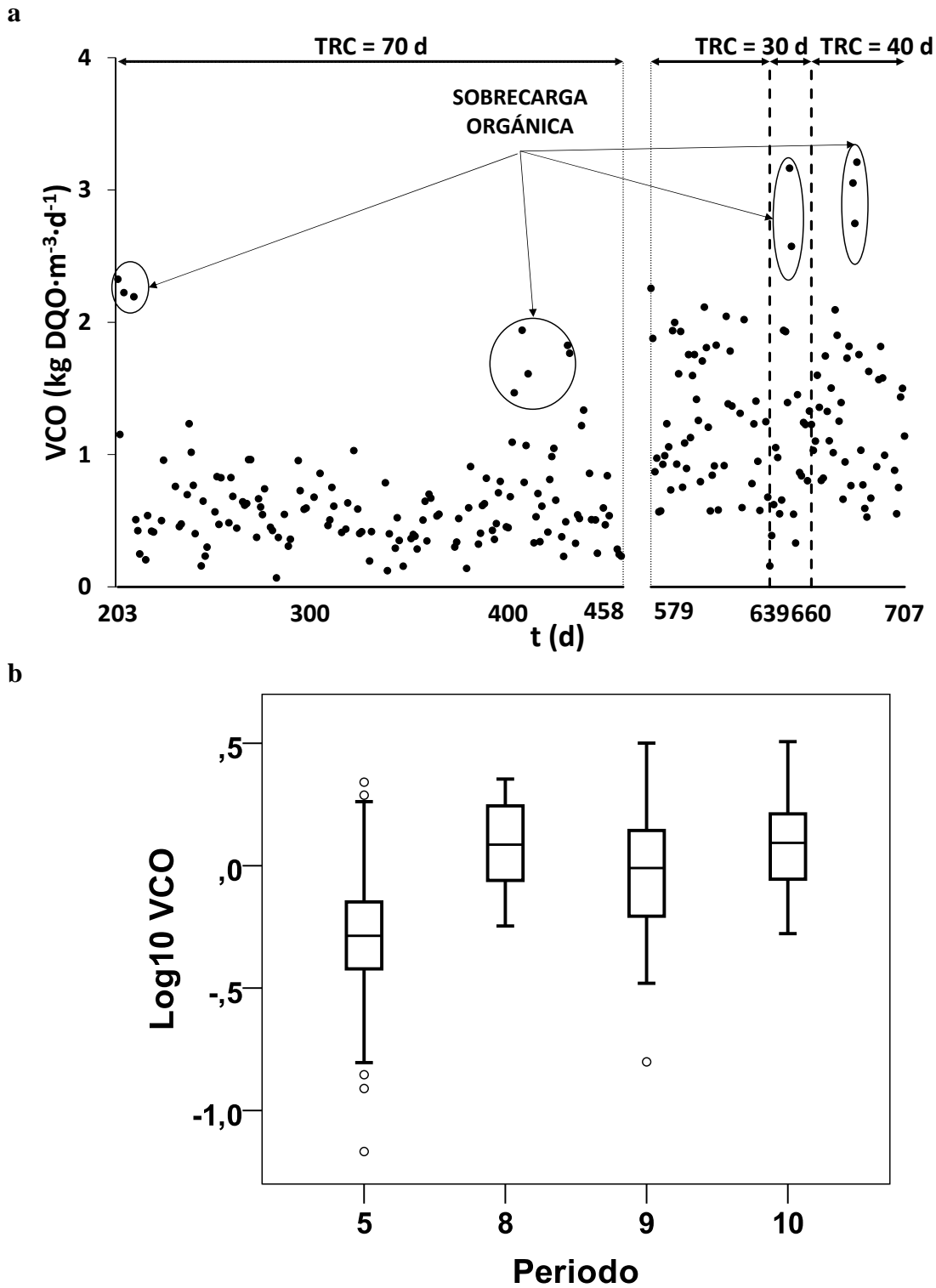


Figura 49. Evolución de la VCO (a). Diagrama de caja y bigotes de los logaritmos de la VCO (b).

4.5.1 Influencia del TRC sobre la eliminación de DQO

La Figura 50 muestra la evolución del % de eliminación de DQO y la concentración de DQO_T en el afluente y de DQO residual en el efluente durante los diferentes periodos seleccionados.

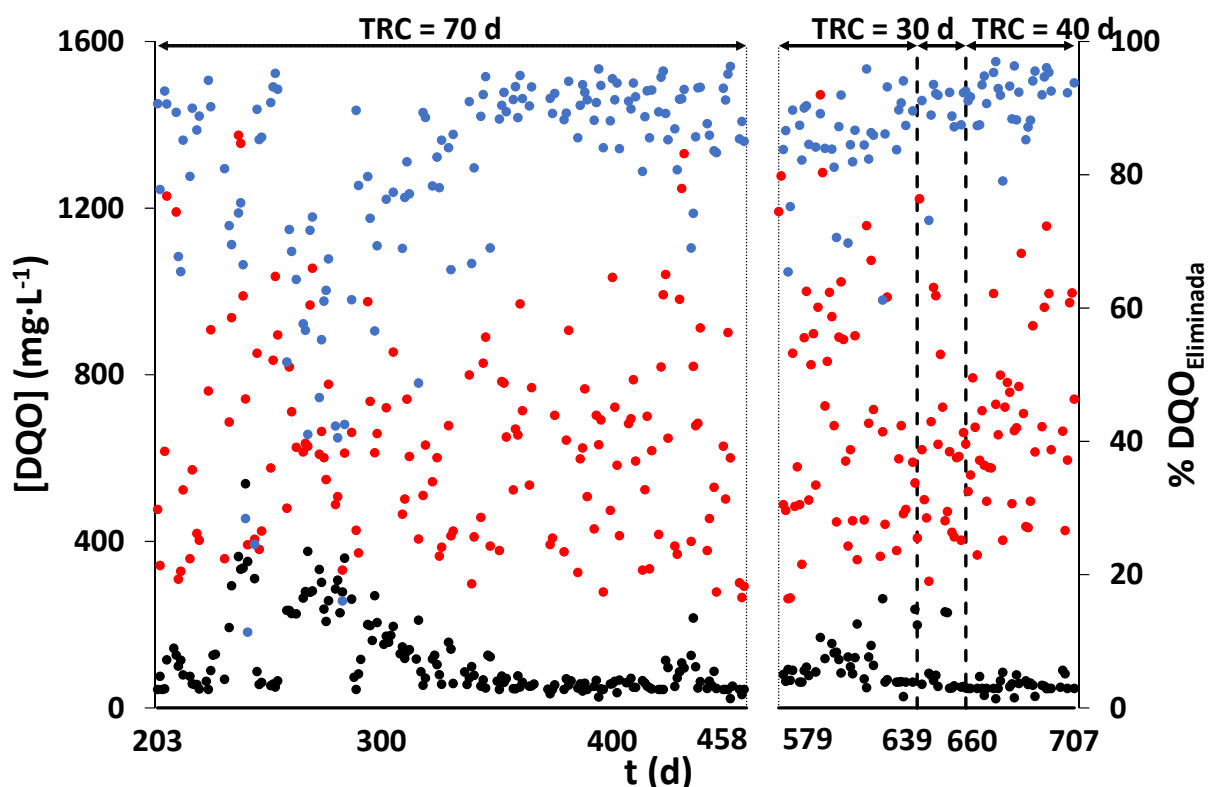


Figura 50. Evolución del % de eliminación de DQO (●), y de la concentración de DQO en el afluente (●) y de DQO residual en el efluente (●).

En esta figura se observa un notable descenso en la eliminación de DQO al inicio del periodo con TRC = 70 días. Este descenso estuvo asociado a un incremento de la DQO residual efluente, como consecuencia del cambio operacional introducido, que se estudiará con más detalle en el próximo apartado. En la Figura 51 se ha representado la evolución de la concentración de DQO residual efluente y de AGV en el efluente del sistema de tratamiento durante los diferentes periodos considerados, donde se observa que el incremento en la DQO residual del efluente estuvo relacionado con la acumulación de productos intermedios de la degradación anaerobia.

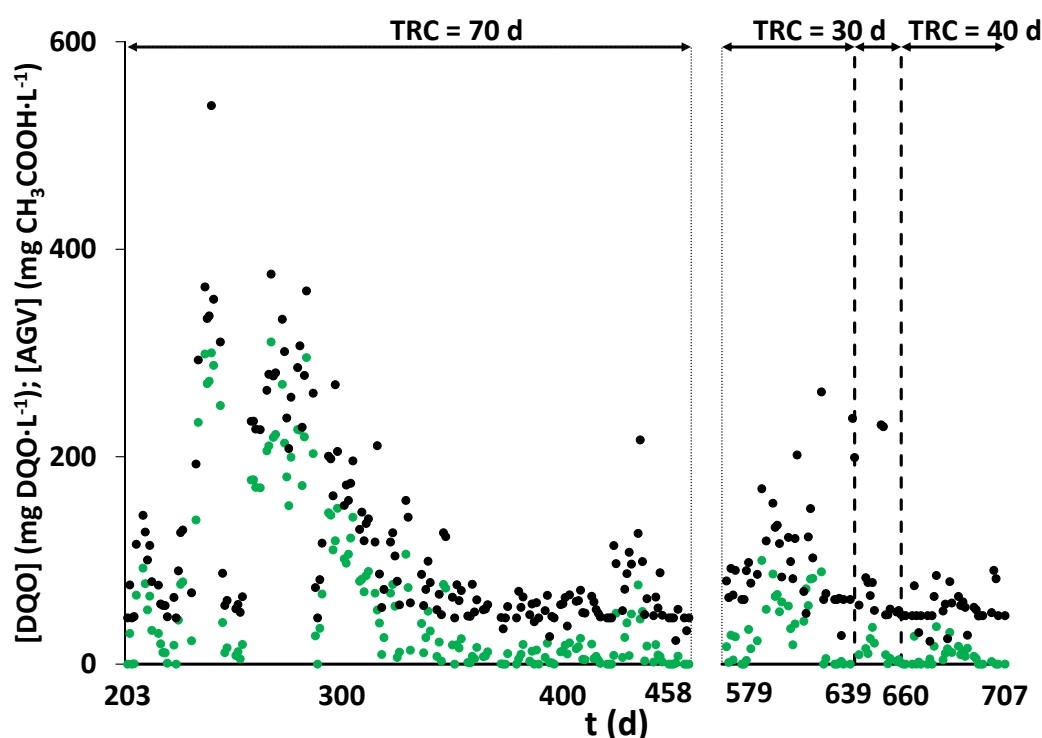


Figura 51 Evolución de la concentración de DQO (●) y de la concentración de AGV (●) en el efluente del sistema de tratamiento.

Posteriormente, el sistema recuperó su eficiencia de eliminación de DQO tras un periodo de adaptación de la biomasa a las nuevas condiciones operacionales de aproximadamente 140 días. De forma similar, la modificación de las condiciones operacionales ocasionó nuevamente la acumulación de productos intermedios al inicio del periodo con TRC = 30 días. En esta ocasión, la acumulación de AGV fue menor y la recuperación de la eficiencia de eliminación de DQO mucho más rápida (aproximadamente 40 días). Al inicio del periodo con TRC = 40 días también se observan ligeros incrementos de la concentración de DQO residual en el efluente, que estuvieron relacionados con un incremento de la carga orgánica (ver Figura 49), que desapareció inmediatamente tras cesar la perturbación.

Durante los periodos *pseudo-estacionarios* alcanzados para cada uno de los periodos considerados, la concentración de AGV en el efluente del sistema de tratamiento fue prácticamente nula, indicando el correcto funcionamiento del proceso biológico. En la Tabla 40 se presentan los estadísticos descriptivos de la concentración de DQO residual en el efluente del sistema de tratamiento para cada uno de los periodos considerados.

<i>Período</i>	<i>Media ± Desv. Típica</i>
P5	55,7 ± 10,5
P9	58,1 ± 7,9
P10	59,4 ± 6,8

Tabla 40. Estadísticos descriptivos de la concentración de DQO residual en el efluente (mg DQO·L⁻¹).

El análisis de la varianza puso de manifiesto la ausencia de diferencias significativas en la concentración de DQO residual en el efluente del sistema de tratamiento durante los periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados (P-Valor = 0,642).

Dado que la concentración media de DQO_T en el afluente no varió significativamente en los diferentes periodos (ver Tabla 38), el % de eliminación de DQO en los diferentes periodos *pseudo-estacionarios* resultó muy similar. En la Tabla 41 se presentan los estadísticos del % de eliminación de DQO en los sub-periodos *pseudo-estacionarios*.

<i>Período</i>	<i>Media ± Desv. Típica</i>
P5	90,3 ± 2,1
P9	88,2 ± 2,2
P10	92,0 ± 3,7

Tabla 41. Estadísticos descriptivos del % de eliminación de DQO.

El análisis de la varianza puso de manifiesto la ausencia de diferencias significativas entre el % de eliminación de DQO alcanzado en los diferentes periodos operacionales considerados (P-Valor = 0,062), por lo que no existe evidencia estadística para afirmar que el TRC influyó sobre la eficiencia de eliminación de DQO en el rango de valores estudiado.

4.5.2 Influencia del TRC sobre la producción de fangos.

La Figura 52 muestra la evolución de la concentración de ST, del % de SV y de la temperatura en el interior del sistema durante los diferentes periodos considerados.

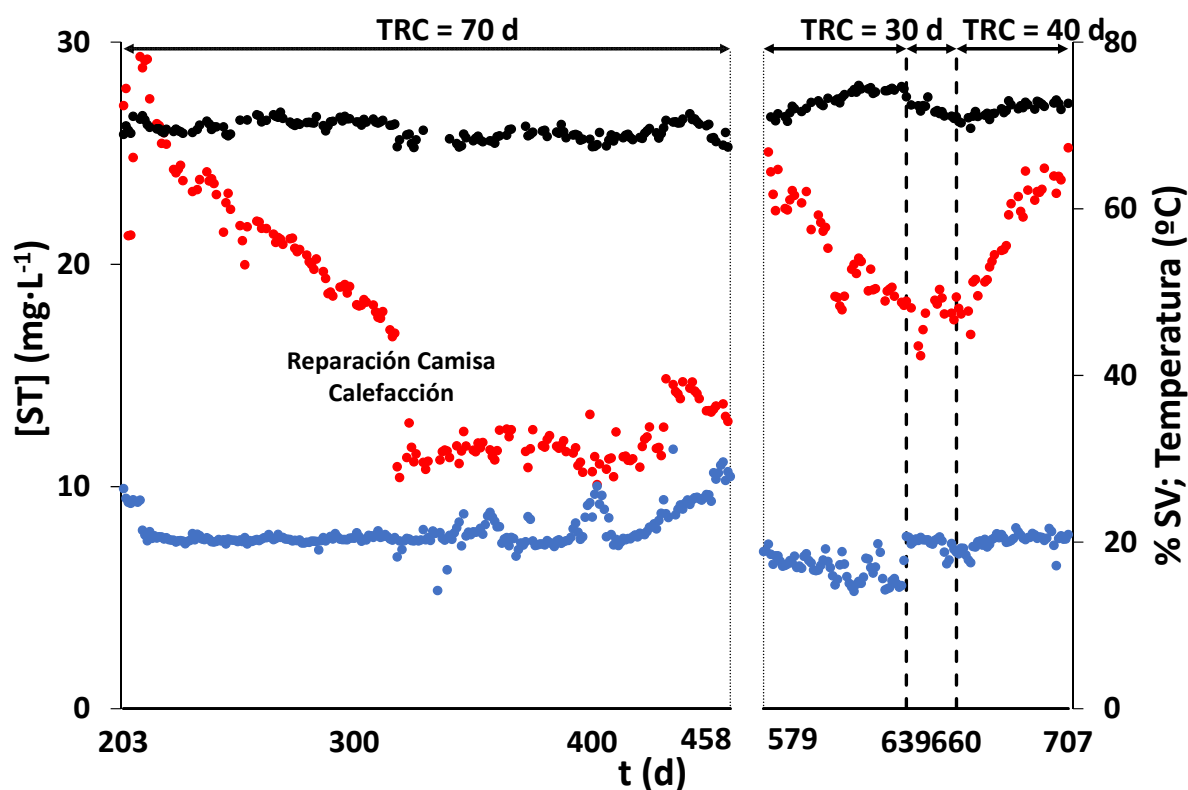


Figura 52. Evolución de la concentración de ST (●), % de SV (●) y temperatura (●).

En esta figura se observa que la concentración de ST en el interior del sistema se redujo al inicio del periodo 5 (TRC = 70 días), de nuevo como consecuencia de la modificación de las condiciones operacionales. El incremento del TRH al inicio de este periodo redujo la afluencia, retención y acumulación de material particulado. A partir del día 318 se observa una caída brusca en la concentración de ST en el interior del sistema como consecuencia de una purga de sólidos, que se realizó para poder llevar a cabo las tareas asociadas a la reparación de la camisa calefactora. También es posible observar que la concentración de ST aumentó al incrementar el TRC desde 30 hasta 40 días, como consecuencia del menor caudal de purga.

En la Tabla 42 se presentan los estadísticos que describen la producción de fangos durante los periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados para cada uno de los periodos experimentales considerados. Del mismo modo que durante el estudio del efecto del TRH sobre el funcionamiento del proceso (ver apartado 4.4.2), la producción de fangos se calculó como el cociente entre los SV purgados y la DQO eliminada durante el periodo *pseudo-estacionario* considerado.

<i>Período</i>	<i>Producción de fangos</i>
P5	0,370
P9	0,507
P10	0,423

Tabla 42. Producción de fangos ($\text{kg SV}_{\text{Purgados}} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DQO}_{\text{Eliminada}}$).

Los resultados mostrados en la Tabla 42 indican que, en el rango de valores estudiado, el TRC ejerció una influencia significativa sobre el funcionamiento del sistema en términos de producción de fangos. La producción de fangos varió de forma inversa al TRC, sugiriendo que el mayor tiempo de permanencia del material particulado en el interior del sistema incrementó el tiempo de contacto entre dicho material y las enzimas que llevan a cabo el proceso hidrolítico, aumentando las posibilidades de que resultase finalmente hidrolizado. El mayor grado de hidrólisis alcanzado al incrementar el TRC, contribuyó a reducir la fracción de materia orgánica suspendida biodegradable eliminada con la purga.

4.5.3 Influencia del TRC sobre la producción de metano.

En el apartado 4.4.3 se ha expuesto la importancia de la relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$ en el ARU afluente sobre la producción de biogás. La retención no selectiva de microorganismos en el AnMBR facilita la coexistencia y competición entre los organismos metanogénicos y sulfatorreductores, tal y como se ha comentado en el apartado 4.4.3. Los organismos sulfatorreductores disponen de una ventaja competitiva frente a los primeros, debido a sus mejores características cinéticas y termodinámicas. De este modo, la DQO será degradada preferentemente por los organismos sulfatorreductores, por lo que la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis se reducirá al reducirse la relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$. En la Tabla 43 se presentan los estadísticos de la relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$ del afluente durante los diferentes periodos considerados para el estudio de la influencia del TRC sobre el funcionamiento del sistema.

<i>Periodo</i>	<i>Media^a - Desv. Típica^a</i>	<i>; ($Q_1 - Q_3$)</i>	<i>Rango</i>
P5	6,03 - 1,57	; (4,54 - 7,97)	14,93
P9	6,00 - 1,45	; (5,06 - 7,94)	6,81
P10	5,11 - 1,50	; (3,87 - 6,06)	7,85

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 43. Relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$ en el afluente ($\text{kg DQO} \cdot \text{kg}^{-1} \text{S-SO}_4$).

En la Tabla 44 se observa que la relación $DQO_T/S-SO_4$ afluente fue menor en el periodo 10 (TRC = 40 días), que en los periodos 5 (TRC = 70 días) y 9 (TRC = 30 días), como consecuencia de la mayor concentración media de $S-SO_4$ afluente durante el periodo 10. La Tabla 44 muestra los estadísticos de la concentración de sulfato afluente.

Periodo	Media \pm Desv. Típica	; (Q_1 - Q_3)	Rango
P5	104,9 \pm 14,8	; (95,5 - 114,0)	63,0
P9	110,4 \pm 13,3	; (100,8 - 127,2)	32,2
P10	119,3 \pm 11,9	; (109,8 - 127,9)	33,6

Tabla 44. Concentración de sulfato en el afluente (mg $S-SO_4 \cdot L^{-1}$).

El análisis de la varianza indicó la existencia de diferencias significativas en la concentración media de sulfato en el afluente durante los periodos considerados (P-Valor = 0.048). El análisis *Post-hoc* de Bonferroni puso de manifiesto que la concentración de sulfato afluente media durante el periodo 10 (TRC = 40 días) fue significativamente mayor que durante el periodo 5 (TRC = 70 días). Además, la probabilidad de cometer error tipo I, fue mayor al comparar la concentración de sulfato afluente media del periodo 9 con la del periodo 10, que con la del periodo 5, indicando que la concentración de sulfato afluente media en el periodo 9 fue más parecida a la del periodo 5 que a la del periodo 10.

La eliminación de sulfato fue prácticamente completa durante los diferentes periodos considerados, tal y como se observa en la Figura 53, donde se presenta el % de eliminación de $S-SO_4$ y la carga de sulfato afluente. La disminución del % de eliminación de $S-SO_4$ alrededor de los días 400 y 680, estuvo relacionada con un incremento de la carga de sulfato afluente. Probablemente, los organismos sulfatorreductores presentes fueron incapaces de reducir el exceso de sulfato afluente de forma inmediata, de modo que una fracción del mismo salió del sistema sin haber sido reducido.

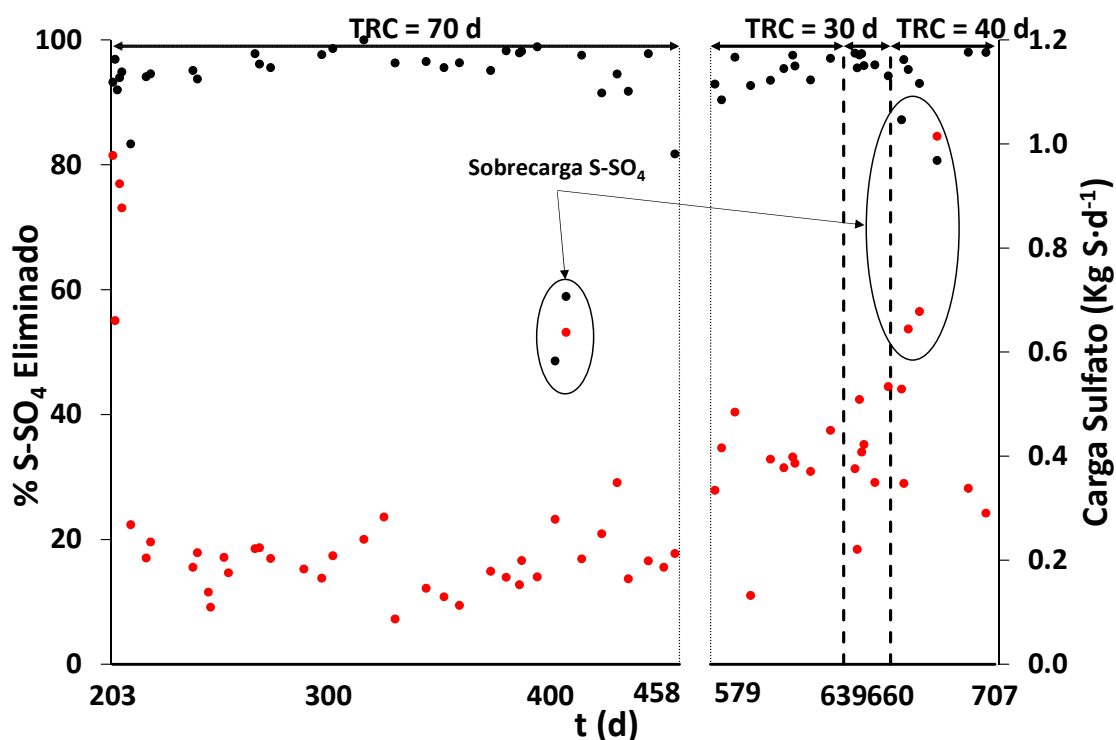


Figura 53. Evolución del % de eliminación de S-SO₄ (●) y de la carga de sulfato (●).

La Tabla 45 muestra la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis

Periodo	VCO (kg DQO·m ⁻³ ·d ⁻¹)	DQO _T /S-SO ₄ (kg DQO·kg ⁻¹ S-SO ₄)	Carga Orgánica Metanogénesis (kg DQO·d ⁻¹)		
			Media ^a	Desv. Típica ^a	Rango
P5	0,520	6,03	0,78	1,95	(0,39 - 1,44) 2,07
P9	0,920	6,00	1,50	2,06	(0,94 - 3,05) 2,81
P10	1,217	5,11	1,54	2,20	(0,72 - 3,045) 3,96

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 45. Carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis y valores medios de la VCO y de la relación DQO_T/S-SO₄.

Los datos mostrados en la Tabla 45, indican que la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis durante el periodo 5 fue aproximadamente la mitad que la de los periodos 9 y 10. Durante los periodos 9 y 10, la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis resultó ser similar, a pesar de la mayor VCO en el periodo 10 que en el periodo 9, debido a la menor relación DQO_T/S-SO₄ afluente.

En la Figura 54 se han representado la producción de metano y la actividad metanogénica real (AMR) durante los diferentes periodos considerados.

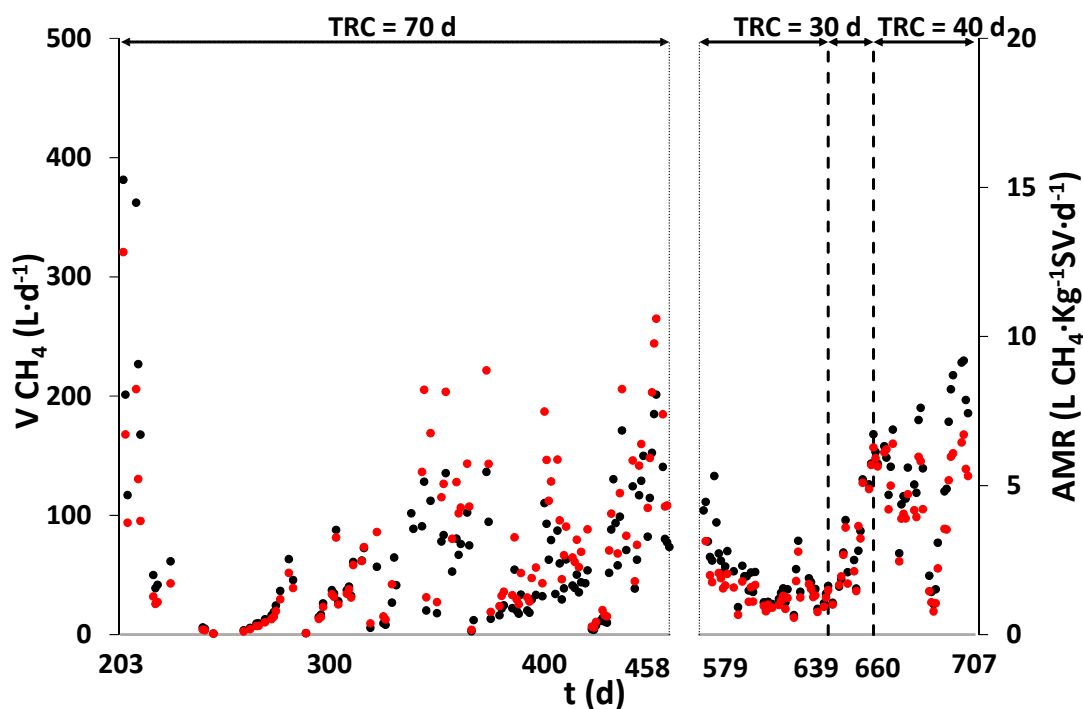


Figura 54. Evolución de la producción de metano (•) y de la AMR (•).

Además, en la Tabla 46 se presentan los valores de la producción de metano y de la AMR alcanzados durante los periodos pseudo-estacionarios seleccionados para cada periodo experimental.

<i>Parámetro</i>	<i>Periodo</i>	<i>Media ± Desv. Típica</i>
<i>Producción de CH₄</i> <i>(L CH₄·d⁻¹)</i>	P5	107,1 ± 21,9
	P9	144,1 ± 15,4
	P10	210,6 ± 17,7
<i>AMR</i> <i>(L CH₄·kg⁻¹ SV·d⁻¹)</i>	P5	6,56 ± 1,48
	P9	5,59 ± 0,52
	P10	6,01 ± 0,52

Tabla 46. Estadísticos descriptivos de la producción de metano y de la AMR.

En esta tabla se observa que la producción de metano durante el periodo 5 (TRC = 70 días) fue inferior que en los periodos 9 (TRC = 30 días) y 10 (TRC = 40 días), debido a la menor carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis. Por otra parte, la producción de metano fue superior en el periodo 10 que en el periodo 9, indicando que la carga orgánica degradada por los organismos metanogénicos fue superior en el primero, a pesar de que la carga

orgánica disponible para metanogénesis fue similar en ambos periodos. De este modo, la mayor producción de metano en el periodo 10 con respecto al periodo 9, estaría relacionada con el mayor TRC fijado en el periodo 10. Como se ha mencionado en el apartado 4.5.2, cuanto mayor es el tiempo de permanencia del material particulado en el interior del reactor, mayor es el grado de hidrólisis alcanzado, por lo que se incrementa la disponibilidad de sustrato en las etapas posteriores de la degradación anaerobia de la materia orgánica.

Por otro lado, se observó un incremento de la AMR con el TRC. En el apartado 4.5.2, se ha sugerido que el mayor grado de hidrólisis alcanzado al incrementar el TRC, contribuyó a reducir la fracción de materia orgánica suspendida biodegradable acumulada en el interior del reactor, por lo que la proporción de microorganismos metanogénicos por kg de SV se incrementó, provocando un incremento en la actividad real del fango.

En la Figura 55 se presenta la evolución de la eficiencia de recuperación de metano con el biogás durante los diferentes periodos considerados. Además, en la Tabla 47 se presentan los valores de la eficiencia de recuperación de metano alcanzados durante los diferentes periodos *pseudo-estacionarios*.

<i>Parámetro</i>	<i>Periodo</i>	<i>Media</i>	\pm	<i>Desv. Típica</i>
$Q^{Biogás}/Q^{Tratamiento}$ (L Biogás·L ⁻¹)	P5	0,058	\pm	0,008
	P9	0,031	\pm	0,006
	P10	0,047	\pm	0,021
η^{CH_4} <i>Recuperación</i>	P5	56,8	\pm	9,8
	P9	44,3	\pm	5,4
	P10	53,7	\pm	16,5

Tabla 47. Estadísticos descriptivos de la relación $Q^{Biogás}/Q^{Tratamiento}$ y de la eficiencia de recuperación de metano.

Los resultados mostrados en la Tabla 47 confirman que el aumento del TRC incrementó el grado de hidrólisis de la materia orgánica particulada biodegradable, promoviendo un incremento en la disponibilidad de sustratos para los organismos que llevan a cabo las etapas posteriores de la degradación anaerobia de la materia orgánica, entre los que se encuentran los organismos metanogénicos. La mayor producción de metano incrementó la relación $Q^{Biogás}/Q^{Tratamiento}$, de modo que la eficiencia de recuperación de metano se incrementó con el TRC.

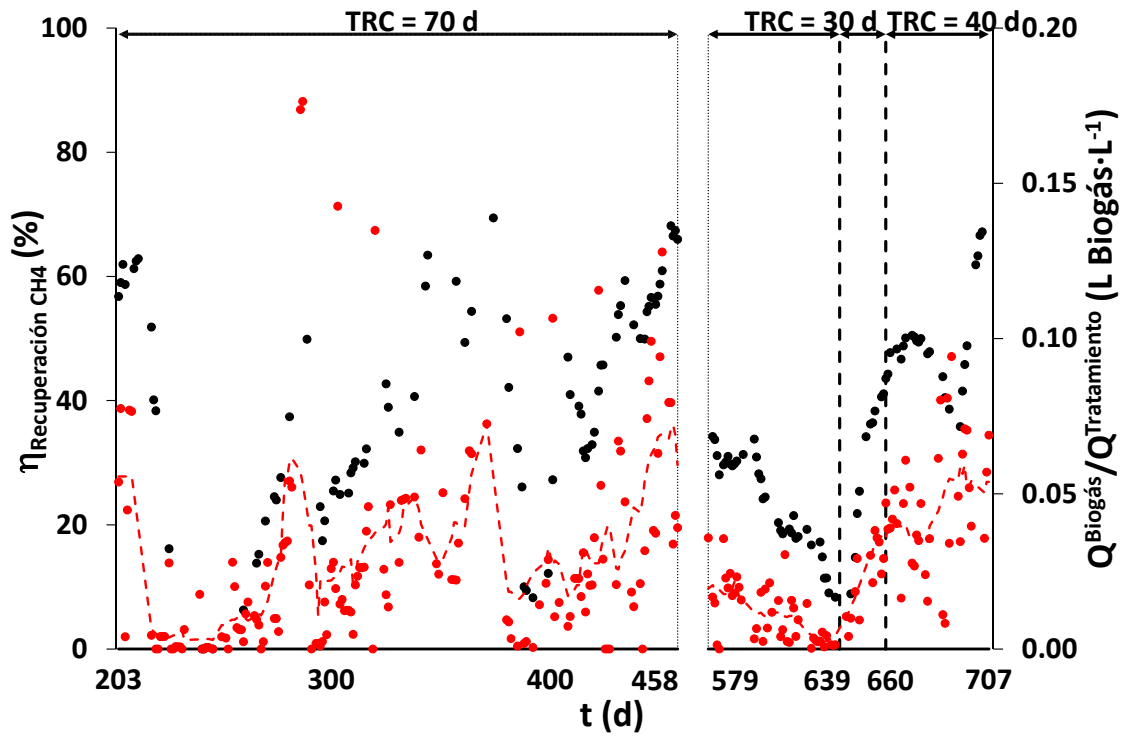


Figura 55. Evolución de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ (•) y de la eficiencia de recuperación de metano con el biogás (•). (---) media móvil de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$.

4.6 Influencia de la T sobre el funcionamiento del sistema.

En el apartado 1.4.6.1 se presentan los biorreactores anaerobios de membrana como una alternativa viable para el tratamiento de ARU bajo condiciones psicofílicas, dado que son capaces de retener totalmente la biomasa, ofreciendo la ventaja de realizar un control independiente del TRH y del TRC. De este modo, se facilita la operación a elevados TRC y, por tanto, a temperaturas bajas. Diversos autores han evaluado recientemente el funcionamiento de este tipo de sistemas de tratamiento bajo condiciones psicofílicas (Chu y otros, 2005; Ho y otros, 2007; Ho y Sung, 2010; Martínez-Sosa y otros, 2011; Martínez-Sosa y otros, 2012; Smith y otros, 2013), coincidiendo en que no existen evidencias de que la operación a bajas temperaturas sea inhibitoria del funcionamiento del proceso, bajo las condiciones operacionales adecuadas. Sin embargo, en ninguno de estos trabajos se ha evaluado su estabilidad frente a las variaciones estacionales típicas en climas templados de latitudes medias.

En este apartado se lleva a cabo, en primer lugar, el estudio de la influencia de la disminución de la temperatura, desde condiciones mesofílicas hasta condiciones psicofílicas, sobre el funcionamiento del sistema. Para ello, se operó a 2 temperaturas diferentes (33 y 20 °C). Posteriormente, con la finalidad de evaluar la estabilidad del proceso frente a las variaciones térmicas estacionales típicas en los climas templados propios de latitudes medias, se procedió a operar sin control de temperatura (T Libre). De este modo, la temperatura pasó de ser un parámetro operacional, a ser un parámetro ambiental.

En la Tabla 48 se presentan los intervalos temporales que ocuparon cada uno de los diferentes períodos experimentales considerados en el estudio de la influencia de la temperatura sobre el funcionamiento del proceso.

<i>Período</i>	<i>tiempo (d)</i>
P1	1-63
P5	203-458
P6	459-515
P7	516-578
P8	579-638

Tabla 48. Intervalos temporales de cada período.

La Tabla 49 muestra los valores de los principales parámetros operacionales durante los diferentes periodos experimentales en los que se subdividió el estudio de la influencia de la temperatura sobre el funcionamiento del sistema.

Parámetro	Período	Mediana	(Q_1 - Q_3)	Rango
TRH (h)	P1	16,6	(15,0 - 17,0)	6,6
	P5	24,5	(23,7 - 27,1)	29,5
	P6	28,4	(27,0 - 30,2)	24,6
	P7	13,7	(12,5 - 15,2)	8,1
	P8	12,3	(11,7 - 15,4)	11,0
TRC (d)	P1	70,8	(70,6 - 74,2)	8,4
	P5	69,2	(66,8 - 71,3)	27,2
	P6	41,6	(40,1 - 44,4)	19,7
	P7	39,5	(39,1 - 40,8)	13,1
	P8	28,6	(27,4 - 29,5)	11,4
T (°C)	P1	33,2	(33,1 - 33,4)	2,8
	P5	20,5	(20,2 - 21,3)	2,1
	P6	29,2	(28,7 - 29,6)	4,7
	P7	23,3	(21,2 - 25,2)	10,3
	P8	17,1	(15,6 - 17,9)	5,7

Tabla 49. Condiciones operacionales fijadas en cada periodo.

En la Figura 56 se representan gráficamente los principales parámetros operacionales (i.e., TRC, TRH y Temperatura) a lo largo de los diferentes períodos operacionales considerados. Durante los períodos 1 y 5, se operó a 33 y a 20 °C, respectivamente. Durante estos dos períodos, el TRC se mantuvo constante aproximadamente en 70 días. El TRH se incrementó al inicio del período 5, desde 5 hasta 12 horas. Posteriormente, la elevada concentración de ST que se alcanzó en el sistema tras reducir la temperatura obligó a incrementar nuevamente el TRH hasta 24 horas, con la finalidad de evitar la operación de las membranas bajo condiciones supracríticas de filtración.

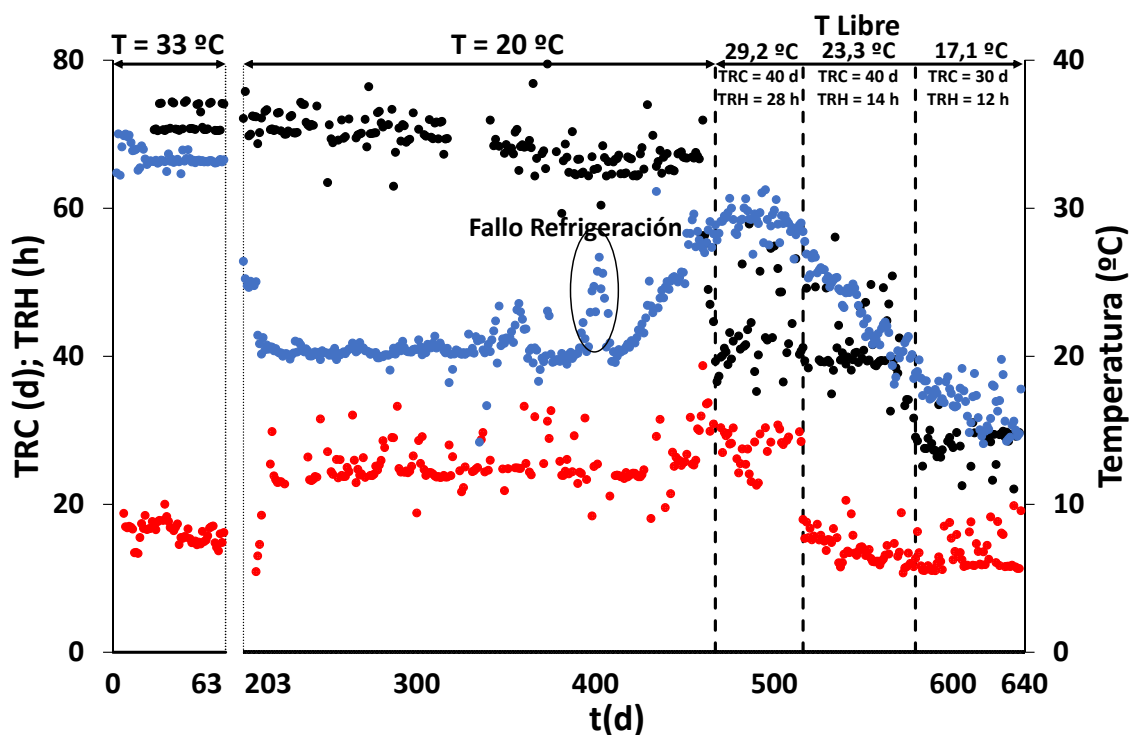


Figura 56. Evolución de los principales parámetros operacionales: TRC (●), TRH (●) y Temperatura (●).

Tras evaluar el efecto de la temperatura sobre el funcionamiento del proceso, se decidió desconectar el control de temperatura con la finalidad de evaluar la estabilidad del proceso frente a los cambios térmicos característicos de los climas templados de latitudes medias. Este estudio comprendió los períodos 6, 7 y 8 (T Libre), que representaron las condiciones térmicas típicas de verano, otoño e invierno, respectivamente. La reducción del TRC y del TRH durante los 3 últimos períodos se planeó con la finalidad de comprobar la estabilidad del sistema en condiciones operacionales extremas en climas templados. El TRC se redujo desde 70 a 40 días durante los períodos 6 y 7, y posteriormente se redujo a 30 días en el período 8. El TRH durante el período 6 se mantuvo prácticamente igual que en el período anterior, y posteriormente se redujo aproximadamente a la mitad durante los períodos 7 y 8.

En la Figura 57 se muestra la dispersión que presentó la concentración de DQO_T afluente a lo largo de los diferentes períodos experimentales considerados (a), junto con el diagrama de caja y bigotes a modo de resumen gráfico (b).

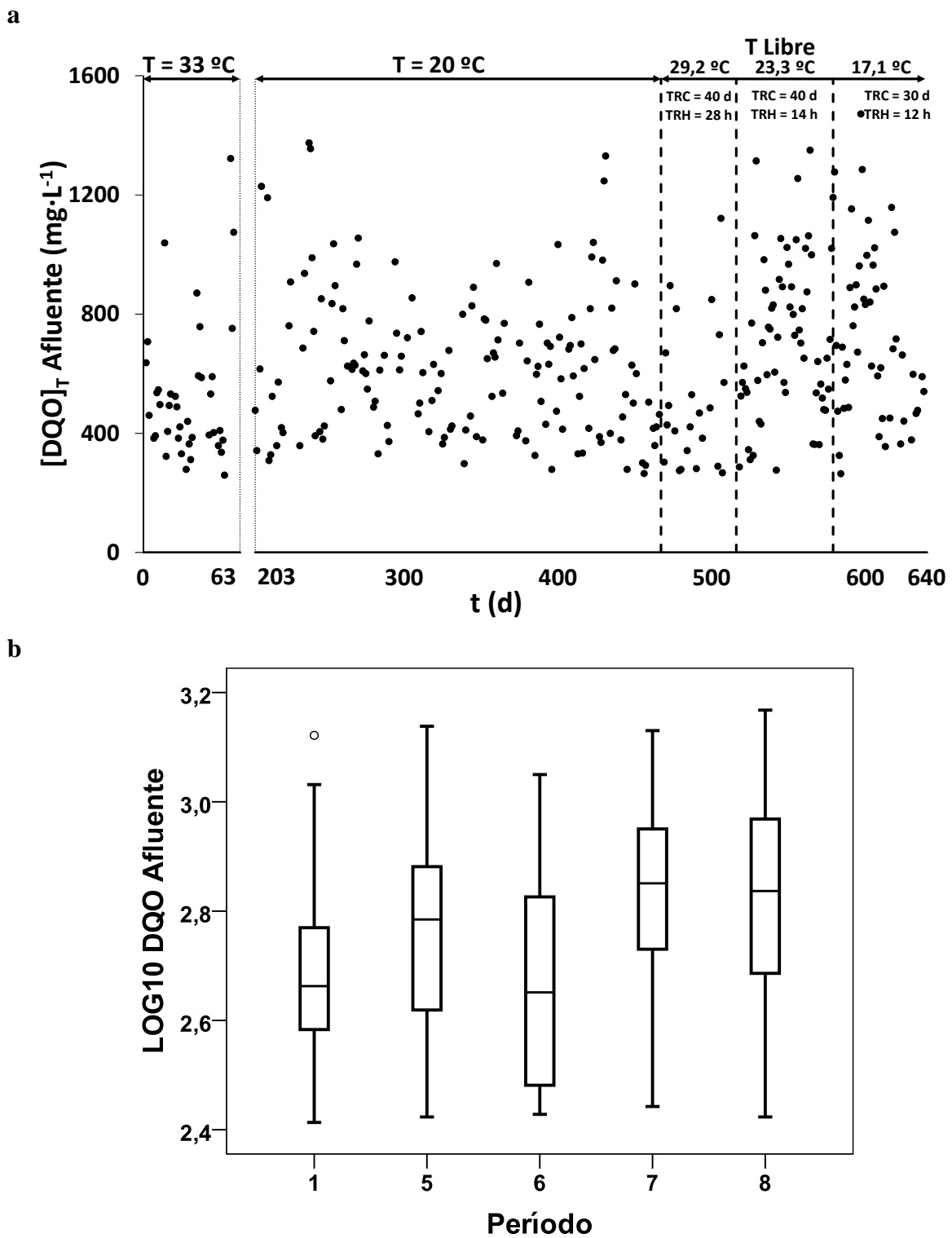


Figura 57. Evolución de la concentración de DQO_T afluente (a). Diagramas de caja y bigotes de los logaritmos de la concentración de DQO_T afluente (b).

Además, en la Tabla 50 se presentan los estadísticos resumen de la concentración de DQO_T de la corriente afluente al sistema.

Período	Media^a - Desv. Típica^a	; (Q₁ - Q₃)	Rango
P1	483,2 - 1,453	; (378,5 - 589,3)	1064,0
P5	582,0 - 1,458	; (416,0 - 762,3)	1110,0
P6	449,8 - 1,489	; (299,8 - 685,3)	628,0
P7	665,3 - 1,479	; (537,3 - 892,0)	1073,0
P8	649,7 - 1,524	; (474,0 - 899,0)	1210,0

a. Media y desviación típica geométricas

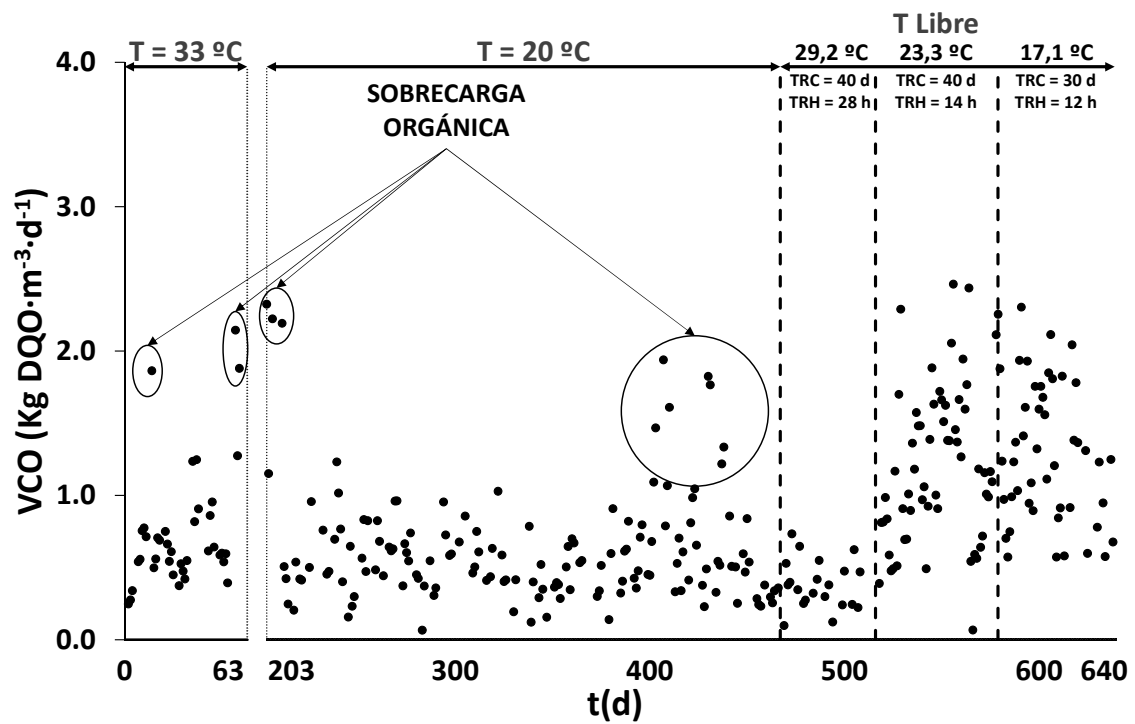
Tabla 50 Estadísticos descriptivos de la concentración de DQO_T afluente (mg DQO·L⁻¹).

El análisis de la varianza puso de manifiesto que la concentración media de DQO_T afluente fue distinta en los diferentes períodos experimentales considerados (P-Valor = 0,000). El análisis *post hoc* de Bonferroni indicó la ausencia de diferencias significativas entre los períodos 1 y 6 (P-Valor = 1,000), y entre los períodos 7 y 8 (P-Valor = 1,000), siendo los últimos mayores que los primeros. La concentración de DQO_T afluente en el período 5 fue una concentración intermedia.

De nuevo, como consecuencia de la disminución de la componente industrial y de la ausencia de puntas de carga típicas durante el período estival, la concentración de DQO_T afluente fue inferior durante el período 6, que durante el resto de períodos.

La Figura 58 muestra la evolución de la velocidad de carga orgánica (VCO) a lo largo de los diferentes períodos experimentales considerados en el estudio de la influencia de la temperatura sobre el funcionamiento del proceso (a). También se ha incluido un diagrama de caja y bigotes a modo de resumen gráfico de dicha evolución (b). Del mismo modo que en las figuras en las que se representa la variación de la VCO durante los períodos considerados en el estudio de la influencia del TRH (Figura 37) y del TRC (Figura 49) sobre el funcionamiento del sistema, en la Figura 58 se han señalado las sobrecargas orgánicas provocadas por las puntas de carga orgánica afluente mencionadas en el apartado 4.1.

a



b

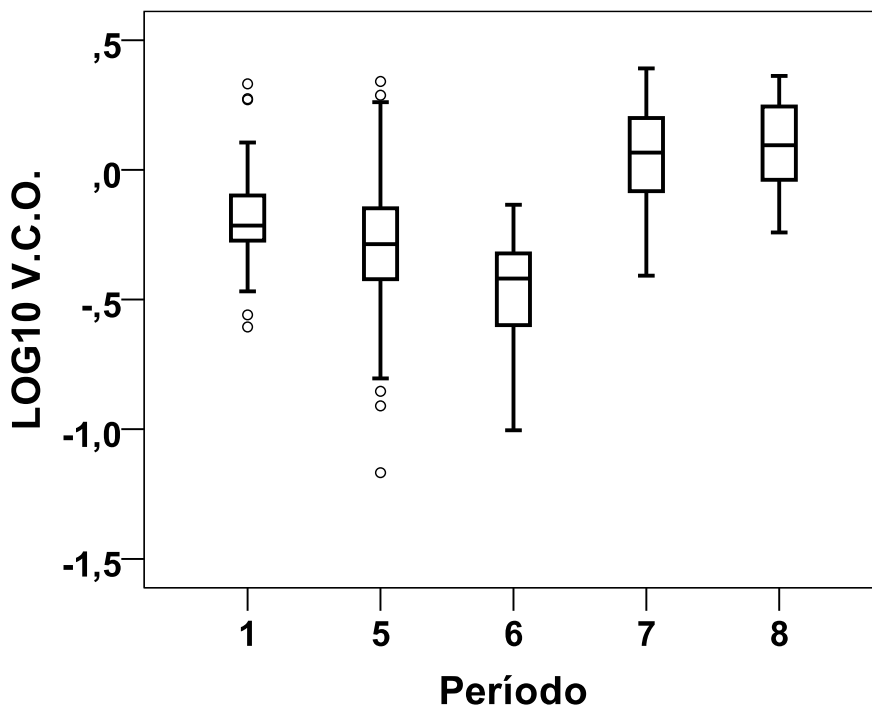


Figura 58. Evolución de la VCO (a). Diagrama de caja y bigotes de los logaritmos de la VCO (b).

La Tabla 51 presenta los estadísticos resumen de la VCO durante los períodos considerados.

<i>Período</i>	<i>Media^a - Desv. Típica^a</i>	<i>; (Q₁ - Q₃)</i>	<i>Rango</i>
P1	0,658 - 1,611	; (0,521 - 0,808)	1,898
P5	0,520 - 1,727	; (0,379 - 0,719)	2,125
P6	0,344 - 1,667	; (0,249 - 0,503)	0,635
P7	1,104 - 1,581	; (0,817 - 1,597)	2,396
P8	1,158 - 1,513	; (0,864 - 1,756)	1,690

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 51. VCO (kg DQO·m⁻³·d⁻¹).

El análisis de la varianza permitió rechazar la hipótesis de igualdad de medias de la VCO en los diferentes períodos (P-Valor = 0,000). El análisis *post hoc* de Bonferroni puso de manifiesto la similitud de las medias de la VCO en los períodos 1 y 5 (P-Valor = 0,080), y en los períodos 7 y 8 (P-Valor = 1,000), siendo mayor en los últimos que en los primeros como consecuencia de la mayor concentración de DQO_T afluente y del menor TRH. La VCO media en el período 1 resultó ser ligeramente superior a la del período 5, a pesar de que la concentración de DQO_T afluente media fue mayor en el período 5 que en el 1, como consecuencia del mayor TRH fijado durante el período 5. La VCO en el período 6 resultó ser inferior a la del resto de períodos debido a la menor concentración de DQO_T afluente.

4.6.1 Influencia de la T sobre la eliminación de DQO.

La Figura 59 muestra la evolución del % de eliminación de DQO, y de la concentración de DQO_T en el afluente y de DQO residual en el efluente.

La concentración de DQO residual en el efluente en los periodos *pseudo-estacionarios* alcanzados durante los periodos 1 (33 °C) y 5 (20 °C), en los que se mantuvo el tiempo de retención celular, mostraron que la disminución de la temperatura no produjo ninguna variación en la calidad del efluente.

No obstante, en la Figura 59 se observa un periodo transitorio tras la disminución de la temperatura desde 33 (periodo 1) hasta 20 °C (periodo 5). La disminución de la temperatura provocó un incremento de la concentración de DQO residual en el efluente durante los primeros 140 días del periodo 5, que ocasionó una disminución significativa del % de eliminación de DQO, llegando a ser puntualmente inferior al 20 %.

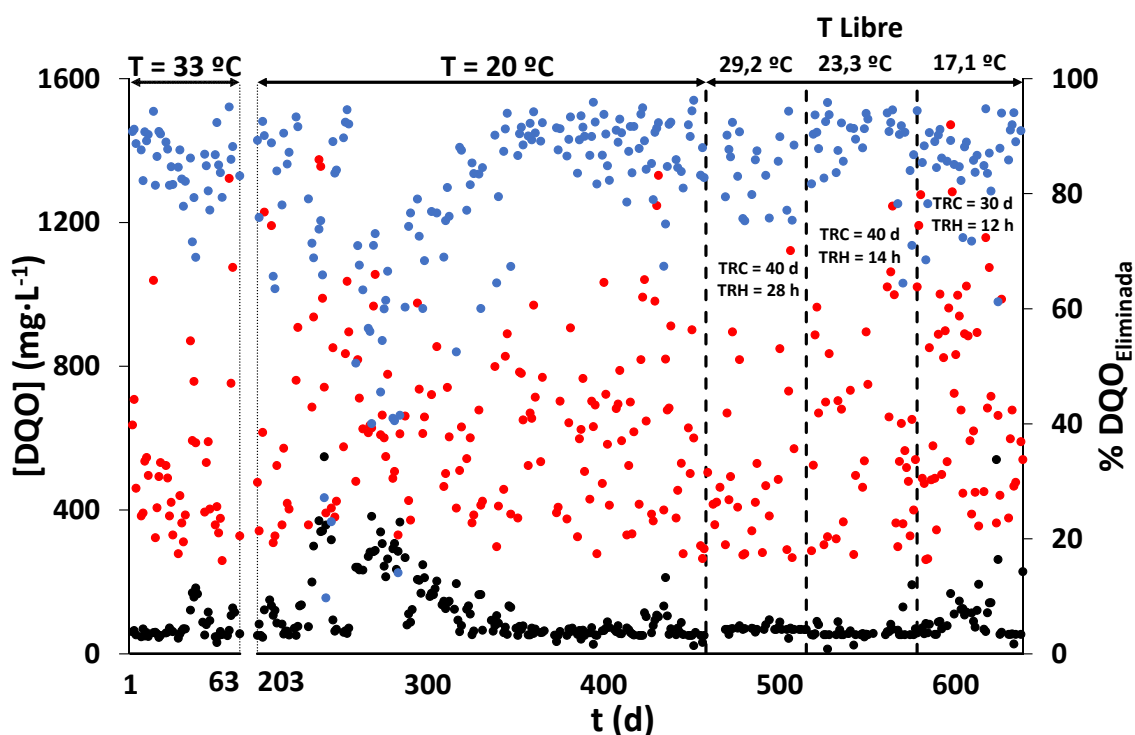


Figura 59. Evolución del % eliminación de DQO (●), y concentración de DQO_T en el afluente (●) y de DQO residual en el efluente (●).

Cuando un reactor anaerobio está operando bajo condiciones estacionarias, las actividades de los diferentes grupos metabólicos están en equilibrio, por lo que la acumulación de productos metabólicos intermedios es nula. Sin embargo, cuando el proceso se somete a un cambio repentino de temperatura, los diferentes grupos metabólicos pueden reaccionar de diferente forma, pudiendo dar lugar a un desequilibrio entre los diferentes grupos tróficos, y a una consecuente acumulación de productos intermedios en el interior del sistema (Cha y Noike, 1997).

En la Figura 60 se presenta la evolución de la concentración de DQO residual y de los AGV en el efluente durante los diferentes periodos considerados.

La acumulación de AGV en el sistema al reducir la temperatura desde 33 hasta 20 °C (inicio P5), indicó que los procesos en los que se consumen estos productos intermedios resultaron más desfavorecidos a causa de la reducción de la temperatura, que los procesos en los que se producen, sugiriendo que la hidrólisis dejó de ser la etapa limitante durante este lapso de tiempo.

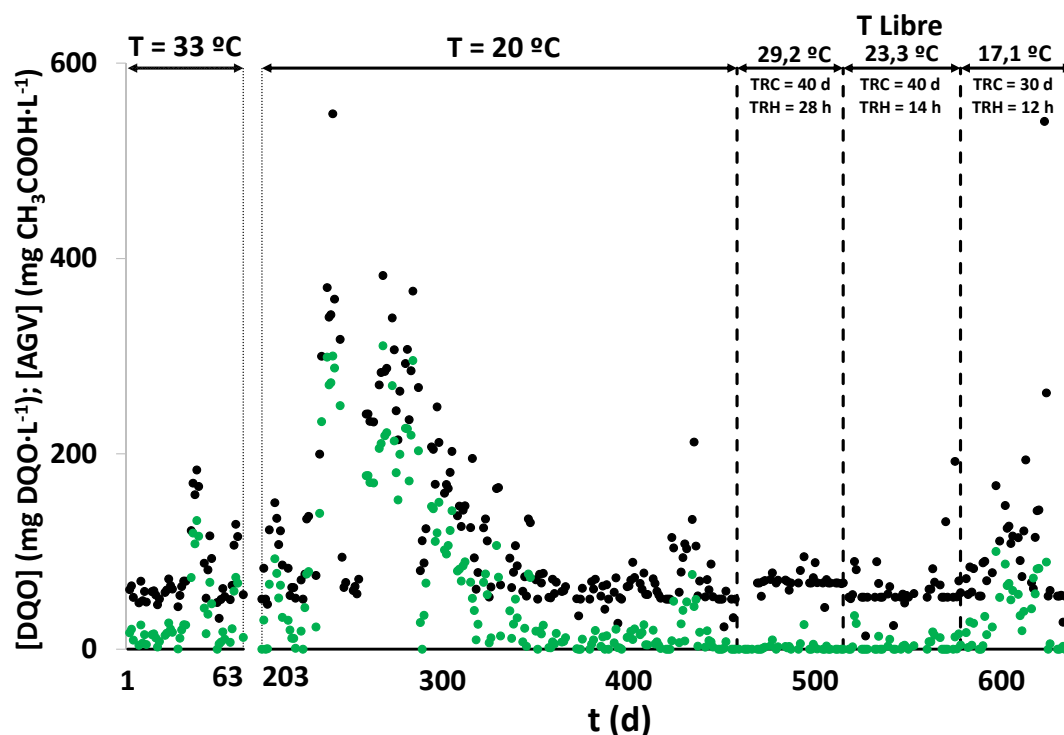


Figura 60. Evolución de la concentración de DQO residual (●) y AGV (●) en el efluente.

Borja y Banks (1995) observaron una respuesta similar al disminuir temporalmente la temperatura en 10 ó 20 °C, en un reactor anaerobio de lecho fluidizado operado normalmente bajo condiciones mesofílicas. Por su parte, Ho y Sung (2010) operaron 2 biorreactores anaerobios de membranas, sembrados con el mismo inóculo mesófilo, a 25 y a 15 °C, detectando una acumulación de ácido acético en el reactor cuya temperatura de operación se fijó en 15 °C. En vista de estos resultados, parece ser que las etapas más desfavorecidas por la disminución de la temperatura son las que utilizan el acetato como sustrato, dando lugar a una acumulación del mismo en el medio como consecuencia de su consumo limitado al reducir la temperatura.

Además, en la Figura 61 se observa que la reducción de sulfato continuó siendo completa tras reducir la temperatura, apuntando a la metanogénesis acetoclástica como la etapa más desfavorecida por la disminución de la temperatura.

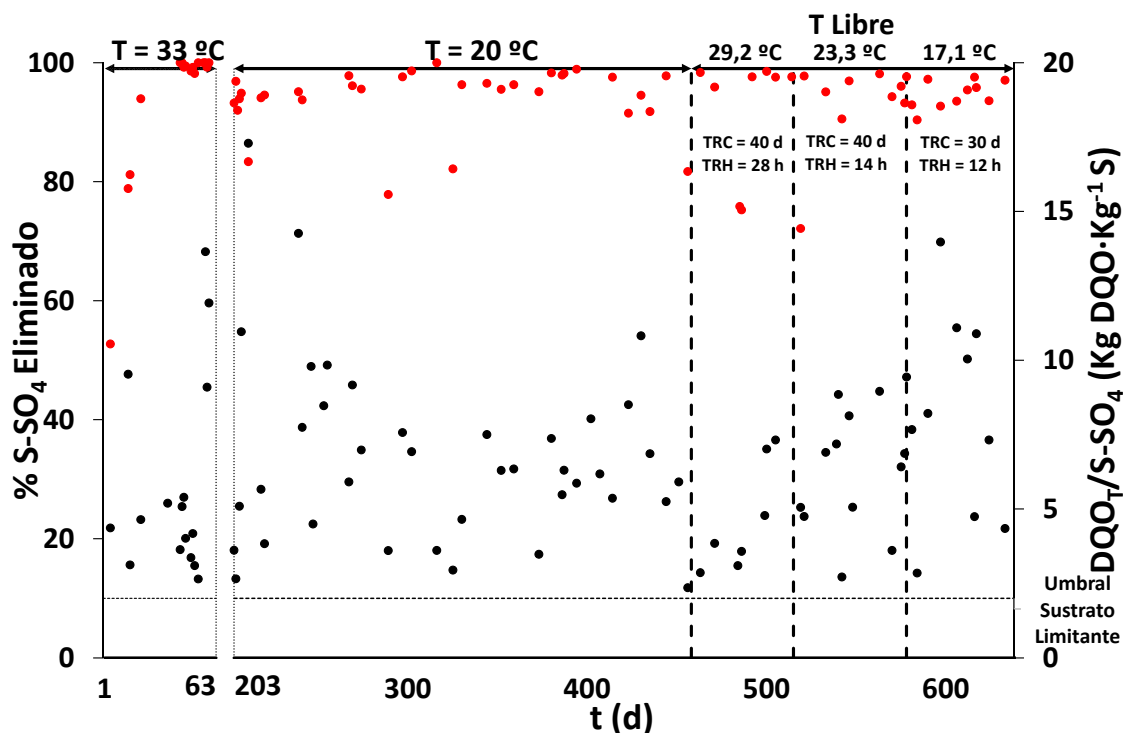


Figura 61. Evolución del % de eliminación de sulfato (●), y de la relación $DQO_T/S-SO_4$ afluente (●). La línea punteada representa el umbral por debajo del cual el sustrato limita la reducción del sulfato.

En la Figura 61, la línea punteada representa el umbral para el valor de la relación $DQO/S-SO_4$, por debajo del cual el sustrato sería limitante para los organismos sulfatorreductores. Los valores bajos observados en la eliminación de sulfato coincidieron con valores reducidos de la relación $DQO_T/S-SO_4$ afluente, indicando una posible limitación por sustrato de la reducción disimilatoria del sulfato.

La elevada relación alcalinidad/DQO del afluente durante todo el periodo experimental (ver Tabla 11), junto con el consumo de una parte significativa de los AGV por parte de los organismos sulfatorreductores acetoclásticos, contribuyeron a evitar la acidificación irreversible del sistema de tratamiento. La relación de alcalinidad (RA) se mantuvo en todo momento por debajo del umbral de riesgo de acidificación (Martí, 2007), que en la Figura 62 se ha representado mediante una línea punteada, indicando una correcta estabilidad operacional.

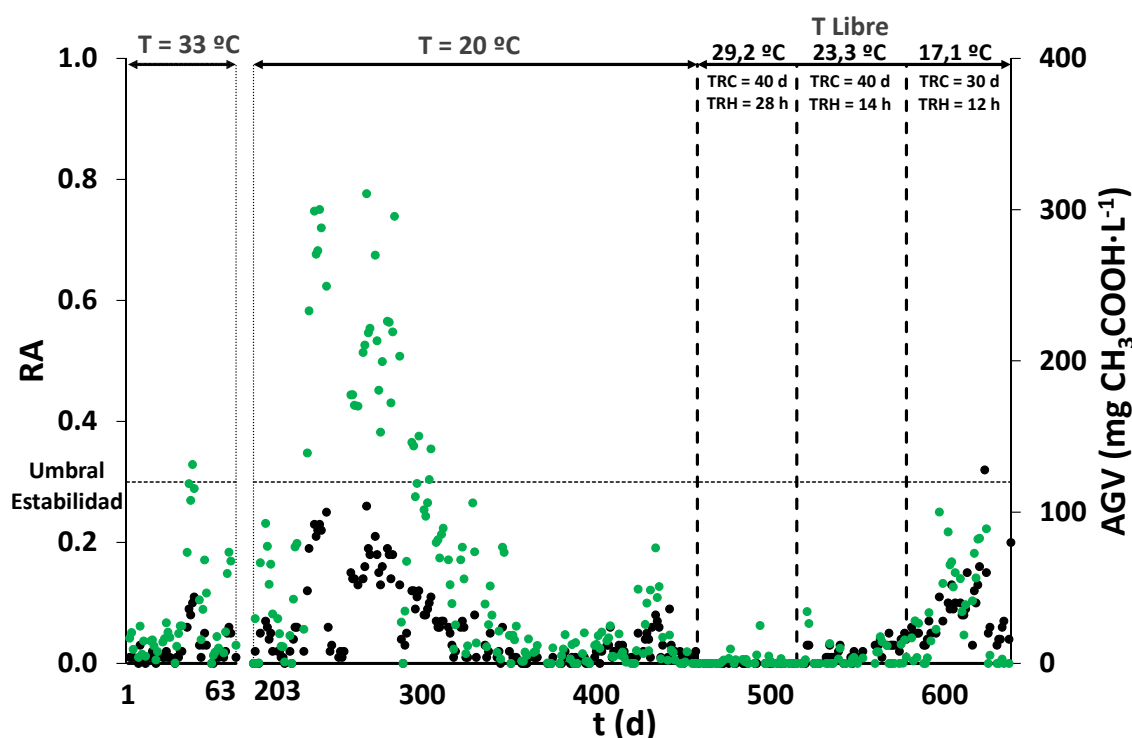


Figura 62. Evolución de la RA (●) y de la concentración de AGV en el permeado (●).

En la Figura 62 se observa que tras un período de operación a 20 °C de aproximadamente 140 días, la concentración de AGV en el efluente descendió hasta prácticamente anularse, recuperándose la eficiencia de eliminación de DQO.

Posteriormente, a partir del día 425, se observó un incremento de la concentración de AGV en el efluente, que coincidió con una punta de carga orgánica (ver Figura 58a).

Finalmente, como consecuencia del descenso de la temperatura media, hasta 17,1 °C, durante el invierno (periodo 8), se produjo nuevamente una acumulación temporal de AGV en el interior del sistema y en el permeado, que contribuyeron a reducir el % de eliminación de DQO. Hacia el final de este período, una nueva bajada de la VCO, junto con un incremento de la temperatura media, promovieron la recuperación de la capacidad de tratamiento.

La Tabla 52 muestra los estadísticos de la DQO residual en el efluente durante los periodos pseudo-estacionarios seleccionados.

Período	Media ± Desv. Típica
P1	49,5 ± 10,0
P5	55,7 ± 10,5
P6	68,2 ± 9,6
P7	53,6 ± 3,0
P8	51,8 ± 10,0

Tabla 52 Concentración de DQO residual en el efluente (mg DQO·L⁻¹).

El análisis de la varianza de la DQO residual del efluente permitió rechazar la hipótesis de igualdad de medias (P-Valor = 0,000). El análisis *post-hoc* de Bonferroni indicó la presencia de diferencias estadísticamente significativas entre la media del periodo estival, con una temperatura media de 29,2 °C (P6) y las medias del resto de periodos, que resultaron ser muy similares entre sí. A la vista de los resultados mostrados en la Tabla 52, la DQO residual efluente en el periodo estival fue superior que en el resto de periodos. Del mismo modo que durante el periodo 3 (ver apartado 4.4.1), la ausencia de productos intermedios indicó que la mayor DQO residual efluente durante este periodo no se debió al deterioro del proceso biológico, sino que nuevamente se atribuyó a un incremento de la fracción soluble no biodegradable, como consecuencia de la menor biodegradabilidad del ARU afluente durante el periodo estival.

El % de eliminación de DQO fue elevado en todos los periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados, tal y como es posible observar en la Tabla 53.

Período	[DQO]_T	% DQO_{Eliminada}	
		Media ± Desv. Típica	
P1	483,2	84,1 ± 4,7	
P5	582,0	90,3 ± 2,1	
P6	449,8	84,4 ± 6,2	
P7	665,3	90,2 ± 3,9	
P8	649,7	90,6 ± 2,9	

Tabla 53 Estadísticos del % de eliminación de DQO y valor medio de la concentración de DQO total en el afluente (mg DQO·L⁻¹).

El análisis de la varianza indicó la presencia de diferencias significativas en el porcentaje de eliminación de DQO en los periodos *pseudo-estacionarios* considerados (P-Valor = 0,000). El análisis *post-hoc* de Bonferroni indicó la presencia de diferencias significativas entre las medias del % de eliminación de DQO en los periodos con T operacional de 33 °C (P1) y T ambiental media de 29,2 °C (P6), y el resto de periodos. Según los datos mostrados en la Tabla 53, el %

de eliminación de DQO en los periodos 1 y 6 fue inferior que en el resto de periodos, debido a la menor concentración de DQO_T afluente y, en el periodo 6, además, a la mayor DQO residual efluente (ver Tabla 52), que contribuyeron a reducir la magnitud de la DQO eliminada.

Tal y como se ha comentado anteriormente, no se observan diferencias significativas entre las medias de la DQO residual en el efluente durante los diferentes periodos considerados, a excepción del periodo estival (P6). Además, la ausencia de productos intermedios en el efluente durante los periodos pseudo-estacionarios alcanzados sugirió que, independientemente de las condiciones operacionales seleccionadas en cada periodo, la capacidad de la membrana para retener la biomasa evitó el deterioro irreversible del proceso biológico. Así pues, no es posible atribuir las diferencias encontradas entre las medias del % de eliminación de DQO en los diferentes periodos a la variación de la temperatura, sino a la diferente composición del afluente.

4.6.2 Influencia de la T sobre la producción de fangos.

La Figura 63 muestra la evolución de la concentración de ST, del % de SV y de la temperatura en el interior del sistema durante los diferentes periodos considerados.

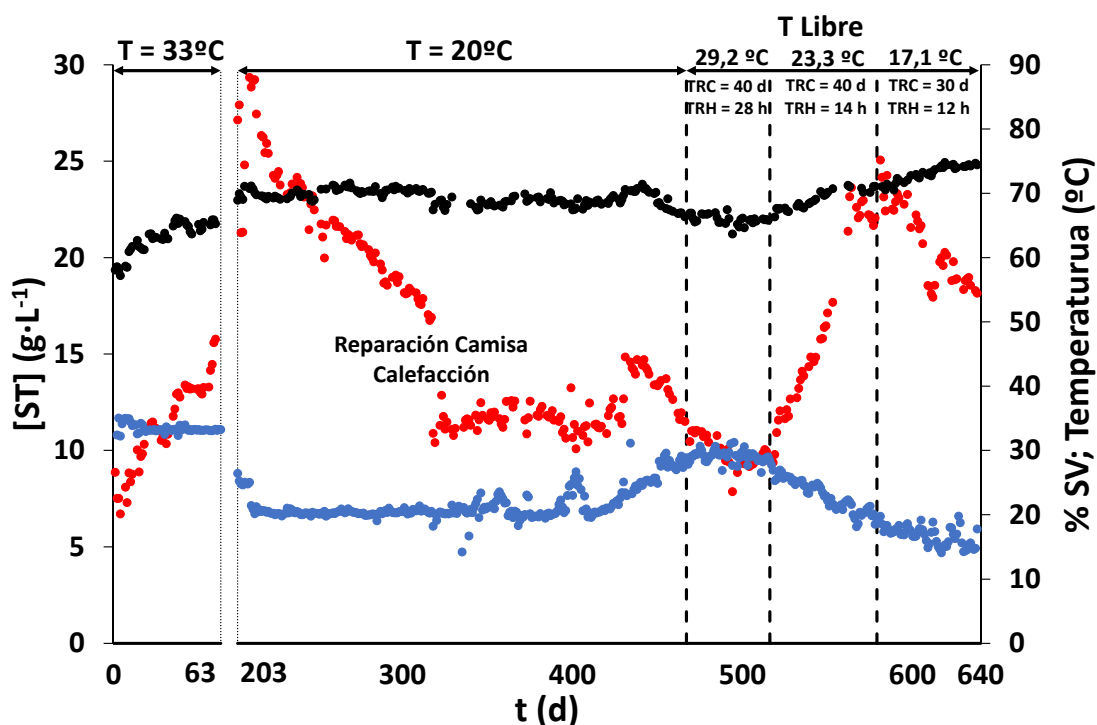


Figura 63. Evolución de la concentración de ST (●), del % de SV (●) y de la temperatura (●).

De forma general, se observa que el incremento del TRH desde 6 hasta 24 horas al inicio del periodo con T operacional de 20 °C (P5), ocasionó un descenso de la concentración de ST, debido a que la disminución en la VCO promovió una menor acumulación en el interior del sistema. De forma opuesta, la concentración de ST en el interior del sistema se incrementó al reducirse el TRH desde 28 hasta 14 horas (período 7).

Por otra parte, la reducción del TRC desde 70 hasta 40 días, durante el periodo con T ambiental media de 29,2 °C (P6), y desde 40 hasta 30 días, durante el periodo con T ambiental media de 17,1 °C (P8), ocasionó una disminución de la concentración de ST en el interior del sistema como consecuencia del aumento en el caudal de purga.

El % de SV tuvo una tendencia claramente opuesta a la de la temperatura. Dicho efecto responde a la disminución de la velocidad de desintegración, hidrólisis y solubilización de los compuestos orgánicos complejos al disminuir la temperatura (Seghezzi y otros, 1998; Lettinga y otros, 2001; Lee y Rittmann, 2011). La menor solubilización del material particulado provocaría una mayor acumulación en el interior del sistema.

En el apartado 4.4.2 se ha puesto de manifiesto que en el rango de TRH estudiado, este parámetro no ejerció ninguna influencia sobre la producción de fangos. De este modo, es posible discernir el efecto subyacente de la disminución de la temperatura sobre la producción de fangos al comparar dicho parámetro en los estados *pseudo-estacionarios* seleccionados para los periodos 1 y 5, en los que la temperatura de operación fue de 33 y 20 °C, respectivamente, y en el que el TRC se mantuvo en 70 días. La Tabla 54 muestra la producción de fangos calculada, según se ha expuesto en el apartado 4.4.2, como el cociente entre la suma de los SV purgados y la DQO_T eliminada durante los periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados.

<i>Período</i>	<i>T (°C)</i>	<i>Producción de fangos</i>
P1	33,2	0,201
P5	20,5	0,370
P6	29,2	0,528
P7 ^a	23,3	0,341;(0,158-1,074)
P8	17,1	0,563
a. Mediana; (Mínimo-Máximo)		

Tabla 54. Producción de fangos ($\text{kg SV}_{\text{Purgados}} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DQO}_{\text{Eliminada}}$), y valor medio de la temperatura.

En la Tabla 54 se observa que la disminución de la temperatura desde 33 °C (P1) hasta 20 °C (P5), provocó un aumento en la producción de fangos del 50 %. La disminución de la velocidad de hidrólisis promovió la acumulación de SV en el interior del sistema, cuya proporción se incrementó desde el 65 hasta el 70 %, aproximadamente (ver Figura 63). Esto significa que una mayor fracción del material particulado biodegradable fue eliminada del sistema a través de la purga, en lugar de ser destinada a la formación de productos energéticamente valorizables.

Tras detener el control de temperatura, la temperatura se incrementó hasta prácticamente 30 °C durante el periodo estival (P6). Sin embargo, la producción de fangos se incrementó durante este periodo debido a la confluencia de dos factores. Por un lado, del mismo modo que en el período 3 (ver apartado 4.4.2), la menor componente industrial y la ausencia de puntas de carga, como consecuencia de la llegada del período estival, modificó la composición del ARU afluente (i.e., menor relación $\text{kg DQO} \cdot \text{kg}^{-1} \text{SSV}$). Por otro lado, tal y como se ha expuesto en el apartado 4.5.2, la reducción del TRC desde 70 hasta 40 días, provocó una disminución del grado de hidrólisis del material particulado. Ambos factores contribuyeron a incrementar la producción de fangos hasta $0,528 \text{ kg SV}_{\text{Purgados}} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DQO}_{\text{Eliminada}}$.

Posteriormente, al inicio del periodo con T ambiental media de 23,3 °C (P7), la reducción del TRH desde 28 hasta 14 horas incrementó la afluencia (y retención) de material particulado, que ocasionó un incremento progresivo de la concentración de ST en el interior del reactor. Además, durante este período, la temperatura descendió desde 29 hasta 18 °C, ocasionando una disminución de la velocidad de hidrólisis que incrementó progresivamente la proporción de SV en el interior sistema. La acumulación de sólidos durante el periodo 7 impidió que se alcanzara un estado *pseudo-estacionario* donde aplicar el balance de DQO, por lo que en la tabla se presentan la producción mediana de fangos ($0,341 \text{ kg SV}_{\text{Purgados}} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DQO}_{\text{Eliminada}}$), y los valores mínimo y máximo ($0,158$ y $1,074 \text{ kg SV}_{\text{Purgados}} \cdot \text{kg}^{-1} \text{DQO}_{\text{Eliminada}}$, respectivamente).

Finalmente, la llegada del invierno acompañada de una disminución del TRC desde 40 hasta 30 días, propiciaron las condiciones operacionales más adversas. La temperatura siguió descendiendo, de modo que durante el periodo 8 no se superaron los 20 °C, siendo la T ambiental media de 17,1 °C. Por un lado, la reducción del TRC provocó la disminución del grado de hidrólisis de la componente particulada biodegradable, promoviendo su acumulación en el interior del reactor. Por otro lado, la reducción de la temperatura ocasionó la disminución de la

velocidad de hidrólisis, incrementando la proporción de SV en el interior del reactor (ver Figura 63). Ambos efectos contribuyeron a incrementar la producción de fangos hasta $0,563 \text{ kg SV}_{\text{Purgados}} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ DQO}_{\text{Eliminada}}$, que fue el valor medio máximo alcanzado durante todo el periodo experimental.

4.6.3 Influencia de la T sobre la producción de metano.

Anteriormente, en el apartado 4.4.3, se ha puesto de manifiesto la importancia de la relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$ afluente sobre la producción de biogás en biorreactores anaerobios de membrana. En la Tabla 55 se presenta la relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$ del ARU durante los diferentes periodos considerados.

Periodo	$[\text{DQO}]_T$ ($\text{mg DQO} \cdot \text{L}^{-1}$)	T (°C)	$\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$ ($\text{kg DQO} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ S-SO}_4$)			
			Media ^a	± Desv. Típica ^a	; (Q_1 - Q_3)	Rango
P1	483,2	33,2	4,78	± 1,47	; (3,44 - 7,98)	11,00
P5	582,0	20,5	6,03	± 1,57	; (4,54 - 7,97)	14,93
P6	449,8	29,2	4,68	± 1,43	; (3,46 - 7,10)	4,22
P7	665,3	23,3	6,10	± 1,45	; (4,91 - 8,49)	6,72
P8	649,7	17,1	7,35	± 1,64	; (4,64 - 10,91)	11,12

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 55. Relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$, concentración de DQO total afluente y temperatura.

En la Tabla 55 se observa que la relación $\text{DQO}_T/\text{S-SO}_4$ en el ARU afluente fue superior durante el período con T operacinal de 20 °C (P5) que durante el período con T operacional de 33 °C (P1), del mismo modo que la concentración de DQO_T , dado que la concentración de sulfato fue prácticamente constante, tal y como es posible observar en la Tabla 56.

Periodo	Media ^a - Desv. Típica ^a	; (Q_1 - Q_3)	Rango
P1	101,9 - 9,7	; (97,7 - 108,8)	34,7
P5	104,8 - 14,8	; (95,5 - 114,0)	63,0
P6	114,2 - 10,4	; (103,7 - 121,6)	30,3
P7	107,4 - 9,7	; (101,7 - 111,9)	37,8
P8	97,8 - 8,0	; (90,6 - 106,6)	19,1

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 56. Estadísticos de la concentración de sulfato afluente ($\text{mg S-SO}_4 \cdot \text{L}^{-1}$).

El análisis de la varianza no permitió rechazar la hipótesis de igualdad de medias (P-Valor = 0,056). De este modo, a pesar de que la VCO orgánica fue menor en el periodo 5, la

carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis fue aproximadamente un 36 % superior que en el periodo 1. En la Tabla 57 se presentan los estadísticos que resumen la carga orgánica disponible para ser consumida vía metanogénesis durante los diferentes periodos considerados.

Periodo	VCO (kg DQO·m ⁻³ ·d ⁻¹)	DQO _T /S-SO ₄ (kg DQO·kg ⁻¹ S-SO ₄)	Carga Orgánica Metanogénesis (kg DQO·d ⁻¹)		
			Media ^a - Desv. Típica ^a	(Q ₁ - Q ₃)	Rango
P1	0,658	4,78	0,66 - 2,37	(0,36 - 1,48)	2,57
P5	0,520	6,03	0,90 - 2,39	(0,50 - 1,67)	7,80
P6	0,344	4,68	0,58 - 1,48	(0,41 - 0,87)	0,53
P7	1,104	6,10	1,37 - 2,11	(0,90 - 2,65)	3,11
P8	1,158	7,35	1,62 - 2,00	(1,01 - 3,02)	3,20

a. Media y desviación típica geométricas

Tabla 57. Carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis, VCO y relación DQO_T/S-SO₄.

La Figura 64 muestra la evolución de la producción de metano y de la actividad metanogénica real (AMR) en el sistema, durante los periodos experimentales considerados.

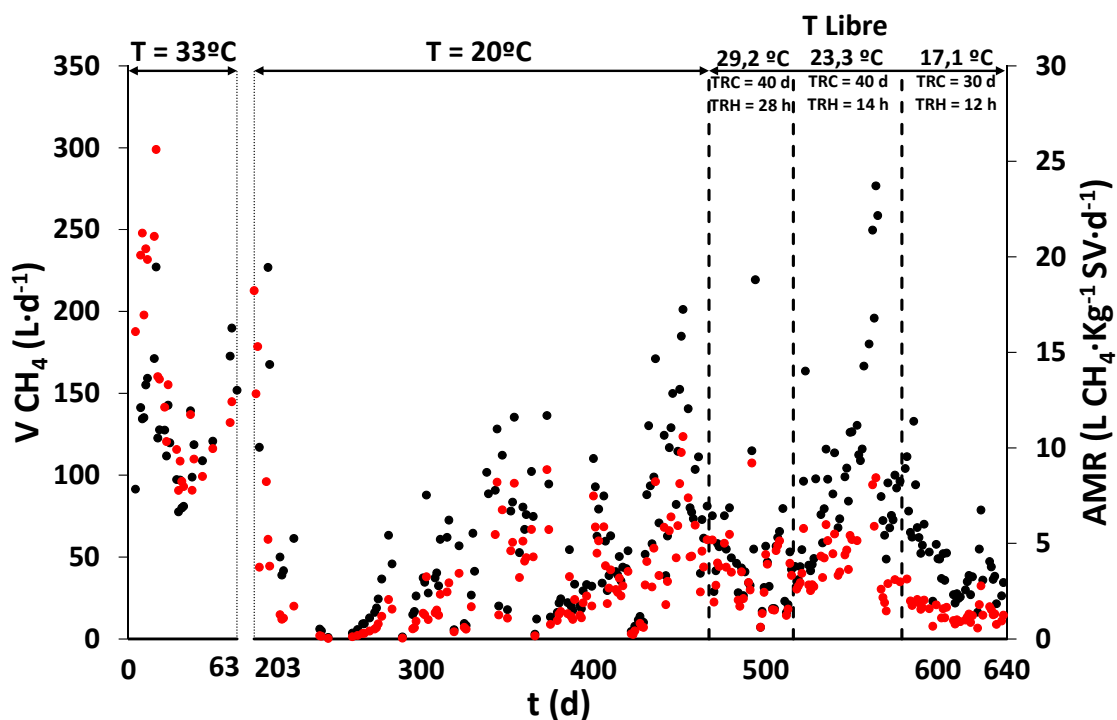


Figura 64. Evolución de la producción de metano (●) y de la AMR (●).

En esta figura se observa una rápida disminución tanto de la producción de metano como de la AMR al disminuir la temperatura desde 33 hasta 20 °C (P5), hasta prácticamente anularse alrededor del día 250 de operación. Estos resultados concuerdan con lo expuesto en el apartado 4.6.1, donde se ha sugerido que la acumulación de AGV se debió a que los organismos metanogénicos acetoclásticos fueron los más afectados por el cambio de temperatura.

Posteriormente, la actividad de los organismos metanogénicos se incrementó, coincidiendo con el consumo de los AGV acumulados (ver Figura 62). Tras un periodo de adaptación de aproximadamente 170 días, la acumulación de AGV cesó, indicando que la metanogénesis dejó de ser la etapa limitante y que la producción de metano estuvo controlada por las etapas de desintegración e hidrólisis. La Tabla 58 muestra los valores de la producción de metano y de la AMR durante los periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados.

<i>Parámetro</i>	<i>Periodo</i>	<i>Media ± Desv. Típica</i>
<i>Producción de CH₄</i> <i>(L CH₄·d⁻¹)</i>	P1	118,0 ± 36,0
	P5	107,1 ± 21,9
	P6	40,1 ± 20,5
	P7 ^a	92,2 ; (35,2-276,8)
	P8	32,6 ± 9,5
<i>AMR</i> <i>(L CH₄·kg⁻¹ SV·d⁻¹)</i>	P1	9,6 ± 1,5
	P5	6,6 ± 1,5
	P6	2,8 ± 1,4
	P7 ^a	3,5 ; (1,5-5,2)
	P8	1,3 ± 0,5

a. Mediana; (Mínimo-Máximo)

Tabla 58. Producción de metano y de la AMR en los diferentes periodos *pseudo-estacionarios* seleccionados.

De acuerdo con los valores presentados en la Tabla 58, tanto la producción de metano como la AMR disminuyeron al reducir la temperatura desde 33 (P1) hasta 20 °C (P5). El hecho de que la producción de metano resultase inferior a 20 °C (P5) que a 33 °C (P1), a pesar de que la DQO disponible para ser degradada vía metanogénesis fue un 36 % superior en el periodo 5 que en el 1, indica que la carga orgánica realmente degradada por los organismos metanogénicos fue inferior en el periodo 5. La reducción de la temperatura desde 33 hasta 20 °C ocasionó un descenso generalizado en la velocidad de crecimiento de los diferentes grupos de microorganismos que llevan a cabo la degradación anaerobia de la materia orgánica, aunque cómo se ha comentado anteriormente, la ausencia de productos intermedios durante los periodos

pseudo-estacionarios indicaron que la hidrólisis continuó siendo la etapa que controló el proceso de degradación anaerobia de la materia orgánica. Así pues, el descenso de la velocidad de hidrólisis redujo la afluencia de sustratos a las etapas posteriores, reduciendo la producción de metano. Por otra parte, la menor velocidad de hidrólisis provocó una mayor acumulación de material particulado en el interior del reactor, que incrementó el % de SV desde el 65 hasta el 70 %, aproximadamente.

La disminución de la producción de metano y el incremento en el % de SV contribuyeron a disminuir la AMR, como consecuencia de la menor afluencia de sustrato y de la menor proporción de organismos metanogénicos por kg de SV, respectivamente.

Posteriormente, coincidiendo con el periodo estival (P6), se desconectó el control de temperatura y se redujo el TRC hasta 40 días. Por una parte, el incremento de la temperatura desde 20 hasta aproximadamente 30 °C, incrementó la velocidad de hidrólisis, aumentando la proporción en la que la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis estuvo realmente disponible para los organismos metanogénicos. De hecho, el porcentaje de SV en el interior del sistema se redujo desde el 70 hasta el 66 %, aproximadamente. La ausencia de productos intermedios en el efluente durante el periodo 6 indicó que la hidrólisis fue la etapa limitante. Por otra parte, la reducción del TRC desde 70 hasta 40 días, redujo el grado de hidrólisis del material particulado biodegradable, que junto con la diferente composición del afluente, contribuyeron a reducir la proporción en la que la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis estuvo realmente disponible para los organismos metanogénicos. Como resultado de los cambios en el TRC, la T y la composición del afluente, tanto la producción de metano como la actividad metanogénica real se redujeron durante el periodo 6.

Tras el periodo estival, la temperatura ambiental media descendió desde 29,2 hasta 23,3 °C durante el periodo 7, provocando un descenso de la velocidad de hidrólisis. Sin embargo, el TRH se redujo desde aproximadamente 28 horas, durante el periodo 6, hasta aproximadamente 14 horas, incrementando la VCO. Además, la composición del ARU se modificó, recuperando las características típicas preestivales. Ambos efectos contribuyeron a incrementar la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis (ver Tabla 57) promoviendo un incremento en la producción de metano y la AMR, a pesar de la disminución de la temperatura. Hacia el final de periodo 7 se observó una reducción de la producción de metano y de la AMR

que estuvieron relacionadas, además de con la bajada de la temperatura, con una disminución de la VCO (ver Figura 58). Como se ha puesto de manifiesto en el apartado 4.6.2, el periodo 7 resultó ser un periodo de transición entre los periodos estival e invernal, por lo que los estadísticos descriptivos seleccionados para resumir la producción de metano y la actividad metanogénica real del fango han sido la mediana, y el mínimo y el máximo.

Durante el periodo invernal (periodo 8), la temperatura siguió descendiendo, hasta aproximadamente 15 °C de media diaria (ver Figura 56). Adicionalmente, con la finalidad de establecer unas condiciones operacionales más adversas, se redujo el TRC desde 40 hasta 30 días, manteniendo el TRH en 12 horas aproximadamente. El descenso de la temperatura promovió la disminución de la velocidad de hidrólisis, mientras que la reducción del TRC promovió el descenso del grado de hidrólisis del material particulado biodegradable, tal y como se ha sugerido en el apartado 4.5.2, contribuyendo ambos efectos a reducir la afluencia de sustratos hacia las etapas posteriores de la degradación anaerobia de la materia orgánica. A pesar de la menor disponibilidad de sustrato para los organismos metanogénicos, se observó una acumulación de AGV al inicio del periodo 8, indicando que los organismos metanogénicos fueron los más desfavorecidos al disminuir la temperatura, del mismo modo que al reducir la T operacional desde 33 hasta 20 °C (P5). En esta ocasión, la acumulación de AGV cesó tras 45 días de operación bajo las condiciones operacionales fijadas en el periodo 8, indicando la adaptación de los organismos metanogénicos a las nuevas condiciones operacionales y ambientales. De este modo, la producción de metano disminuyó hasta aproximadamente 33 L CH₄·d⁻¹. Por otra parte, el descenso de la temperatura y del TRC promovieron la acumulación de material particulado biodegradable en el interior del reactor. El % de SV en el interior del reactor se incrementó desde el 70 %, en el periodo con T ambiental media de 23,3 °C (P7), hasta el 74 %, en el periodo con T ambiental media de 17,1 °C (P8). Del mismo modo que al reducir la temperatura desde 33 hasta 20 °C (P5), la menor producción de metano y la mayor proporción de SV en el interior del reactor, contribuyeron a reducir la actividad metanogénica real del fango hasta 1,3 L CH₄·kg SV·d⁻¹, como consecuencia de la menor disponibilidad de sustrato por parte de los organismos metanogénicos y de la menor proporción de organismos metanogénicos por kg de SV en el interior del reactor, respectivamente.

La Figura 65 muestra los datos de eficiencia de recuperación de metano frente a la producción de biogás por litro de ARU tratada a 33 (periodo 1) y a 20 °C (periodo 5), así como su estimación a partir de la Ecuación 66.

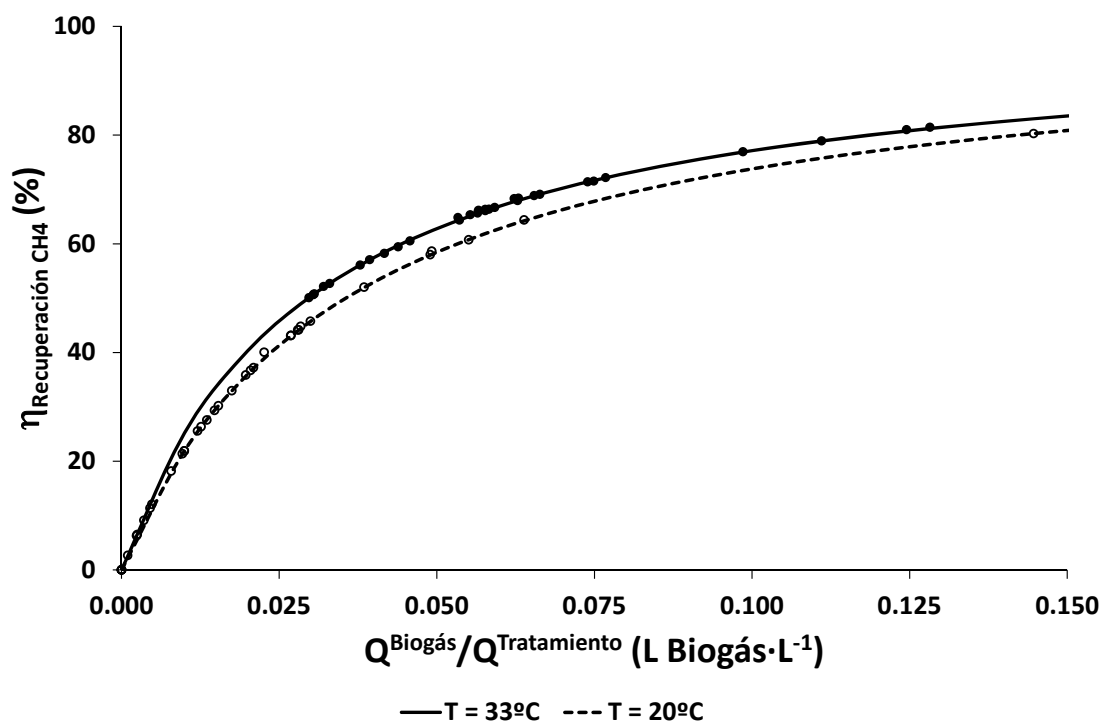


Figura 65. Eficiencia de recuperación de metano a 33 (•) y a 20 (◦) °C.

En esta figura se observa que la eficiencia de recuperación de metano para una relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{tratamiento}}$ determinada, se redujo al disminuir la temperatura, debido a la mayor solubilidad de los gases. También llama la atención que únicamente el 12% de los datos experimentales a 20 °C, estuvieron asociados a una producción de biogás por litro de ARU tratada superior a 0,05 L Biogás·L⁻¹, mientras que a 33 °C la proporción se incrementó hasta un 72 %. Estos resultados demuestran que la temperatura influyó sobre la eficiencia de recuperación de metano con el biogás, no solamente al modificar la solubilidad, sino como consecuencia de la diferente producción de metano, debido a la modificación de la actividad metabólica de los diferentes grupos de microorganismos involucrados en la degradación anaerobia metanogénica de la materia orgánica.

La Figura 66 muestra la evolución de la eficiencia de recuperación de metano, junto con la producción de biogás por litro de ARU tratada durante los diferentes periodos considerados.

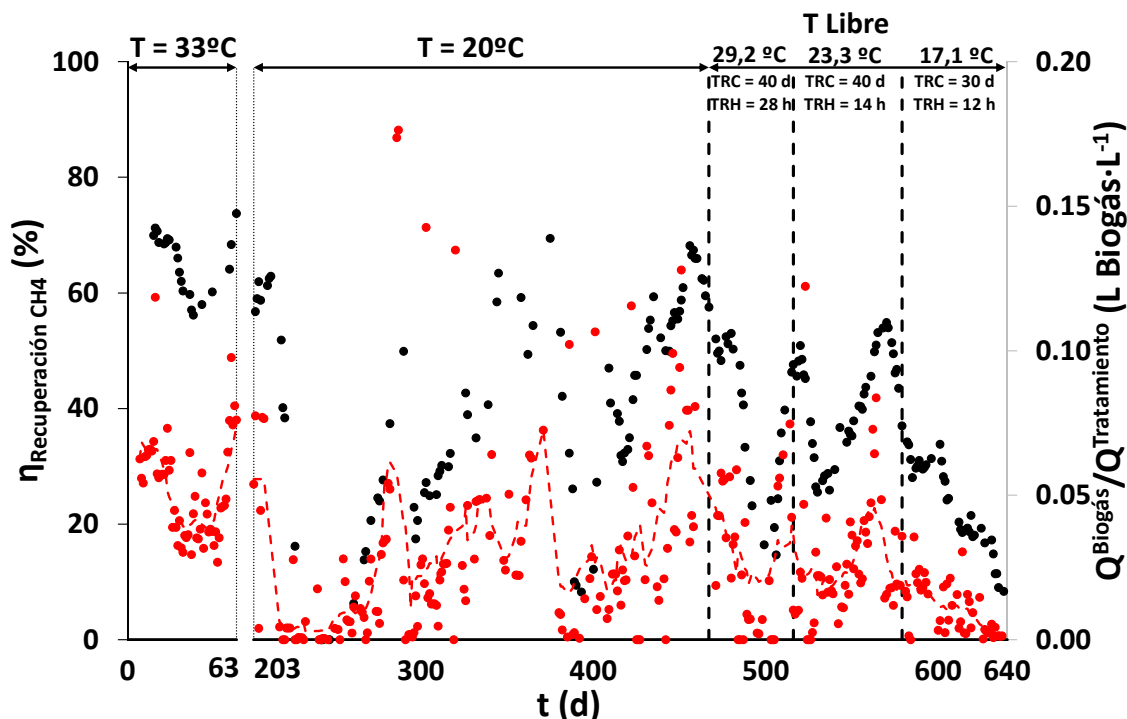


Figura 66. Evolución de la eficiencia de recuperación de metano (●) y de la relación $Q^{Biogás}/Q^{Tratamiento}$ (●) durante los diferentes periodos considerados. (---)Media móvil de la relación $Q^{Biogás}/Q^{Tratamiento}$.

Además, en la Tabla 59 se presentan la relación $Q^{Biogás}/Q^{Tratamiento}$ y la eficiencia de recuperación de metano durante los diferentes periodos considerados.

Parámetro	Periodo	Media ± Desv. Típica
$Q^{Biogás}/Q^{Tratamiento}$ (L Biogás·L ⁻¹)	P1	0,068 ± 0,018
	P5	0,058 ± 0,008
	P6	0,032 ± 0,029
	P7 ^a	0,022 ; (0,000-0,122)
	P8	0,006 ± 0,005
η^{CH_4} Recuperación	P1	67,5 ± 7,4
	P5	56,8 ± 9,8
	P6	42,7 ± 29,2
	P7 ^a	40,4 ; (25,5-54,9)
	P8	14,0 ± 10,2

a. Mediana; (Mínimo-Máximo)

Tabla 59 Eficiencia de recuperación de metano y relación $Q^{Biogás}/Q^{tratamiento}$.

En la Figura 66 se observa que la producción de biogás por litro de ARU tratada se redujo drásticamente al reducir la temperatura desde 33 hasta 20 °C (P5), debido a la disminución de la producción de metano y al aumento de su solubilidad. Tras adaptarse los organismos metanogénicos a las nuevas condiciones de temperatura, la hidrólisis volvió a ser la etapa limitante, tal y como se ha expuesto en el apartado 4.6.2. Sin embargo, la disminución en la velocidad de hidrólisis al reducir la temperatura, ocasionó una disminución de la carga orgánica degradada por los organismos metanogénicos, de manera que la producción de biogás por litro de ARU tratada se redujo desde 0,068 hasta 0,058 L Biogás·L⁻¹ en el periodo *pseudo-estacionario*. La disminución de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ provocó que la eficiencia de recuperación de metano con el biogás disminuyera desde el 68 hasta el 57 % del metano total producido.

Tras desconectar el control de temperatura (P6), la temperatura se incrementó desde 20 hasta aproximadamente 30 °C debido a la proximidad del periodo estival, incrementando la actividad de los diferentes grupos de microorganismos. Sin embargo, la producción de biogás por litro de ARU tratada disminuyó hasta 0,032 L Biogás·L⁻¹, reduciendo la eficiencia de recuperación de metano con el biogás hasta el 43 % del metano total producido. A pesar del aumento de la temperatura, la modificación de la composición del afluente (debido a la menor componente industrial y la ausencia de puntas de carga) y la reducción del TRC, contribuyeron a reducir la carga orgánica disponible para los organismos metanogénicos.

El incremento del caudal de tratamiento al inicio del periodo 7, para reducir el TRH desde 28 hasta 14 horas, ocasionó un descenso brusco de la producción de biogás por litro de ARU tratada. Por otra parte, el incremento de la VCO, como consecuencia de la disminución del TRH y de la recuperación de las características pre-estivales del ARU, promovió un incremento de la DQO disponible para los organismos metanogénicos, de modo que la producción de biogás por litro de ARU tratada se incrementó progresivamente. Hacia el final del periodo 7, la producción de biogás por litro de ARU tratada se redujo como consecuencia de la disminución de la VCO (ver Figura 58). La eficiencia de recuperación de metano con el biogás exhibió una tendencia similar a la de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ durante todo el periodo. Debido al carácter transitorio del periodo 7, los estadísticos descriptivos de la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$ y de la

eficiencia de recuperación de metano con el biogás presentados en la Tabla 59 son la media y los valores mínimo y máximo.

Anteriormente, en este mismo apartado, se ha expuesto que el descenso de la temperatura y la reducción del TRC durante el periodo invernal (periodo 8), provocaron la disminución de la velocidad de hidrólisis y del grado de hidrólisis del material particulado biodegradable, respectivamente, de modo que la DQO disponible para los organismos metanogénicos se redujo considerablemente. Además, del mismo modo que en el periodo 5, la acumulación de AGV indicó que la metanogénesis fue la etapa más desfavorecida al descender la temperatura. Como resultado del descenso de la temperatura y de la reducción del TRC en el periodo 8, la producción de biogás por litro de ARU tratada se redujo hasta $0,006 \text{ L Biogás} \cdot \text{L}^{-1}$, provocando la disminución de la eficiencia de recuperación de metano hasta el 14 %.

4.7 Influencia de las condiciones operacionales sobre el proceso de hidrólisis.

En el apartado 3.5.2 se ha aplicado el balance general de DQO al caso particular de un AnMBR. Dado que este tipo de sistemas tienen la capacidad de retener y acumular la fracción particulada del afluente, se ha propuesto que la DQO purgada depende del grado en que la DQO particulada retenida resulte hidrolizada. Además, en el apartado 3.5.3, se ha puesto de manifiesto el carácter complementario de la formación de productos y de la producción de fangos, siempre que la hidrólisis resulte ser la etapa limitante, en cuyo caso, la producción de metano también dependerá de la extensión de la etapa de hidrólisis. Así pues, resulta interesante analizar cómo afectaron los diferentes parámetros operacionales estudiados a la etapa de hidrólisis.

En el apartado 3.6 se ha puesto de manifiesto que es posible describir la velocidad de hidrólisis a partir de la concentración de SV en el interior del reactor, resultando la constante de hidrólisis de los SV, $k_{H,Ap}$, una función de la constante de hidrólisis de los sólidos suspendidos biodegradables (k_H) y de la fracción biodegradable de los sólidos suspendidos volátiles en el interior del reactor (f_{BD}). La constante de hidrólisis de primer orden (k_H), refleja el efecto acumulativo de todos los procesos involucrados en el proceso completo de hidrólisis enzimática, mientras que la fracción biodegradable de los sólidos suspendidos volátiles dependerá de la fracción biodegradable acumulada en el interior del reactor. Ambos parámetros dependerán de las características del ARU afluente y de las condiciones operacionales fijadas en el sistema, por lo que a continuación se realiza un estudio de la influencia de los diferentes parámetros operacionales sobre el proceso de hidrólisis enzimática.

4.7.1 Influencia del TRH sobre el proceso de hidrólisis.

Para evaluar la influencia del TRH sobre el proceso de hidrólisis, se estimó la constante de hidrólisis de los SV a partir del ajuste por mínimos cuadrados de los datos analíticos de concentración de SV y los estimados a partir de los balances de SV (Ecuación 53) y SNV (Ecuación 55) durante los periodos 1, 2, 3 y 4, en los que se operó a distintos TRH. Durante estos periodos, el TRC se fijó en 70 días y la temperatura permaneció estable alrededor de 33°C.

La Figura 67 muestra los ajustes de los datos experimentales de concentración de SV y SNV y del % de SV, con los datos estimados a partir de los balances de SV y SNV.

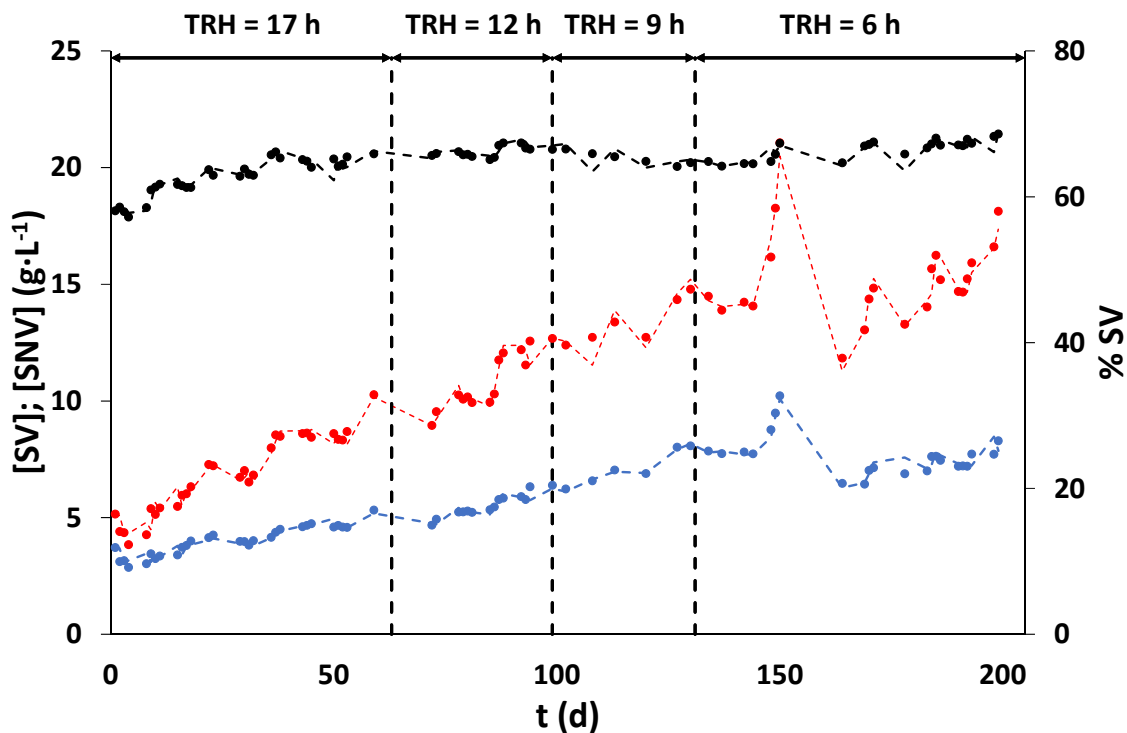


Figura 67. Evolución de la concentración de SV (●), SNV (●) y % SV (●). Las líneas representan los valores estimados a partir de los balances de SV y SNV.

La Tabla 60 muestra los valores estimados para la constante de hidrólisis de los SV y los valores medios de la producción de fangos.

<i>Periodo</i>	<i>TRH (h)</i>	<i>k_{H,Ap}</i>	<i>Producción de fangos</i>
P1	16,6	0,0186	0,201
P2	11,9	0,0096	0,262
P3	9,3	0,0023	0,278
P4	5,6	0,0200	0,203

Tabla 60 Constante de hidrólisis de los SV (d⁻¹) y producción de fangos (kg SV_{Purgados}·kg⁻¹ DQO_{Eliminada}) durante los diferentes periodos considerados.

La Tabla 60 muestra que la constante de hidrólisis de los SV fue similar durante los periodos de mayor y menor TRH (periodos 1 y 4, respectivamente), sugiriendo que el TRH no afectó significativamente al proceso de hidrólisis. Por otro lado, la constante de hidrólisis de los SV

durante los periodos 2 y 3 fue inferior que durante los periodos 1 y 4, obteniéndose el valor más bajo en el periodo 3, que se correspondió con la época estival.

Dado que las condiciones operacionales fueron similares durante los diferentes periodos, es posible atribuir la disminución de la constante de hidrólisis de los SV durante la época estival a la diferente composición del ARU afluente. Estos resultados concuerdan con la mayor producción de fangos observada durante los periodos 2 y 3, cuando la componente mayoritaria del ARU fue la doméstica, como consecuencia de la disminución de la actividad industrial durante el periodo estival. Así pues, la disminución de la constante de hidrólisis de los SV durante el periodo estival, indicó que la biodegradabilidad de la componente doméstica del ARU fue menor que la de la componente industrial.

En el apartado 4.4.3 se ha puesto de manifiesto que para que la materia orgánica biodegradable pueda ser degradada hasta los productos finales de la degradación anaerobia, debe sufrir una serie de transformaciones (i.e., desintegración e hidrólisis, acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis), cuya extensión depende de las condiciones operacionales fijadas. Dado que en los periodos *pseudo-estacionarios* considerados, no se apreció acumulación de productos intermedios, es posible asumir que la hidrólisis fue la etapa que controló la producción de metano, por lo que el rendimiento a metano de la DQO disponible para ser degradada vía metanogénesis ofrece una idea del grado en el que la DQO disponible para ser degradada vía metanogénesis fue hidrolizada.

4.7.2 Influencia del TRC sobre el proceso de hidrólisis.

Para evaluar la influencia del TRC sobre el proceso de hidrólisis, se estimó la constante de hidrólisis de los SV mediante el ajuste de los datos experimentales de concentración de SV en los subperiodos *pseudo-estacionarios* de los periodos 5, 9 y 10, y los datos estimados a partir de los balances de SV y SNV. Durante los periodos considerados, el TRC varió entre 70 y 30 días, mientras que la temperatura se mantuvo constante alrededor de 20 °C. El TRH en el periodo 5 fue mayor que en los periodos 9 y 10, sin embargo, el TRH no presentó una influencia significativa sobre el proceso de hidrólisis en el rango de valores estudiado, tal y como se ha demostrado en el apartado 4.7.1.

En la Figura 68 se representan los datos experimentales de concentración de SV y SNV, y del % SV con los datos estimados a partir de los balances de SV y SNV, para los diferentes TRC estudiados.

La Tabla 61 muestra los valores estimados de la constante de hidrólisis junto con los de producción de fangos.

<i>Periodo</i>	<i>TRC</i>	<i>$k_{H,Ap}$</i>	<i>Producción de fangos</i>
P5	70	0,0148	0,370
P9	30	0,0026	0,507
P10	40	0,0055	0,423

Tabla 61. Constante de hidrólisis de los SV (d^{-1}) y producción de fangos ($kg\ SV_{Purgados} \cdot kg^{-1}\ DQO_{Eliminada}$).

Los resultados mostrados en la Tabla 61 indican que la constante de hidrólisis de los SV se redujo al disminuir el TRC. Estos resultados concuerdan con el incremento observado en la producción de fangos al disminuir el TRC, confirmando lo expuesto en el apartado 4.5.2. En dicho apartado se sugiere que la influencia del TRC sobre la producción de fangos estuvo relacionada con el tiempo de permanencia del material particulado en el interior del sistema, dado que al incrementarse el TRC, también se incrementó el tiempo de contacto entre dicho material y las enzimas que llevan a cabo el proceso hidrolítico, aumentando el grado de hidrólisis alcanzado.

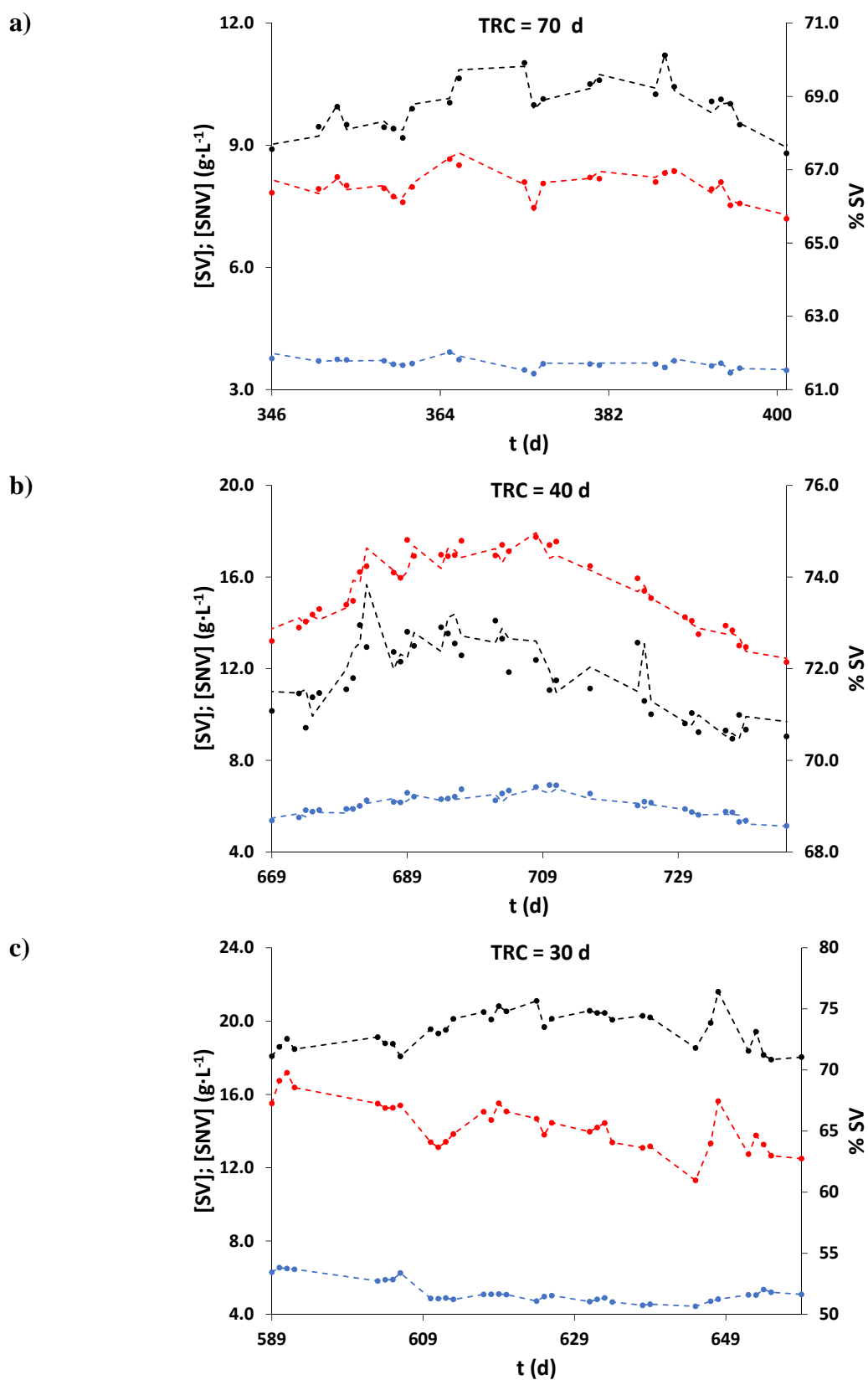


Figura 68. Evolución de la concentración de SV (●), SNV (●) y % SV (●) a TRC de (a) 70, (b) 40 y (c) 30 días. Las líneas representan los valores estimados a partir de los balances de SV y SNV.

4.7.3 Influencia de la T sobre el proceso de hidrólisis.

Para llevar a cabo el estudio de la influencia de la temperatura sobre la hidrólisis, se compararon las constantes de hidrólisis de los SV estimadas para los periodos 4 y 5. Durante los periodos considerados, el TRC permaneció constante en 70 días, mientras que la temperatura se redujo desde 33 hasta 20 °C. El TRH en el periodo 5 fue mayor que en el periodo 4, sin embargo, el TRH no tuvo un efecto significativo sobre la velocidad de hidrólisis, tal y como se ha demostrado en el apartado 4.7.1.

En Figura 69 se representan los datos experimentales de concentración de SV y SNV, y del % SV con los datos estimados a partir de los balances de SV y SNV, para los diferentes TRC estudiados.

La constante de hidrólisis de los SV a 20 °C (0.0148 d⁻¹) experimentó un descenso del 26 % con respecto a la constante a 33 °C (0.0200 d⁻¹), justificando el incremento de la producción de fangos observada entre los periodos 4 y 5.

Para cuantificar la influencia de la temperatura sobre la velocidad de hidrólisis, se intentó ajustar los datos obtenidos para la constante de hidrólisis de los SV a 20 y a 33 °C a una ecuación tipo Arrhenius, dada por la Ecuación 67:

$$k_{H,Ap} = A \cdot e^{-\frac{E_a}{R \cdot T}} \quad \text{Ecuación 67}$$

Donde A es el factor preexponencial o de frecuencia (d⁻¹), E_a es la energía de activación (J·mol⁻¹) y R es la constante universal de los gases (8.3144 J·mol⁻¹·K⁻¹). Teniendo en cuenta que únicamente se disponía de valores para la constante de hidrólisis de los sólidos volátiles a dos temperaturas diferentes, los valores obtenidos para el factor preexponencial y la energía de activación para la hidrólisis de los SV fueron 17.78 d⁻¹ y 17.28 kJ·mol⁻¹, respectivamente.

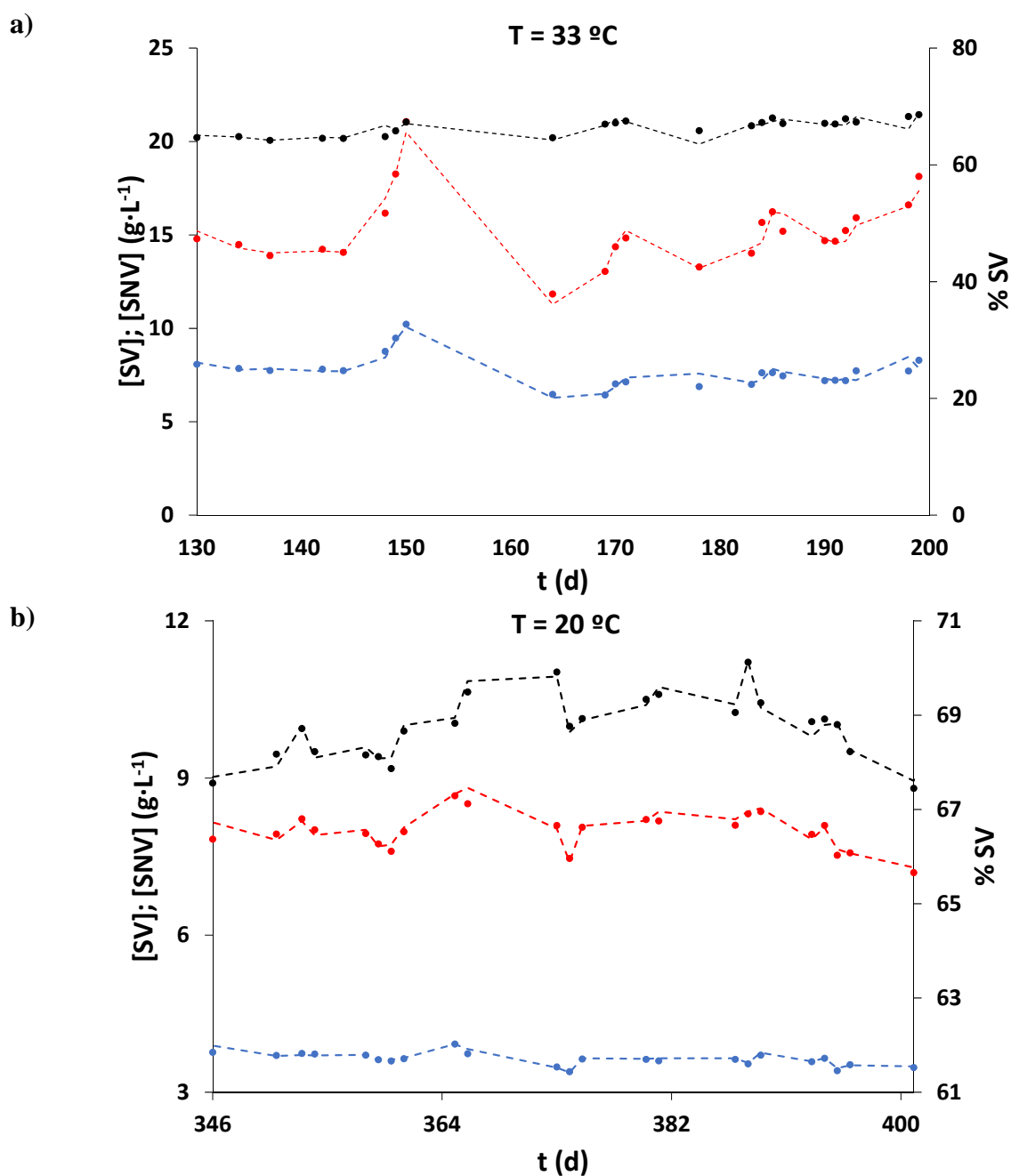


Figura 69. Evolución de la concentración de SV (●), SNV (●) y % SV (●) a temperatura de (a) 33 y (b) 20 °C. Las líneas representan los valores estimados a partir de los balances de SV y SNV.

CONCLUSIONES

CAPITULO 5. CONCLUSIONES.

A continuación se exponen las principales conclusiones extraídas del presente trabajo de tesis, en el que se ha estudiado la influencia del tiempo de retención hidráulico, el tiempo de retención celular y la temperatura sobre el funcionamiento del proceso de tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas en un AnMBR a escala demostración. Las conclusiones se han agrupado en función del estudio al que hacen referencia.

A partir del análisis general de la metodología desarrollada para el seguimiento del proceso, es posible concluir que:

- El método de reflujado cerrado colorimétrico, empleado para la determinación de la DQO del efluente, es capaz de oxidar el metano y el sulfuro disuelto, de modo que una fracción del valor de la DQO medida en el efluente estará asociada a productos finales de la degradación anaerobia.
- El uso del biogás generado para la homogeneización del licor mezcla favorece la transferencia de materia entre las fases líquido y gas, facilitando que se alcance el equilibrio entre ambas, independientemente de la temperatura y de la concentración de metano en la fase gas, por lo que resulta posible utilizar las leyes de equilibrio para determinar la concentración de metano en la fase líquida, a partir de su concentración en la fase gas.
- El metano es un potente gas de efecto invernadero, y los sulfuros generan problemas de olores, toxicidad y corrosión, por lo que es necesario evitar su emisión incontrolada mediante su eliminación y/o recuperación del efluente de sistemas de tratamiento anaerobio de ARU.
- La producción específica de fangos por kg de DQO eliminada puede ser un buen indicador de la capacidad del proceso biológico para hidrolizar la DQO suspendida, que de forma general será representativa de la capacidad del proceso biológico para degradar la materia orgánica hasta los productos finales de la degradación anaerobia.
- La eficiencia de recuperación de metano se incrementa al incrementarse la producción de biogás por litro de ARU tratada ($Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$), debido a que una mayor proporción del metano producido se recupera con el biogás.

A partir de la caracterización del ARU afluente al sistema AnMBR, y de la comparación de sus características principales durante los diferentes periodos, es posible extraer las siguientes conclusiones:

- Las características del ARU afluente presentaron una elevada variabilidad a cualquier escala temporal. Además, la EDAR del Barranco del Carraixet recibió frecuentemente descargas puntuales que provocaron un aumento de la carga afluente, de carácter generalmente breve pero intenso. Estas descargas provocaron que la fracción particulada, las componentes orgánicas solubles (AGV, DQOs y DBOs), y la alcalinidad, presentaran una distribución de frecuencias Log-Normal.
- La aplicación del modelo de regresión lineal simple puso de manifiesto la existencia de una relación lineal entre los SST y la DQO_T del ARU afluente, y entre los SV y la DQO_T del licor mezcla. Dada la mayor frecuencia con la que se analizaron los SST del ARU afluente y los SV del licor mezcla, dicha correlación permitió disponer de un mayor número de valores de concentración de DQO_T sin necesidad de realizar un mayor número de analíticas.
- Durante los periodos estivales, la componente doméstica fue mayoritaria en el ARU afluente y presentó las siguientes diferencias con respecto al resto de periodos:
 - Ausencia de puntas de carga orgánica.
 - Menor biodegradabilidad de la DQO soluble, que incrementó la DQO residual en el efluente.
 - Menor $DQO_{Suspendida}$ y menor relación $DQO_{Suspendida}/SSV$, lo que generó una mayor acumulación de SSV por unidad de DQO eliminada, incrementando la producción de fangos.

A partir del estudio de la influencia del tiempo de retención hidráulico sobre el funcionamiento del proceso, es posible extraer las siguientes conclusiones:

- El funcionamiento del proceso biológico se vio afectado por sobrecargas orgánicas, pero no por sobrecargas hidráulicas, en el rango de TRH estudiado.
- La disminución del TRH por debajo de 5 horas incrementó la concentración de ST en el interior del reactor hasta un valor que ocasionó la operación de las membranas

bajo condiciones supracríticas de filtración ($31 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), confirmando la proximidad al TRH mínimo que limitaría el proceso físico a TRC de 70 días y temperatura de $33 \text{ }^\circ\text{C}$.

- En el rango de valores estudiado, el TRH no ejerció una influencia significativa sobre la eficiencia de eliminación de DQO, sobre la producción de fangos por kg de DQO eliminada, sobre la actividad metanogénica real (AMR) del fango, ni sobre la eficiencia de recuperación de metano que, por otra parte, sí que se vieron influenciadas por la composición del afluente. Sin embargo, el TRH afectó a la producción de metano, dado que modificó la carga orgánica disponible para ser degradada vía metanogénesis

A partir del estudio de la influencia del tiempo de retención celular sobre el funcionamiento del proceso, es posible extraer las siguientes conclusiones:

- Dada la capacidad de la membrana para retener la materia orgánica particulada, no se observó una influencia significativa del TRC sobre la eficiencia de eliminación de DQO en el rango de valores estudiado.
- El incremento del tiempo de permanencia del material particulado en el interior del sistema, incrementó el grado de hidrólisis alcanzado.
- El incremento del TRC ocasionó una disminución de la producción específica de fangos por kg de DQO eliminada, y un aumento de la producción de metano, en el rango de valores estudiados (30-70 días). Ambos parámetros contribuyeron a incrementar la actividad metanogénica real del fango.
- La mayor producción de metano al aumentar el TRC, incrementó la relación $Q^{\text{Biogás}}/Q^{\text{Tratamiento}}$, de modo que la eficiencia de recuperación de metano se incrementó con el TRC.

A partir del estudio de la influencia de la temperatura sobre el funcionamiento y la estabilidad del proceso, es posible extraer las siguientes conclusiones:

- La reducción de la temperatura desde 33 hasta $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ocasionó un descenso generalizado en la velocidad de crecimiento de los diferentes grupos de microorganismos que llevan a cabo la degradación anaerobia de la materia orgánica.

- La acumulación temporal de AGV en el sistema AnMBR, indicó que los procesos en los que se consumen estos productos intermedios resultaron más desfavorecidos a causa de la reducción de la temperatura, que los procesos en los que se producen, por lo que la hidrólisis dejó de ser la etapa limitante durante este lapso de tiempo.
- La reducción de sulfato continuó siendo completa tras disminuir la temperatura, apuntando a la metanogénesis acetoclástica como la etapa más desfavorecida por la disminución de la temperatura en un AnMBR.
- El agotamiento total del sulfato observado durante prácticamente todo el periodo experimental puso de manifiesto la clara ventaja competitiva de los organismos sulfatorreductores, frente a los que llevan a cabo la degradación metanogénica de la materia orgánica mientras hubo sulfato presente. Tras consumirse el sulfato, la DQO restante estuvo disponible para ser degradada exclusivamente vía metanogénesis.
- La elevada relación alcalinidad/DQO en el afluente, junto con el hecho de que una parte significativa de los AGV fue consumida por los organismos sulfatorreductores acetoclásticos (que resultaron menos afectados por la disminución de la temperatura), contribuyeron a evitar la acidificación irreversible del sistema AnMBR.
- La temperatura no presentó una influencia significativa sobre la calidad del efluente en el rango de valores estudiado, por lo que las diferencias encontradas en la eficiencia de eliminación de DQO se atribuyeron a la diferente composición del afluente.
- La disminución de la velocidad de hidrólisis al reducir la temperatura promovió una mayor acumulación de material particulado biodegradable en el interior del sistema, provocando un aumento en la producción de fangos y una disminución de la producción de metano, que se tradujo en una disminución de la AMR.
- La disminución de la temperatura influyó sobre la eficiencia de recuperación de metano con el biogás, no solamente al incrementar su solubilidad, sino también al reducir su producción.

A partir del estudio de la influencia de los diferentes parámetros operacionales y de las características del afluente sobre el proceso de hidrólisis enzimática, es posible extraer las siguientes conclusiones

- La componente doméstica del ARU presentó una menor biodegradabilidad que la componente industrial, lo que se reflejó en un menor valor de la constante de hidrólisis de los sólidos volátiles durante los periodos estivales.
- El TRH no presentó una influencia significativa sobre el proceso de hidrólisis.
- La constante de hidrólisis de los SV se redujo al disminuir el TRC, confirmando que la influencia del TRC sobre la producción de fangos estuvo relacionada con el tiempo de permanencia del material particulado en el interior del sistema.
- La constante de hidrólisis experimentó un descenso del 26 % al reducirse la temperatura desde 33°C hasta 20 °C, justificando el incremento de la producción de fangos.

Los resultados obtenidos en esta tesis, demuestran la viabilidad del tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas en climas templados de latitudes medias mediante la aplicación de la tecnología AnMBR. Las membranas comerciales empleadas en la planta a escala demostración en la que se ha llevado a cabo este estudio posibilita que las conclusiones obtenidas sean directamente aplicables a escala industrial.

CONCLUSIONS

The main conclusions drawn from this thesis, including the study of the influence of the hydraulic retention time (HRT), the solids retention time (SRT), and temperature, on the anaerobic treatment of real municipal wastewater in a demonstration-scale AnMBR, are as follows. Conclusion have been grouped depending on the study to which they relate.

The following conclusions have been drawn from the general analysis of the methodology developed for the process monitoring:

- The colorimetric closed reflux method for COD determination oxidizes dissolved methane and sulfide. Therefore, the effluent measured COD value includes the final products of the anaerobic organic-matter degradation.
- The equilibrium between both liquid and gas phases was achieved since the biogas-assisted mixing of the mixed liquor enhanced the liquid-gas phase mass transfer, regardless of temperature and methane concentration at the gas phase. Therefore, dissolved methane concentration can be determined by using the equilibrium law from the methane gas-phase concentration.
- Methane is a powerful greenhouse gas, and sulfides bring about odor problems, toxicity and corrosion. Therefore, uncontrolled emission of these gases must be avoided by means of remotion and/or recovery from the effluent of anaerobic wastewater treatment systems.
- Specific sludge production per kg of removed COD indicates the capability of the biological process to hydrolyze suspended COD, which will generally stand for the process capability to degrade organic matter until the end-products of anaerobic degradation.
- Methane recovery efficiency increases with the specific bioga production per litre of treated sewage ($Q^{\text{Biogas}}/Q^{\text{Treatment}}$), since a higher fraction of the produced methane is recovered with the biogas.

The following conclusions have been drawn from the influent sewage characterization and the comparison of its main features between the different experimental periods:

- Influent municipal wastewater features exhibited high variability at any temporary scale. Furthermore, the Barranco del Carraixet wastewater treatment plant frequently received punctual peak loads, which caused both brief and intense increases in the influent loads. Such peak loads mainly affected the particulate fraction, the organic soluble components (VFA, CODs, and BODs), and the alkalinity, which displayed Log-Normal frequency distributions.
- The application of the linear regression model evidenced a high correlation between the influent total COD and suspended solids, as well as between the mixed liquor volatile solids and total COD. Therefore, given the higher frequency for solids determination, these correlation were used to estimate further total COD data.
- The influent wastewater during summer period was mostly domestic, and showed the following differences with regard to the rest of the periods:
 - No peak loads were observed.
 - Lower biodegradability of soluble COD, which increased the effluent residual COD.
 - Lower suspended COD and suspended COD/Volatile suspended solids ratio that resulted in a higher volatile suspended solids accumulation per COD removed, which increased the sludge production.

The following conclusions have been drawn from the study of the influence of the hydraulic retention time on the process performance:

- The biological process performance was not significantly affected by hydraulic overloads, but by organic overloads, within the range of studied HRT values.
- The high total solids concentration value achieved in the reactor for HRT lower than 5 hours ($31 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) caused membrane to operate under supra-critical filtration conditions, which indicated the proximity of the minimum HRT that would limit the physical process at 70 days of SRT and 33°C .
- HRT did not exert a significant influence on the COD removal efficiency, the specific sludge production per kg of COD removed, the real methanogenic activity (RMA) or on the methane recovery efficiency, which on the other hand were influenced by the

influent composition. However, methane production was influenced by HRT by modifying the available organic load for methanogenesis.

The following conclusions have been drawn from the study of the influence of the solids retention time on the process performance:

- As a result of membrane capacity for particulate matter retention, any significant influence of SRT on the COD removal efficiency was observed within the range of studied SRT values.
- The higher retention time for particulate matter in the system increased the hydrolysis degree.
- Specific sludge production per kg of removed COD was decreased by a SRT increase. On the other hand, methane production was increased by an increase of SRT. Both specific sludge production and methane production contributed to increase the RMA.
- The biogas flow-rate/treatment flow-rate ratio, and hence the methane recovery efficiency, increased with methane production, which in turn increased with SRT.

The following conclusions have been drawn from the study of the influence of temperature on the process performance and stability:

- A temperature reduction from 33°C to 20°C brought about a general decrease in the growth rate of the different groups of microorganisms carrying out the anaerobic degradation of organic matter.
- A temporary accumulation of VFA in the AnMBR system suggested that the VFA-producing processes were more negatively affected by temperature reduction than the VFA-consuming processes. Therefore, hydrolysis stopped being the limiting process.
- Sulfate reduction was still complete after temperature reduction, pointing to acetoclastic methanogenesis as the most negatively affected process by the temperature reduction.
- Total sulfate depletion observed during mostly the whole experimental period stated the competitive advantage of sulfate reducing organisms over those carrying out methanogenic degradation of organic matter, provided sulfate was present. After

sulfate depletion, the remaining COD was exclusively available for methanogenic degradation.

- Irreversible acidification of the AnMBR system was mainly prevented by the high influent alkalinity/COD ratio, as well as by a significant VFA consumption by acetoclastic sulphate reducers, which were less negatively affected by temperature.
- Effluent quality was not significantly affected by temperature within the studied range. Therefore, differences found in the COD removal efficiency were attributed to the different influent composition.
- Temperature reduction brought about a decrease in the hydrolysis rate that promoted a further accumulation of biodegradable particulate matter in the system. Therefore, an increase in the sludge production and a decrease in the methane production were observed, which resulted in a decrease of the real methanogenic activity.
- Methane recovery efficiency was affected by temperature by means of both affecting the gases solubility and the methane production.

The following conclusions have been drawn from the study of the influence of the different operational parameters, and the influent features over the enzymatic hydrolysis process:

- The domestic component of the influent exhibited a lower biodegradability than the industrial one. The lower biodegradability of the influent resulted in a lower value of the volatile solids hydrolysis constant during summer periods.
- The hydrolysis process was not significantly influenced by the HRT reduction.
- The volatile solids hydrolysis constant dropped with a reduction of the SRT, supporting that the influence of SRT on the sludge production was related to the higher contact time between the particulate matter and the enzymes carrying out the hydrolytic process.
- The volatile solids hydrolysis constant dropped by 26 % when temperature was reduced from 33°C to 20 °C, which accounted for the increase in the excess sludge production.

The results obtained in this thesis show the feasibility of anaerobic treatment of municipal wastewater in middle-latitude temperate climates by means of the application of AnMBR

technology. This study has been carried out in a demonstration-scale plant equipped with commercial membranes, which enables direct scaling-up of the aforementioned conclusions.

BIBLIOGRAFÍA

CAPITULO 6. BIBLIOGRAFÍA

Ahring B.K., Sandberg M. y Angelidaki I. «Volatile fatty acids as indicators of process imbalance in anaerobic digestors.» *Applied Microbiology and Biotechnology* 43 (1995): 559-565.

Aiyuk S., Forrez I., Lieven D.K., van Haandel A., y Verstraete W. «Anaerobic and complementary treatment of domestic sewage in regions with hot climates: a review.» *Bioresource Technology* 97, nº 17 (2006): 2225-2241.

Aiyuk S., Amoako J., Raskin L., van Haandel A.C., y Verstraete W. «Removal of carbon and nutrients from domestic wastewater using low investment, integrated treatment concept.» *Water Research* 38 (2004): 3031-3042.

APHA. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21st. Washington DC, USA: American Public Health Association/ American Water Works Association/Water Pollution Control Federation, 2005.

Baek S.H., Pagilla K.R. y Kim H.J. «Lab-scale study of an anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) for dilute municipal wastewater treatment.» *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 15 (2010): 704-708.

Batstone D.J., Keller J., Angelidaki I., Kalyuzhnyi S.V., Pavlostathis S.G., Rozzi A., Sanders W.T.M., Siegrist H. y Vavilin V.A.. *Anaerobic Digestion Model N° 1*. IWA Publishing, 2002.

Berthouex P.M. y Brown L.C. *Statistics for Environmental Engineers*. Boca Raton, Florida: Lewis Publishers, 1994.

Borja R. y Banks C.J. «Response of an anaerobic fluidized bed reactor treating ice-cream wastewater to organic, hydraulic, temperature and pH shocks.» *Journal of Biotechnology* 39 (1995): 251-259.

- C**ampbell L.L. y Postgate J.R. «Classification of the spore-forming sulfate-reducing bacteria.» *Bacteriology Reviews* 29, nº 3 (1965): 359-363.
- Carrhá Leitao R., van Haandel A.C., Zeeman G. y Lettinga G. «The effects of operational and environmental variations on anaerobic wastewater treatment systems: A review.» *Bioresource Technology* 97 (2006): 1105-1118.
- Castillo Rodríguez F. *Biotechnología Ambiental*. Madrid: TÉBAR, 2005.
- Cha G.C. y Noike T. «Effect of rapid temperature change and HRT on anaerobic acidogenesis.» *Water Science and Technology* 36, nº 6-7 (1997): 247-253.
- Chen Y., Cheng J.J. y Creamer K.S. «Inhibition of anaerobic digestion process: A review.» *Bioresource Technology* 99 (2008): 4044-4064.
- Chu L.B., Yang F.L. y Zhang X.W. «Anaerobic treatment of domestic wastewater in a membrane-coupled expanded granular sludge bed (EGSB) reactor under moderate to low temperature.» *Process Biochemistry* 40 (2005): 1063-1070.
- Coates D., Connor R., Leclerc L., Rast W., Schumann K., y Webber M. «Water demand: What drives consumption?» En *United Nations World Water Development Report: Managing Water under Uncertainty and Risk*, 45-76. Paris, France: United Nations Educational, Scientific and Cultural Organisation, 2012.
- Colleran E., Finnegan S. y Lens P. «Anaerobic treatment of sulphate-containing waste streams.» *Antonie van Leeuwenhoek* 67 (1995): 29-46.
- Constable G. y Somerville B. *A Century of Innovation: Twenty Engineering Achievements that Transformed our Lives*. Washington D.C.: Joseph Henry Press, 2003.
- D**aigger G.T. «Wastewater management in the 21st century.» *Journal of Environmental Engineering* 133, nº 7 (2007): 671-680.

- Daigger G.T. «Evolving Urban Water and Residuals Management Paradigm: Water Reclamation and Reuse, Decentralization, and Resource Recovery.» *Water Environment Research* 81, nº 8 (August 2009): 809-823.
- Daigger G.T. «New approaches and technologies for wastewater management.» *The Bridge* 38, nº 3 (2008): 38-45.
- Dar S.A., Kleerebezem R., Stams A.J.M., Kuenen J.G. y Muyzer G. «Competition and coexistence of sulfate-reducing bacteria, acetogens and methanogens in a lab-scale anaerobic bioreactor as affected by changing substrate to sulfate ratio.» *Applied Microbiology and Biotechnology* 78 (2008): 1045-1055.
- de Man, A.W.A., Grin P.C., Roersma R.E., Grolle K.C.F. y Lettinga G. «Anaerobic treatment of municipal wastewater at low temperatures.» *Anaerobic Treatment. A grown-up technology*. Amsterdam: IAWQ-NVA Conference on Advanced Wastewater Treatment (Aquatech 1986), 1986. 451-466.
- Deppenmeier U. «The unique biochemistry of methanogenesis.» *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 71 (2002): 223-283.
- Dietz Jr. E.A. y Singley K.F.. «Determination of Chlorinated Hydrocarbons in Water by Headspace Gas Chromatography.» *Analytical Chemistry* 51, nº 11 (1979): 1809-1814.
- Elefsiniotis P. y Oldham W.K. «Influence of pH on the acid-phase anaerobic digestion of primary sludge.» *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 44 (1994): 7-13.
- Elefsiniotis P., Wareham D.G. y Oldham W.K. «Particulate organic carbon solubilisation in an acid phase upflow anaerobic sludge blanket system.» *Environmental Science and Technology* 30 (1996): 1508-1514.
- Ermler U. «On the mechanism of methyl-coenzyme M reductase.» *Dalton Trans* 21 (2005): 3451-3458.

- F**AO, UN. *Amino Acid Content of Foods and Biological Data on Proteins*. Rome, Italy: Food and Agriculture Organisation, United Nations, 1970.
- Ferrer Polo J., y Seco Torrecillas A. *Tratamientos Biológicos de Aguas Residuales*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia, 2007.
- Finnerty W.R. «Lipids of Acinetobacter.» *World Conference on Biotechnology for the Fats and Oils Industry*. Champaign, Illinois: T. H. Applewhite, 1988. 184-188.
- G**audy A.F. y Gaudy E.T. *Microbiology for environmental scientists and engineers*. Tokyo: McGraw-Hill, 1981.
- Gavala H.N., Yenal U., Skiadas I.V., Westermann P. y Ahring B.K. «Mesophilic and thermophilic anaerobic digestion of primary and secondary sludge. Effect of pre-treatment at elevated temperature.» *Water Research* 37, nº 19 (2003): 4561-4572.
- Gijzen H.J. «Anaerobic digestion for sustainable development: a natural approach.» *Water Science and Technology* 45, nº 10 (2002): 321-328.
- Gimenez J.B., Martí N., Bouzas A., Ferrer J., y Seco A. «Assessment of total phosphorus determination using different digestion methods.» *2nd IWA Specialized Conference on Nutrient Management on Wastewater Treatment Processes*. Krakow, Poland, 2009.
- Grady Jr. C.P.L., Daigger G.T., Love N.G. y Filipe C.D.M.. *Biological Wastewater Treatment*. Third Edition. Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group, 2011.
- Grethlein H.E. «Anaerobic digestion and membrane separation of domestic wastewater.» *Journal of Water Pollution Control Federation* 50, nº 4 (1978): 754-763.
- Gujer, W. y Zehnder A.J.B. «Conversion processes in anaerobic digestion.» *Water Science and Technology* 15 (1983): 127-167.
- H**achemberg H. y Schmidt A.P. *Gas Chromatographic Headspace Analysis*. Heyden & Son, Incorporated, 1977.

- Hamilton W.A. «Energy transduction in anaerobic bacteria.» En *Bacterial energy transduction*, editado por C. Anthony. London: Academic Press, 1988.
- Hansen T.A. «Carbon metabolism of sulfate-reducing bacteria.» En *The Sulfate Reducing Bacteria: Contemporary Perspectives*, editado por Odom JM & Rivers-Singleton JR, 21-40. New York: Springer-Verlag, 1993.
- Hartley K. y Lant P. «Eliminating non-renewable CO₂ emissions from sewage treatment: an anaerobic midrating bed reactor pilot plant study.» *Biotechnology and Bioengineering* 95, nº 3 (10 2006): 384-398.
- Ho J.H., Khanal S.K. y Sung S. «Anaerobic membrane bioreactor for treatment of synthetic municipal wastewater at ambient temperature.» *Water Science and Technology* 55, nº 7 (2007): 79-86.
- Ho J.H. y Sung S.W. «Anaerobic membrane bioreactor treatment of synththetic municipal wastewater at ambient temperature.» *Water Environmental Research* 81 (2009): 922-928.
- Ho J.H. y Sung S.W. «Methanogenic activities in anaerobic membrane bioreactors (AnMBR) treating synthetic municipal wastewater.» *Bioresource Technology* 101, nº 7 (2010): 2191-2196.
- Huang Z., Ong S.L. y Ng H.Y. «Submerged anaerobic membrane bioreactor for low-strength wastewater treatment: effect of HRT and SRT on treatment performance and membrane fouling.» *Water Research* 45 (2011): 705-713.
- Huang Z., Ong S.L. y Ng H.Y. «Performance of submerged anaerobic membrane bioreactor at different SRTs for domestic wastewater treatment.» *Journal of Biotechnology* 164 (2013): 82-90.
- Jeison D.** «Anaerobic membrane bioreactor for wastewater treatment: Feasibility and potential applications.» PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, 2007.

Judd S. *The MBR Book*. 2nd. Edition. Editado por Simon Judd y Simon Claire. Oxford: Elsevier Ltd., 2011.

Kanai M., Ferre V., Wakahara S., Yamamoto T. y Moro M. «A novel combination of methane fermentation and MBR-Kubota Submerged Anaerobic Membrane Biorreactor process.» *Desalination* 250, n° 3 (2010): 964-967.

Kashyap D.R., Dadhich K.S. y Sharma S.K. «Biomethanation under psychrophilic conditions: a review.» *Bioresource Technology* 87 (2003): 147-153.

Kimura S. «Japan's aqua renaissance '90 project.» *Water Science and Technology* 23, n° 7-9 (1991): 1573-1582.

Kleerebezem R., y van Loosdrecht M.C.M. «Mixed culture biotechnology for bioenergy production.» *Current Opinion in Biotechnology* 18, n° 3 (Junio 2007): 207-212.

Kolb B. y Ettre L.S. *Static Headspace-Gas Chromatography*. 2nd Edition. Editado por illey-Blackwell. John Willey & Sons Ltd., 2006.

Kroeker E.J., Schulte D.D., Sparling A.B. y Lapp H.M. «Anaerobic treatment process stability.» *Journal of Water Pollution Control Federation* 51 (1979): 718-727.

Laanbroek H.J., Geerlings H.J., Sijtsma L. y Veldkamp H. «Competition for sulfate and ethanol among *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*, and *Desulfovibrio* species isolated from intertidal sediments.» *Applied Environmental Microbiology* 47 (1984): 329-334.

Larsen T.A., Alder A.C., Eggen R.I.L., Maurer M. y Lienert J. «Source Separation: Will We See a Paradigm in Wastewater Handling?» *Environmental Science and Technology* 43, n° 16 (2009): 6121-6125.

Lee I.S. y Rittmann B.E. «Effect of low solids retention time and focused pulsed pre-treatment on anaerobic digestion of waste activated sludge.» *Bioresource Technology* 102 (2011): 2542-2548.

- Lens P.N.L., Visser A., Janssen A.J.H., Hulshoff Pol .L.W. y Lettinga G. «Biotechnological Treatment of Sulfate-Rich Wastewaters.» *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 28, nº 1 (1998): 41-88.
- Lettinga G., Rebac S. y Zeeman G. «Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment.» *Trends in Biotechnology* 19, nº 9 (2001): 363-370.
- Lew B., Tarre S., Beliavski M., Dosoretz C. y Green M. «Anaerobic membrane bioreactor (AnMBR) for domestic wastewater treatment.» *Desalination* 243 (2009): 251-257.
- Li A., Kothari D. y Corrado J.J. «Application of membrane anaerobic reactor system for the treatment of industrial wastewaters.» Editado por W Lafayette. *39th Industrial Waste Conference*. IN, USA, 1985.
- Li W.W. y Yu H.Q. «From wastewater to bioenergy and biochemicals via two-stage bioconversion processes: A future paradigm.» *Biotechnology Advances* 29, nº 6 (2011): 972-982.
- Liao B.Q., Kraemer J.T. y Bagley D.M. «Anaerobic Membrane Bioreactors: Applications and Research Directions.» *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 36, nº 6 (2006): 489-530.
- Lilliefors H.W. «On the Kolomogorv-Smirnov test for normality with mean and variance unknown.» *Journal of the aAmerican Statistical Association* 62, nº 318 (1967): 399-402.
- Lin H., Peng W., Zhang M., Chen J., Hong H. y Zhang Y. «A review on anaerobic membrane bioreactors: Applications, membrane fouling and future perspectives.» *Desalination* 314 (2013): 169-188.
- Logan B.E., Hamelers B., Rozendal R., Schröder U., Keller J., Freguia S., Aelterman P., Verstraete W. y Rabaey K. «Microbial Fuel Cells: Methodology and Technology.» *Environmental Science & Technology* 40, nº 17 (2006): 5181-5192.

Madigan M.T., Martinko J M. y Parker J. *Brock. Biology of Microorganisms*. Prentice Hall International Inc., 2003.

Mahmoud N., Zeeman G., Gijzen H. y Lettinga G. «Anaerobic stabilisation and conversion of biopolymers in primary sludge. Effect of temperature and sludge retention time.» *Water Research* 38, nº 4 (2004): 983-991.

Martí N. *Estudio de las estrategias de operación de la digestión anaerobia de fangos para optimizar la recuperación de fósforo en EDAR*. PhD Thesis, Valencia: Universitat de València, 2007.

Martin I., Pidou M., Soares A., Judd S. y Jefferson B. «Modelling the energy demands of aerobic and anaerobic membrane bioreactors for wastewater treatment.» *Environmental Technology* 32, nº 9 (2011): 921-932.

Martínez-Sosa D, Helmreich B., Netter T., Paris S., Bischof F. y Horn H. «Anaerobic submerged membrane bioreactor (AnSMBR) for municipal wastewater treatment under mesophilic and psychrophilic temperature conditions.» *Bioresource Technology* 102 (2011): 10377-10385.

Martínez-Sosa D, Helmreich B. y Horn H. «Anaerobic submerged membrane bioreactor (AnSMBR) treating low-strength wastewater under psychrophilic temperature conditions.» *Process Biochemistry* 47 (2012): 792-798.

Mata-Alvarez J. «Fundamentals of the anaerobic digestion process.» En *Biomethanization of the Organic Fraction of Municipal Solid Waste*, de J Mata-Alvarez, 315. Barcelona, Spain: IWA Publishing, 2003.

McCartney D.M. y Oleszkiewicz J.A.. «Competition between methanogens and sulfate reducers: effect of COD:sulfate ratio and acclimation.» *Water Environment Research* 65 (1993): 655-664.

Metcalf y Eddy. *Wastewater engineering: treatment and reuse*. 4ª. New York: Int. ed. McGraw-Hill, 2002.

-
- Middleton A.C. y Lawrence A.W. «Kinetics of Microbial Sulfate Reduction.» *Journal (Water Pollution Control Federation)* 49, nº 7 (1977): 1659-1670.
- Minami K. «A trial of high performance anaerobic treatment on wastewater from a kraft pulp mill.» *Desalination* 98, nº 1-3 (1994): 273-283.
- Minami K., Okamura K., Ogawa S. y Naritomi T. «Continuous anaerobic treatment of wastewater from a kraft pulp mill.» *Journal of Fermentation and Bioengineering* 71, nº 4 (1991): 270-274.
- Mitchell P. «Keilins Respiratory-Chain Concept and Its Chemiosmotic Consequences.» *Science* 206, nº 4423 (1979): 1148-1159.
- Moosbrugger R.E., Wentzel M.C., Ekama G.A. y Marais G.v.R. «Simple titration procedures to determine H₂CO₃ alkalinity and short-chain fatty acids in aqueous solutions containing known concentrations of ammonium, phosphate and sulphide weak acid/bases.» Research Report W 74, University of Cape Town, Water Research Commission, Pretoria, Republic of South Africa, 1992.
- Muyzer G. y Stams A.J.M.. «The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria.» *Nature Reviews - microbiology* 6 (2008): 441-454.
- Novak J. T. y Carlson D. A. «The kinetics of anaerobic long chain fatty acids degradation.» *Journal WPCF* 42 (1970): 1932-1943.
- O'Flaherty V., Mahony T., O'Kennedy R. y Colleran E. «Effect of pH on growth kinetics and sulphide toxicity thresholds of a range of methanogenic, syntrophic and sulphate-reducing bacteria.» *Process Biochemistry* 33, nº 5 (1998): 555-569.
- Omil F., Lens P., Hulshoff Pol L. y Lettinga G. «Effect of upward velocity and sulfide concentration on volatile fatty acid degradation in a sulfidogenic granular sludge reactor.» *Process Biochemistry* 31 (1996): 699-710.

Omil F., Lens P., Hulshoff Pol L. y Lettinga G. «Characterisation of biomass from sulfidogenic fatty acid-degrading granular sludge reactor.» *Enzyme microbial technology* 20, nº 3 (1997): 229-236.

Oude Elferink S.J.W.H., Visser A., Hulshoff Pol L. y Stams A.J.M.. «Sulfate reduction in methanogenic bioreactors.» *FEMS Microbiology Reviews* 15 (1994): 119-136.

Pauss A., Andre G., Perrier M. y Guiot S.R. «Liquid-to-Gas Mass Transfer in Anaerobic Processes: Inevitable Transfer Limitations of Methane and Hydrogen in the Biomethanation Process.» *Applied and Environmental Microbiology* 56, nº 6 (06 1990): 1636-1644.

Pavlostathis S.G. y Giraldo-Gómez E. «Kinetics of anaerobic treatment.» *Water Science and Technology* 24, nº 8 (1991): 35-59.

Pons M.N., Spanjers H., Baetens D., Nowak O., Gillot S., Nouwen J. y Schuttinga N. «Wastewater characteristics in Europe: A survey.» *European Water Association*, 2004: 1-10.

Ratledge C. «Microbial Oxidations of Fatty Alcohols and Fatty Acids.» En *Mini-review compilation: Biodegradation and Biotransformations of Oils and Fats*, 397-414. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1992.

Rickard D. «Microbial Sulfate Reduction in Sediments.» Cap. 8 de *Sulfidic sediments and sedimentary rocks*, 767. Elsevier, 2012.

Robles A., Ruano M.V., Ribes J. y Ferrer J. «Sub-Critical long-term operation of industrial scale hollow-fibre membranes in a submerged anaerobic MBR (HF-SAnMBR) system.» *Separation and Purification Technology* 100 (2012): 88-96.

Ross W.R., Bernard J.P., le Roux J. y de Villiers H.A. «Application of ultrafiltration membranes for solids-liquids separation in anaerobic digestion systems: The ADUF process.» *Water SA* 16, nº 2 (1990): 85-91.

Ruano M.V., Robles A., Giménez J.B., Durán F., Carretero L., Gatti M.N., Bouzas A., Aguado D., Martí N., Serralta J., Borrás L., Barat R., García-Usach F., Ribes J., Ferrer J. y Seco A. «Tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas mediante reactores de membranas sumergidas (SAMBR).» Bilbao: 2da Mesa Española de Tratamiento de Aguas (META), 2010.

Salazar-Pelaez M. L., Morgan-Sagastume J. M. y Noyola A. «Influence of hydraulic retention time on fouling in a UASB coupled with an external ultrafiltration membrane treating synthetic municipal wastewater.» *Desalination* 277 (2011): 164-170.

Schlegel K., Welte C., Deppenmeier U. y Müller V. «Electron transport during acetoclastic methanogenesis by methanosarcina acetivorans involves a sodium-translocating Rnf complex.» *the FEBS Journal*, 2012: 1-9.

Seghezzi L. *Anaerobic treatment of domestic wastewater in subtropical regions*. PhD Thesis, Wageningen: Wageningen University, 2004.

Seghezzi L., Zeeman G., van Lier J.B., Hamelers H.V.M. y Lettinga G. «A review: the anaerobic treatment of sewage in UASB and EGSB reactors.» *Bioresource Technology* 65 (1998): 175-190.

Shin H.S., Oh S.E. y Bae B.U. «Competition between SRB and MPB according to temperature change in the anaerobic treatment of tannery wastes containing high sulfate.» *Environmental Technology* 17, nº 4 (1996): 361-370.

Skiadas I.V., Gavala H.N. y Lyberatos G. «Modelling of the periodic anaerobic baffled reactor (PABR) based on the retaining factor concept.» *Water Research* 34, nº 15 (2000): 3725-3736.

Skouteris G., Hermosilla D., López P., Negro C. y Blanco A. «Anaerobic membrane bioreactors for wastewater treatment: A review.» *Chemical Engineering Journal* 198-199, nº 1 (2012): 138-148.

- Sleutels T.H.J.A., Heijne A.T., Buisman C.J.N. y Hamelers H.V.M. «Bioelectrochemical Systems: An Outlook for Practical Applications.» *CHEMSUSCHEM* 5 (2012): 1012-1019.
- Smith A.L., Skerlos S.J. y Raskin L. «Psychrophilic anaerobic membrane bioreactor treatment of domestic wastewater.» *Water Research* 47, nº 4 (2013): 1655-1665.
- Souza C. L., Chernicharo C.A.L. y Aquino S.F. «Quantification of dissolved methane in UASB reactors treating domestic wastewater under different operating conditions.» *Water Science and Technology* 64, nº 11 (2011): 2259-2264.
- T**chobanoglous G., Burton F.L., Stensel H.D. y Metcalf & Eddy, Inc. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. 4th Edition. New York: McGraw-Hill, 2003.
- Thauer R.K., Jungermann K. y Decker K. «Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria.» *Bacteriological Reviews* 41 (1977): 100-180.
- Thauer R.K., Kaster A.K., Seedorf H., Buckel W. y Hedderich R. «Methanogenic archaea: ecologically relevant differences in energy conservation.» *Nature Reviews: Microbiology*, 2008: 579-591.
- Trusman J. F. y Cork D. J. «Influence of sulfate and sulfate-reducing bacteria on anaerobic digestion technology.» En *Biological Waste Treatment*, editado por A. Mizrahi y A. van Wenzel, 273-281. New York: Alan R Liss Inc., 1989.
- Twain M. «Statistical Analysis of Receiving Water Data.» Cap. 7 de *Stormwater Effects Handbook: A Toolbox for Watershed Managers, Scientists and Engineers.*, de Allen Burton y Robert Pitt, 575-607. CRC Press, 2001.
- V**an Haandel A.C., Kato M.T., Cavalcanti P.F.F. y Florencio L. «Anaerobic reactor design concepts for the treatment of domestic wastewater.» *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 5 (2006): 21-39.

- van Lier J. B., Mahmoud N. y Zeeman G. «Anaerobic wastewater treatment.» En *Biological Wastewater Treatment: Principles, Modelling and Design*, editado por Henze M., van Loosdrecht M. C. M., Ekama G. A. y Brdjanovic D., Capítulo 16. Londres: IWA Publishing, 2008.
- van Lier J.B. y Lettinga G. «Appropriate technologies for effective management of industrial and domestic wastewaters: the decentralised approach.» *Water Science and Technology* 40, nº 7 (1999): 171-183.
- Veeken A. y Hamelers B. «Effect of temperature on hydrolysis rates of selected biowaste components.» *Bioresource Technology* 69 (1999): 249-254.
- Visser A., Beekma I., van der Zee F., Stams A. J.M. y Lettinga G. «Anaerobic degradation of volatile fatty acids at different sulfate concentrations.» *Applied Microbiology and Biotechnology* 40 (1993): 549-556.
- Visser A. «The Anaerobic treatment of sulfate containing wastewaters.» PhD Thesis, The Netherlands, 1995.
- von Sperling, M. «Comparison among the most frequently used systems for wastewater treatment in developing countries.» *Water Science and Technology* 33, nº 3 (1996): 59-72.
- W**allace B. *Becoming Part of the Solution: The Engineer's Guide to Sustainable Development*. Washington D.C.: American Council of Engineering Companies, 2005.
- Walsh C. «Naturally occurring 5-dezaflavin coenzymes: Biological redox roles.» *Accounts of Chemical Research* 19 (1986): 216-221.
- Whittmann C., Zeng A.P., y Deckwer W.D. «Growth inhibition by ammonia and use of pH-controlled feeding strategy for the effective cultivation of *Mycobacterium chlorophenolicum*.» *Applied Microbiology Biotechnology* 44 (1995): 519-525.

Widdel F. «Microbiology and ecology of sulphate- and sulphur-reducing bacteria.» En *Biology of Anaerobic Microorganisms*, editado por Zehnder A.J.B., 469-586. New York: Wiley & Sons, 1988.

Zabranska I., Stepova J., Wachtl R., Jenieek P. y Dohanyos M. «The activity of anaerobic biomass in thermophilic and mesophilic digesters at different loading rates.» *Water Science and Technology* 42, nº 9 (2000): 49-56.

Zeeman G. y Lettinga G. «The role of anaerobic digestion of domestic sewage in closing the water and nutrient cycle at community level.» *Water Science and Technology* 39, nº 5 (1999): 187-194.

Zehnder A.J.B. y Stumm W. «Geochemistry and Biogeochemistry of anaerobic habitats.» En *Biology of Anaerobic Microorganisms*, editado por Zehnder A.J.B., 1-38. New York: John Wiley & Sons, 1988.

Zhao H.W. y Viraraghavan T. «Analysis of the performance of an anaerobic digestion system at the Regina wastewater treatment plant.» *Bioresource Technology* 95, nº 3 (2004): 301-307.

Zinder S. H. «Physiological ecology of methanogens.» En *Methanogens: Ecology, Physiology, Biochemistry and Genetics*, editado por Ferry J. G., 128-206. London/New York: Chapman & Hall, 1993.

Zitomer D.H. «Stoichiometry of combined aerobic and methanogenic COD transformation.» *Water Research* 32, nº 3 (1998): 669-676.

ANEXOS

ANEXO I CARACTERIZACIÓN VARIABILIDAD DEL AFLUENTE.

Para determinar la variabilidad diaria de las características del ARU real afluente con la que se alimentó la planta AnMBR a escala demostración, se llevó a cabo una caracterización dinámica de los principales parámetros característicos, cuyos resultados se muestran a continuación:

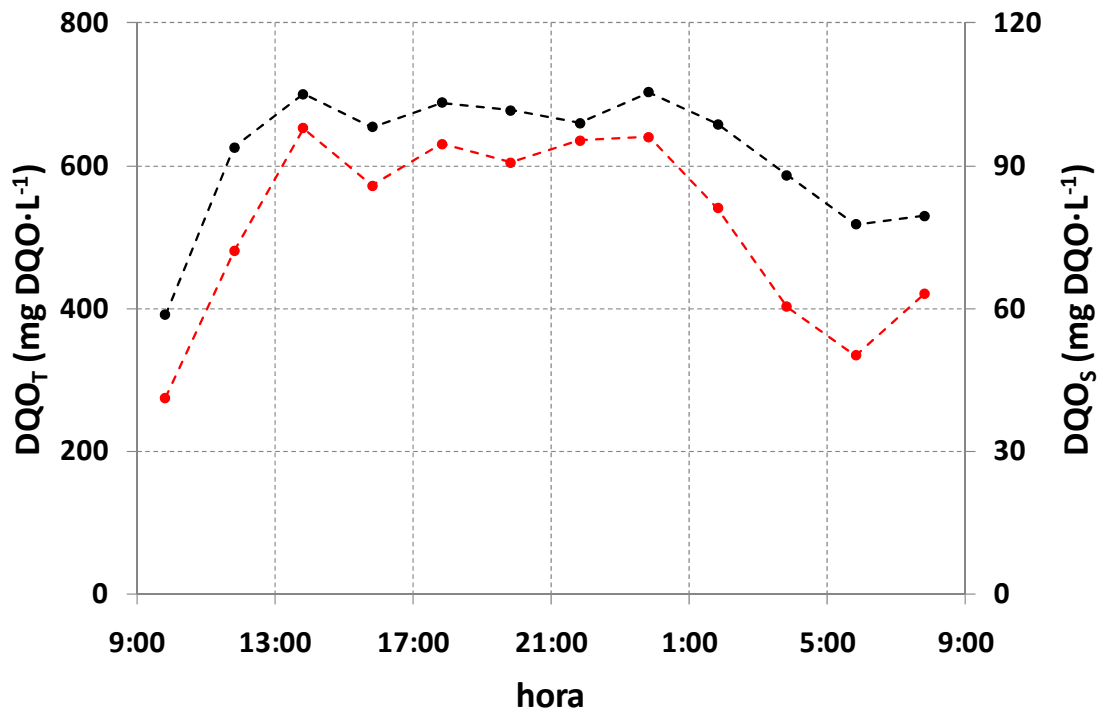


Figura 70. Evolución diaria de la concentración de DQO total (●) y soluble (●) en el afluente.

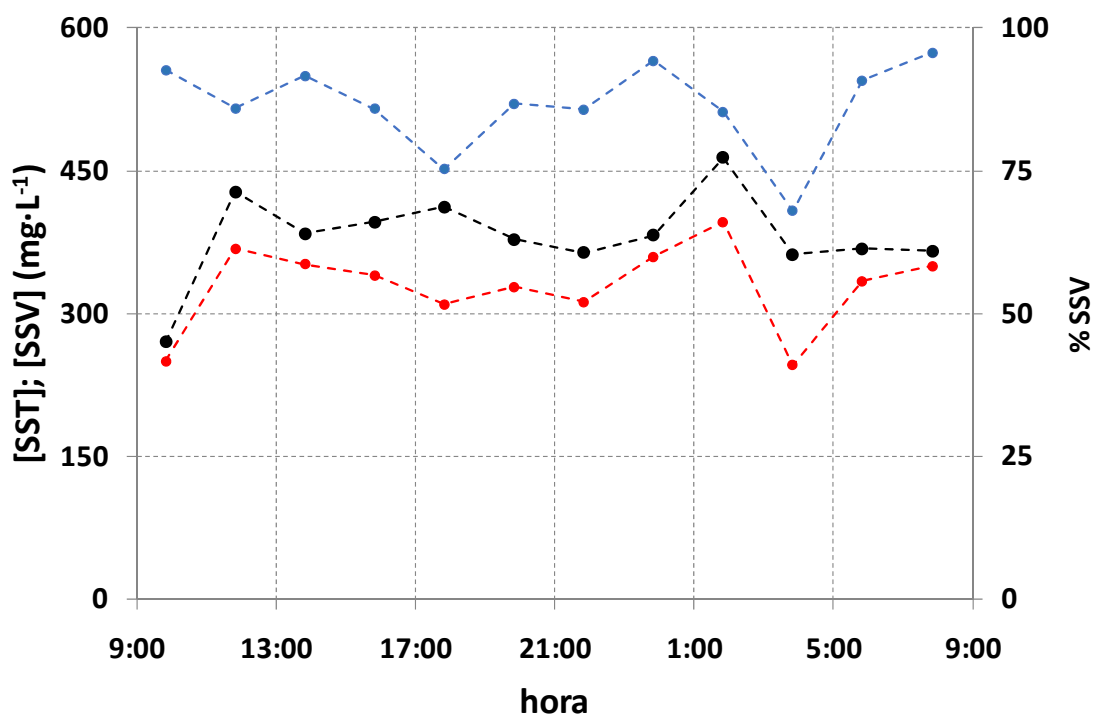


Figura 71. Evolución diaria de la concentración de sólidos suspendidos totales (●) y volátiles (●), y porcentaje de sólidos suspendidos volátiles en el afluente (●).

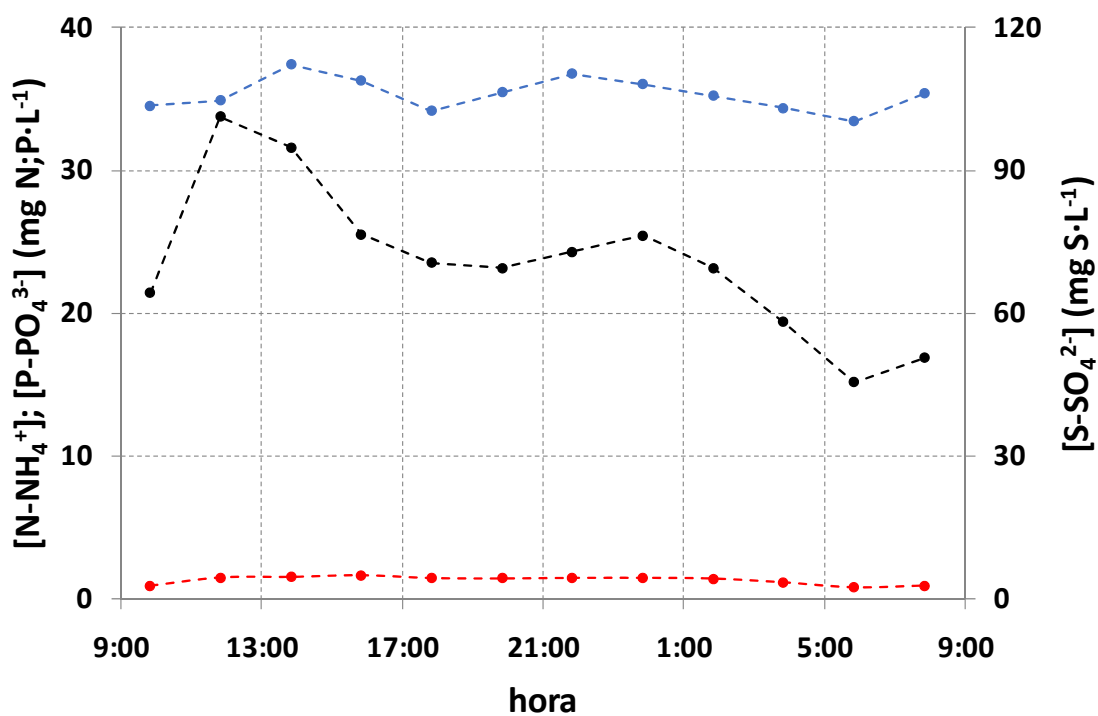


Figura 72. Evolución diaria de la concentración de N-NH₄ (●), P-PO₄ (●) y S-SO₄ (●).

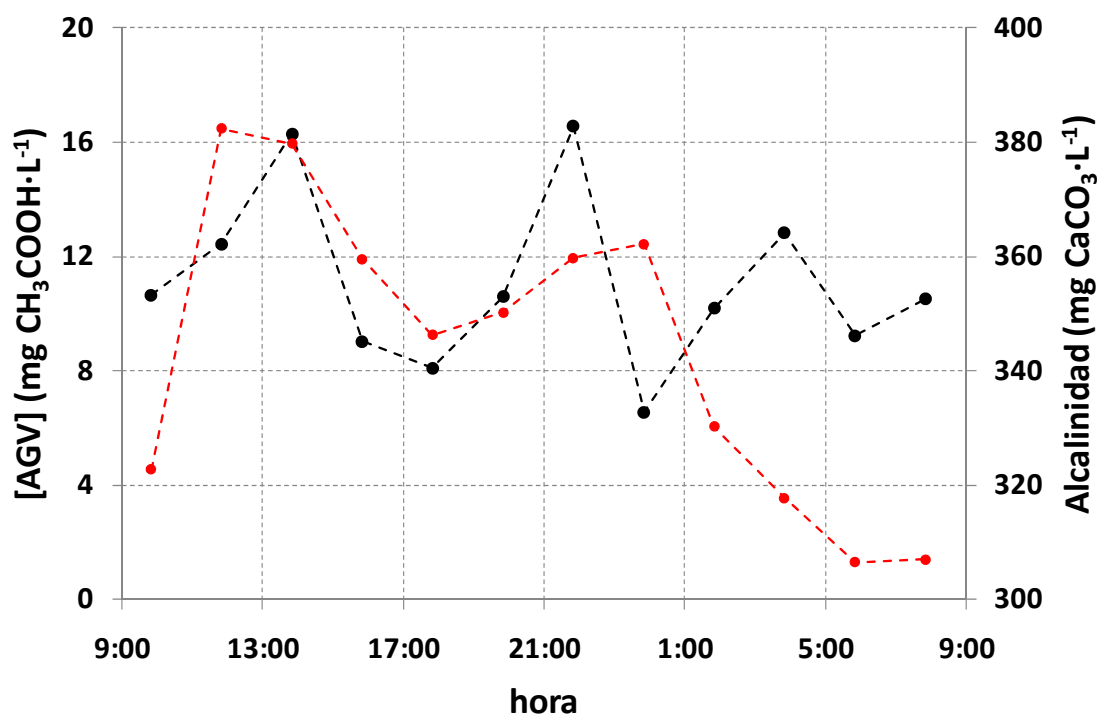


Figura 73. Evolución diaria de la concentración de AGV (●) y Alcalinidad (●).

Adicionalmente, para evaluar la variabilidad del ARU real afluente al sistema AnMBR a una mayor escala temporal y determinar si existió periodicidad estacional en dicho parámetro, se determinaron los índices de variación estacional (IVE) mensuales individuales y acumulados. Los IVE individuales reflejan la variación porcentual de dicho parámetro en el periodo interanual seleccionado con respecto a la media anual, mientras que los acumulados, reflejan la variación media del parámetro en un mismo periodo interanual durante todo el periodo experimental considerado, que fue superior a 900 días. La Figura 74 presenta los índices de variación estacional individual (a) y acumulado (b), en las que cabe resaltar la disminución de la concentración de DQO total del ARU afluente durante los meses de Julio y Agosto (debido a la ausencia de puntas de carga y a la baja o nula componente industrial durante el periodo estival), y el aumento durante el mes de diciembre

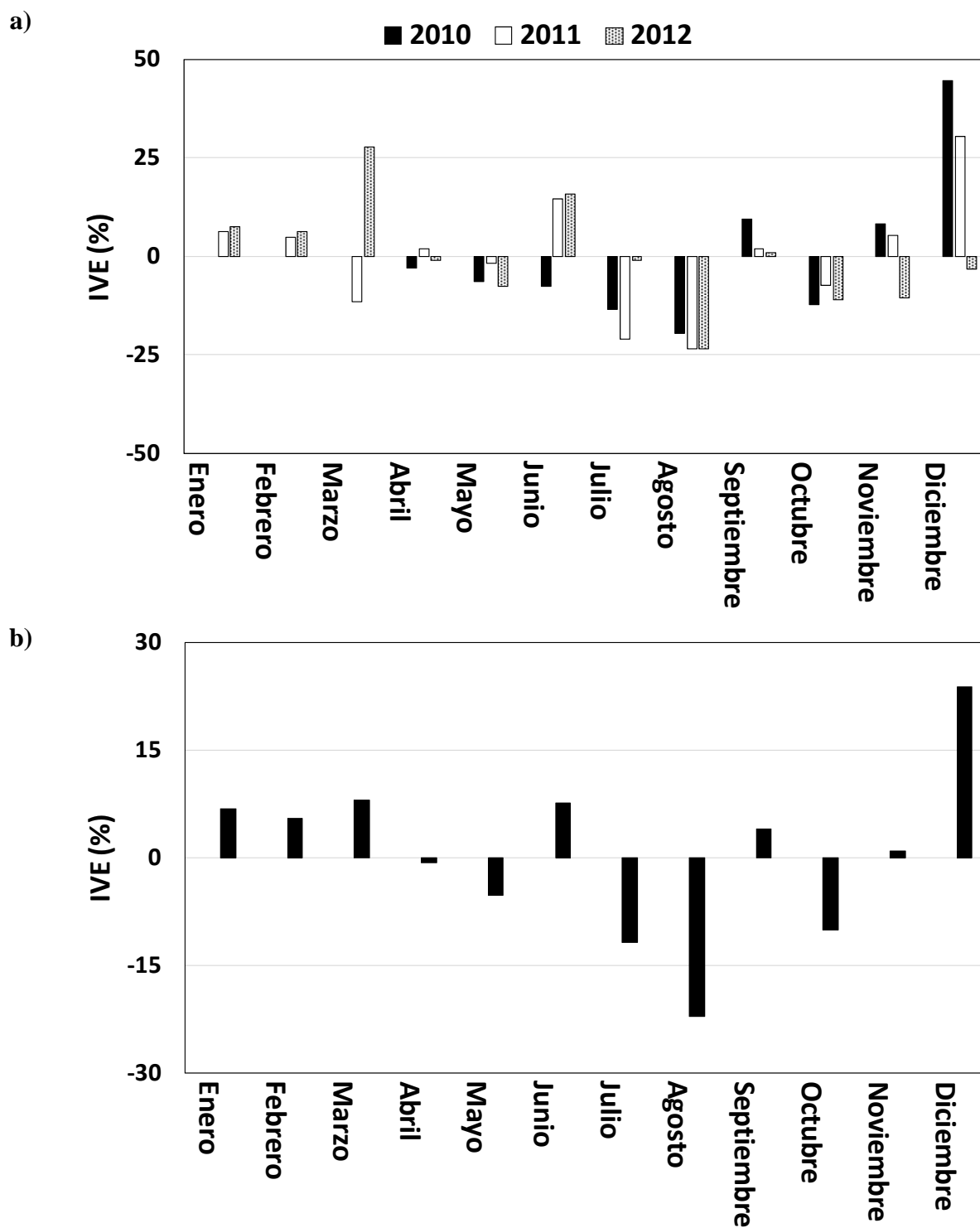


Figura 74. IVE individual (a) y acumulado (b).

Para determinar si existió una evolución coyuntural de las características del ARU real afluente al sistema AnMBR, en la Figura 75 se ha representado la media mensual de la concentración de DQO total afluente, junto con la media móvil para un periodo de 12 meses,

utilizando para ello los datos recogidos durante más de 900 días de operación. En esta figura es posible observar que a pesar de la variación estacional mostrada por la concentración de DQO total afluente, no se produjo una variación significativa en la media móvil, indicando que los fenómenos coyuntuales que atribuyen sus características al ARU afluente, no se modificaron a lo largo del periodo experimental considerado.

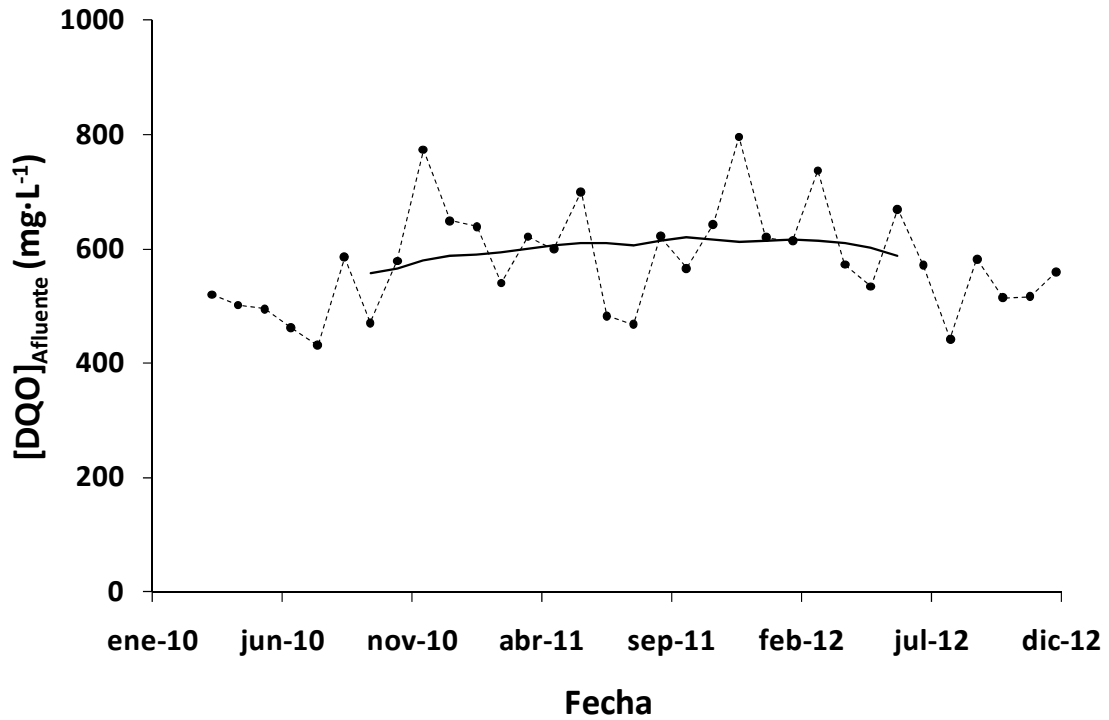


Figura 75. Concentración media mensual de la concentración de DQO total del ARU afluente. La líneas continua representa la media móvil para una anualidad.

ANEXO II ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Para llevar a cabo el análisis estadístico llevado a cabo sobre los datos experimentales mostrados en el presente trabajo de tesis, se ha hecho uso del paquete estadístico IBM® SPSS® Statistics versión 19.

A II.1 Métodos Estadísticos Utilizados.

A II.1.1 Métodos gráficos de análisis estadístico

A II.1.1.1 Diagramas de dispersión

Los diagramas de dispersión son los métodos gráficos más utilizados a nivel científico (Berthouex y Brown, 1994). Se construyen al representar gráficamente una variable frente a un factor del cual se cree que influye el valor de la variable. Los datos se muestran como un conjunto de puntos, cada uno con el valor de una variable que determina la posición en el eje horizontal y el valor de la otra variable determinado por la posición en el eje vertical. Este tipo de gráficos resultan especialmente útiles para detectar posibles relaciones entre variables. Si mediante la representación gráfica en un diagrama de dispersión, observamos una posible relación entre dos variables, podemos expresar dicha relación mediante una ecuación determinada con procedimientos de ajuste.

A II.1.1.2 Histogramas de frecuencias

Un histograma es una representación gráfica de la distribución de las observaciones que conforman una muestra o población respecto a una característica cuantitativa y continua. Fue introducido por Karl Pearson para obtener una estimación de la distribución de probabilidad de una variable continua. Se trata de una representación de la frecuencia tabulada en forma de rectángulos adyacentes, erigidos sobre intervalos discretos de valores de la característica (intervalos de clases), cuya área es proporcional a la frecuencia de las observaciones contenidas en cada intervalo.

En el eje vertical se representan las frecuencias, es decir, la cantidad de observaciones que se ubica en un determinado intervalo de clase. En el eje horizontal se representa el espectro de valores posibles que toma la característica de interés.

De esta manera se obtiene una visión en grupo, permitiendo observar una preferencia, o tendencia, por parte de la muestra, o población, por ubicarse hacia una determinada región de valores dentro del espectro de valores posibles (sean infinitos o no) que pueda adquirir la característica.

A II.1.1.3 Diagramas de Caja y bigotes

Un diagrama de caja y bigotes es una representación gráfica, basada en los cuartiles, que se utiliza comúnmente para resumir un conjunto de datos. La Figura 76 muestra una representación típica de un diagrama de caja y bigotes.

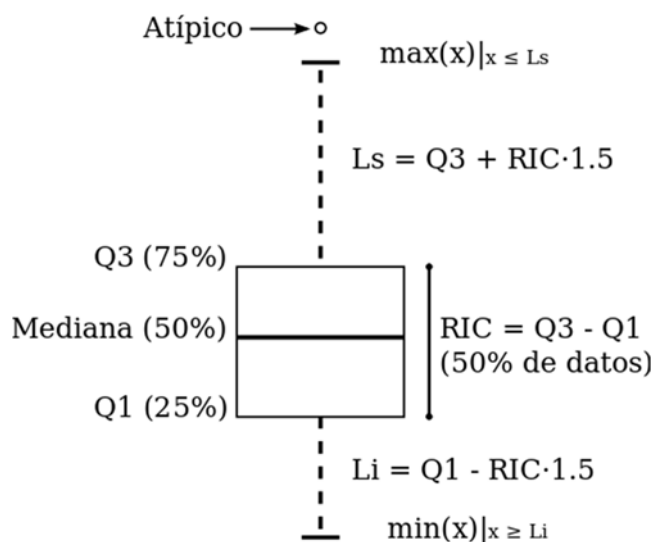


Figura 76. Diagrama típico de caja y bigotes

Un diagrama de caja y bigotes consta de un rectángulo, o “caja”, cuyos extremos superior e inferior representan los cuartiles tercero (Q3) y primero (Q1), respectivamente. La longitud de la “caja” es equivalente al rango intercuartílico (RIC), y contiene el 50 % de las observaciones. Suele estar dividida en dos partes mediante el cuartil segundo, o mediana, del conjunto de datos representados. A ambos extremos de la “caja” se extienden dos líneas, o “bigotes”, cuyos extremos representan los valores máximo, $\max(x) | x \leq L_s$, y mínimo, $\min(x) | x \geq L_i$, admisibles. Dichos valores vendrán dados por los valores más extremos que queden dentro de los límites superior (L_s) e inferior (L_i), calculados a partir de la Ecuación 68 y la Ecuación 69, respectivamente.

$$L_S = Q_3 + RIC \cdot 1,5 \quad \text{Ecuación 68}$$

$$L_I = Q_1 - RIC \cdot 1,5 \quad \text{Ecuación 69}$$

Además, estos límites nos servirán para identificar los valores atípicos, que serán todos aquellos valores mayores o menores que los extremos admisibles, $\max(x) |_{x \leq L_S}$ y $\min(x) |_{x \geq L_I}$.

A II.1.1.4 Gráficos de probabilidad normal.

El gráfico de probabilidad es una técnica estadística gráfica que se utiliza para contrastar la distribución empírica de un conjunto de datos, con una distribución teórica específica. Para el caso en el que la distribución teórica de contraste sea la distribución normal, recibe el nombre específico de gráfico de probabilidad normal. Consiste en representar, en un mismo gráfico, la función de distribución acumulativa empírica, frente a la función de distribución acumulativa normal teórica. Si la distribución de la variable es normal, los puntos quedarán cerca de una línea recta. Resulta frecuente observar una mayor variabilidad en los extremos, sin embargo, podemos asumir que los datos están distribuidos normalmente siempre y cuando los datos comprendidos entre los percentiles 10 y 90 se ajusten a la línea recta (Twain, 2001).

A II.1.2 Métodos matemáticos de análisis estadístico

A II.1.2.1 Modelo de Regresión Lineal Simple

Tal como se indicó en el apartado A II.1.1.1, si mediante la representación gráfica en un diagrama de dispersión observamos una posible relación entre dos variables, podemos expresar dicha relación mediante una ecuación determinada con procedimientos de ajuste. Si sospechamos que las dos variables están relacionadas linealmente, el procedimiento de ajuste a emplear sería el modelo de regresión lineal simple.

Si consideramos que el valor de una variable Y puede depender linealmente de otra variable independiente X, podemos expresar dicha relación de dependencia, mediante la Ecuación 70:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X \quad \text{Ecuación 70}$$

Donde:

- X es la variable independiente, exógena, explicativa o regresor.

- Y es la variable dependiente, endógena, explicada (mediante su relación con X), o regresando.
- β_0 es el término constante u ordenada en el origen, y β_1 es la pendiente.

La expresión anterior es una aproximación a lo que frecuentemente sucede en la realidad, en la que se ha omitido el efecto de muchas otras variables de importancia secundaria. Para tener en consideración el efecto de todas las variables, distintas de X, que influyen sobre Y (sin ser dichos efectos importantes de forma individual), es necesario incluir un término de perturbación aleatorio (ε). La perturbación aleatoria recoge todos aquellos factores de la realidad, no controlables u observables y que por tanto se asocian al azar, confiriéndole al modelo carácter estocástico. De este modo, la relación entre X e Y quedaría tal como se muestra en la Ecuación 71:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot X + \varepsilon \quad \text{Ecuación 71}$$

La interpretación de ε es diversa:

- en primer lugar, puede contener otras variables explicativas que, aun siendo relevantes, no acertamos a especificar;
- también pudiera ser que, aun siendo conscientes de la existencia de tales variables, no dispusiéramos de observaciones para las mismas;
- por último, el término de error puede estar reflejando errores de medida en la variable dependiente Y, que suelen surgir porque las variables que utilizamos en la estimación reflejan aproximadamente, pero no exactamente, los conceptos que queríamos incorporar en el modelo.

Si disponemos de n observaciones de la variable dependiente (y_1, y_2, \dots, y_n), con las correspondientes observaciones de la variable independiente, (x_1, x_2, \dots, x_n), podemos hacer extensiva la ecuación anterior a las n observaciones, escribiendo de forma general que:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_i + \varepsilon_i \quad i = 1, 2, \dots, n \quad \text{Ecuación 72}$$

Estimación de los parámetros del modelo

El método más comúnmente utilizado para la estimación de los parámetros del modelo lineal $(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1)$ es el método de los mínimos cuadrados. El estimador de los mínimos cuadrados utiliza como criterio la minimización de la suma de los cuadrados de los residuos (SCR), o suma residual. Se trata, por tanto, de encontrar los valores de β_1 y β_0 que resuelvan el problema que se plantea en la Ecuación 73:

$$\min_{\hat{\beta}_1, \hat{\beta}_0} SCR = \sum_{i=1}^n \hat{\varepsilon}_i^2 \quad \text{Ecuación 73}$$

El residuo asociado a cada observación ($\hat{\varepsilon}_i$) depende de los valores $\hat{\beta}_1$ y $\hat{\beta}_0$ escogidos, en la forma en la que se presenta en la Ecuación 74:

$$\hat{\varepsilon}_i = y_i - (\hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 \cdot x_i) \quad \text{Ecuación 74}$$

De modo que podemos reescribir el estimador de los mínimos cuadrados según la Ecuación 75:

$$\min_{\hat{\beta}_1, \hat{\beta}_0} SCR = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 \cdot x_i)^2 \quad \text{Ecuación 75}$$

Resolviendo el sistema de ecuaciones formado por las derivadas parciales igualadas a 0 de SCR con respecto de β_0 y β_1 , podemos obtener la Ecuación 76 y la Ecuación 77, que nos permitirán obtener los parámetros β_0 y β_1 .

$$\beta_0 = \bar{y} - \beta_1 \cdot \bar{x} \quad \text{Ecuación 76}$$

$$\beta_1 = \frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - \sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} \quad \text{Ecuación 77}$$

Donde \bar{x} y \bar{y} son los valores medios muestrales de las variables independiente y dependiente, respectivamente.

Medidas de la bondad del ajuste al modelo

Una vez realizado el ajuste de los parámetros del modelo lineal, conviene disponer de algún indicador que permita medir el grado de ajuste entre el modelo ajustado y los datos de los que partimos, mediante alguna de las medidas de la bondad del ajuste.

El coeficiente de correlación de Pearson, R , es un índice del grado de relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas, que se puede calcular mediante la Ecuación 78:

$$R = \frac{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - \sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i}{\sqrt{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} \cdot \sqrt{n \cdot \sum_{i=1}^n y_i^2 - (\sum_{i=1}^n y_i)^2}} \quad \text{Ecuación 78}$$

Su valor está comprendido entre -1 y 1, siendo los valores extremos indicativos de una correlación negativa o positiva perfecta, respectivamente. El coeficiente de determinación, R^2 , es el cuadrado del coeficiente de correlación de Pearson, y representa la proporción de varianza de la variable dependiente explicada mediante la variable independiente. Su valor oscila entre 0 y 1, indicando los extremos que no existe correlación, o que existe una correlación (positiva o negativa) perfecta entre las variables, respectivamente. R^2 corregida es una corrección, a la baja, del coeficiente de determinación basada en el número de observaciones y el número de variables independiente (en el caso de regresiones lineales múltiples), que se expresa según la Ecuación 79:

$$R_{\text{Corregida}}^2 = R^2 - \frac{p \cdot (1 - R^2)}{(n - p - 1)} \quad \text{Ecuación 79}$$

Donde p es el número de variables independientes, y n el número de observaciones.

El error típico de la estimación (Ecuación 80) es la desviación típica de los residuos, pero dividida por $(n - 2)$. Proporciona una medida de la parte de la variabilidad de la variable dependiente, que no es explicada por el modelo de regresión, por lo que cuanto menor es su valor, mejor es el ajuste del modelo:

$$\text{Error típico de la estimación} \equiv S_e = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{(n - 2)}} \quad \text{Ecuación 80}$$

Contrastes de hipótesis sobre los parámetros poblacionales β_0 y β_1 .

Los valores de $\hat{\beta}_1$ y $\hat{\beta}_0$ dependen de la muestra seleccionada para realizar su estimación, por tanto, se trata de variables aleatorias que presentarán una distribución de probabilidad. Las distribuciones de probabilidad de los estimadores pueden utilizarse para construir intervalos de confianza, o realizar contrastes de hipótesis sobre los parámetros del modelo de regresión poblacional, con la finalidad de decidir si el efecto de la variable independiente es, o no, significativa para la variable dependiente. Esto equivale a contrastar si β_1 es, o no, significativamente distinto de cero, dado que $\beta_1 = 0$ implica ausencia de relación entre las variables dependiente e independiente. De este modo, podemos plantear un contraste de hipótesis en el que la hipótesis nula la constituye que $\beta_1 = 0$, mientras que la hipótesis alternativa sería que $\beta_1 \neq 0$. El estadístico de contraste podría calcularse mediante la Ecuación 81:

$$t = \frac{\hat{\beta}_1}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n y_i^2 - \left[\frac{(\sum_{i=1}^n y_i)^2}{n} \right] - \hat{\beta}_1 \cdot \left\{ \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i - \left[\frac{\sum_{i=1}^n x_i \cdot \sum_{i=1}^n y_i}{n} \right] \right\}}{(n-2)}}{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \left[\frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n} \right]}}{(n-2)}}} \quad \text{Ecuación 81}$$

El estadístico t se distribuye según el modelo de probabilidad t de Student, con $(n - 2)$ grados de libertad, por lo que podemos utilizarlos para decidir si el coeficiente β_1 es significativamente distinto de cero y, consecuentemente, si la variable dependiente está significativamente relacionada con la dependiente. El contraste de hipótesis considerado es bilateral, por lo que la región de rechazo vendrá definida por la Ecuación 82:

$$|t| > t_{1-\alpha/2;(n-2)} \quad \text{Ecuación 82}$$

De forma alternativa al contraste de hipótesis, los intervalos de confianza calculados definen la región en la que, con una probabilidad dada (generalmente 95 %), se encontrarán los parámetros de la regresión poblacional, por lo que si el intervalo de confianza para el valor estimado de β_1 contiene el 0, no podremos concluir que las variables están relacionadas.

Validación del modelo de regresión lineal simple

En algunas ocasiones puede existir un elevado grado de correlación entre dos variables, a pesar de que la relación entre ambas sea fuertemente **no lineal**. Es por esto que, una vez ajustado el modelo, y tras haber comprobado que existe una relación significativa entre la variable independiente y la dependiente, conviene comprobar si la relación que existe entre ambas es lineal. Para ello resulta necesario garantizar la validez del modelo de regresión lineal, mediante la validación de los supuestos sobre los que se basa. El modelo de regresión lineal se basa en los siguientes supuestos:

- *Linealidad*: La ecuación de regresión adopta una forma particular. En concreto, la variable dependiente es la suma de un conjunto de elementos: el origen de la recta, una combinación lineal de variables independientes, y los residuos. El incumplimiento del supuesto de linealidad suele denominarse error de especificación.
- *Independencia*: Los residuos son independientes entre sí, es decir, los residuos constituyen una variable aleatoria. Es frecuente encontrarse con residuos autocorrelacionados cuando se trabaja con series temporales.
- *Homocedasticidad*: Para cada valor de la variable independiente (o combinación de valores de las variables independientes), la varianza de los residuos es constante.
- *Normalidad*: Para cada valor de la variable independiente (o combinación de valores de las variables independientes), los residuos se distribuyen normalmente con media cero
- *No-colinealidad*: No existe relación lineal exacta entre ninguna de las variables independientes. El incumplimiento de este supuesto da origen a colinealidad o multicolinealidad.

En cuanto al cumplimiento del primer supuesto, la inspección del diagrama de dispersión puede darnos una idea de si existe relación entre las variables dependiente e independiente, y de qué tipo es dicha relación. El quinto supuesto no aplica al caso de regresión lineal simple, pues es imprescindible la presencia de más de una variable independiente.

El resto de los supuestos (*independencia, homocedasticidad y normalidad*) están estrechamente asociados al comportamiento de los residuos. Por tanto, un análisis cuidadoso de los residuos puede informarnos sobre la validez de dichos supuestos.

Análisis de los residuos del modelo de regresión lineal simple.

Los residuos son muy importantes en el análisis de regresión. Por una parte, nos informan sobre el grado de exactitud de los pronósticos a través del error típico (cuanto menor es el error típico, mejores son los pronósticos). En segundo lugar, el análisis de las características de los casos con residuos grandes (en valor absoluto), puede ayudarnos a detectar casos atípicos, y consecuentemente, a perfeccionar la ecuación de regresión a través de un estudio detallado de los mismos. Sin embargo, el verdadero interés de los residuos radica en el hecho de que el análisis de los mismos proporciona información crucial sobre el cumplimiento de varios supuestos del modelo de regresión lineal: independencia, homocedasticidad y normalidad.

El estadístico de Durbin-Watson (DW) proporciona información sobre el grado de independencia existente entre los residuos, e_i . Dicho estadístico viene dado por la Ecuación 83:

$$DW = \frac{\sum_{i=2}^n (e_i - e_{i-1})^2}{\sum_{i=1}^n e_i^2} \quad \text{Ecuación 83}$$

El valor del estadístico DW está comprendido entre 0 y 4, y toma el valor 2 cuando los residuos son independientes. Los valores menores que 2 indican autocorrelación positiva, mientras que los valores mayores que 2 indican autocorrelación negativa. De forma práctica, se asume que los residuos son independientes entre sí, cuando el valor del estadístico DW está comprendido entre 1,5 y 2,5.

Es posible obtener información sobre el grado de cumplimiento de los supuestos de homocedasticidad y normalidad de los residuos mediante el uso de representaciones gráficas. El supuesto de igualdad de varianzas implica que la variación de los residuos debe ser uniforme en todo el rango de valores pronosticados. De este supuesto, se desprende que el diagrama de dispersión de los residuos frente a los pronósticos no debe mostrar ninguna pauta de asociación.

Para validar el supuesto de normalidad es posible recurrir a métodos gráficos, como el histograma de frecuencias o el diagrama de probabilidad normal, o a test de bondad de ajuste,

como el test de Kolmogorov-Smirnov, que se describirán a continuación. Un histograma de frecuencias es una representación gráfica de la variable analizada en forma de barras, donde la superficie de cada barra es proporcional a la frecuencia de los valores representados. Este tipo de representaciones dan una idea sobre el tipo de distribución de la variable representada. En un gráfico de probabilidad normal se representa la probabilidad acumulada que corresponde a cada residuo tipificado (abscisa), frente a la probabilidad acumulada teórica que corresponde a cada puntuación típica en una curva normal con media 0 y desviación típica 1 (ordenada). Cuando los residuos se distribuyen normalmente, la nube de puntos se encuentra alineada sobre la diagonal del gráfico.

La validación de todos y cada uno de los supuestos sobre los que se basa el modelo de regresión lineal garantiza su validez, de forma que es posible afirmar que existe una relación lineal positiva entre las variables X e Y.

Tras comprobar que existe una relación de dependencia lineal entre ambas variables puede interesarnos: realizar una predicción (\hat{y}_i), o bien estimar el valor medio (\bar{y}_i) que tomará la variable dependiente, para un valor determinado de la variable independiente (x_i). En ambos casos, podemos obtener la respuesta tras sustituir el valor x_i en la ecuación de ajuste del modelo (Ecuación 84).

$$\hat{y}_i \equiv \bar{y}_i = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 \cdot x_i = \bar{y} + \hat{\beta}_1 \cdot (x_i - \bar{x}) \quad \text{Ecuación 84}$$

Predicción de Y a partir de un nuevo valor de X

Dada la naturaleza estocástica del término de perturbación aleatoria introducido en el modelo de regresión lineal, la predicción estará afectada por un error. La varianza de \hat{y}_i , es el error cuadrático medio de la predicción (Ecuación 85), por lo que los intervalos de confianza para la predicción al 95 % vendrán dados por una expresión de la forma de la Ecuación 86. Al unir los extremos de los intervalos de confianza para cada predicción, es posible generar las denominadas bandas de predicción (B.P.) al 95 % de probabilidad.

$$\begin{aligned}
 E[(y_i - \hat{y}_i)^2] &= \text{Var}(y_i) + \text{Var}(\hat{y}_i) \\
 &= \sigma^2 \cdot \left(1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \right)
 \end{aligned}$$

Ecuación 85

$$I.C. (95 \%) = \hat{y}_i \pm t_{\alpha/2; (n-2)} \cdot S_r \cdot \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

Ecuación 86

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 - \hat{\beta}_1 \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{(n-2)}}$$

Ecuación 87

Estimación de la media de Y para un valor fijo de X

La varianza de la estimación del valor promedio de la variable dependiente (\bar{y}_i), para un valor fijo de la variable dependiente (x_i), viene dada por la Ecuación 88:

$$\begin{aligned}
 \text{var}(\bar{y}_i) &= \text{var}(\bar{y}) + (x_i - \bar{x})^2 \cdot \text{var}(\hat{\beta}_1) \\
 &= \sigma^2 \cdot \left(\frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \right)
 \end{aligned}$$

Ecuación 88

Por lo que los intervalos de confianza al 95 % de probabilidad para la estimación vendrán dados por la Ecuación 89

$$I.C. (95 \%) = \bar{y}_i \pm t_{\alpha/2; (n-2)} \cdot S_r \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

Ecuación 89

En este caso, el error introducido es menor debido a que al tratarse de la estimación de una media, estamos eliminando el error asociado a la perturbación aleatoria, dado que de forma implícita, en el supuesto de Normalidad del modelo de regresión lineal, se encontraba la condición de que la media de los residuos fuese cero. De este modo, el error de la estimación del valor medio de Y, contemplará únicamente el error asociado al ajuste realizado. Al unir los extremos de los intervalos de confianza para cada x_i , generaremos las bandas de confianza (B.C.)

para la estimación al 95 % de probabilidad. Las B.C. al 95 %, definen la región donde, con un 95 % de probabilidad, se encontrará la respuesta promedio para cada valor x_i .

A II.1.2.2 Pruebas de bondad de ajuste.

Con la finalidad de describir de forma correcta las características de una población de datos, a partir de una muestra poblacional, resulta necesario determinar de qué manera se distribuyen las observaciones que componen dicha muestra. Además, muchos de los procedimientos estadísticos inferenciales habitualmente utilizados se basan en el supuesto de que la población sobre la que vamos a inferir esté normalmente distribuida.

Las pruebas de bondad de ajuste son contrastes de hipótesis que se aplican a conjuntos de datos para determinar su similitud con una distribución teórica específica, con un nivel de significación determinado (α). La hipótesis nula (H_0) la constituye, en estos casos, que la distribución del conjunto de datos es similar a la distribución teórica específica, de modo que la hipótesis alternativa (H_1) sería que el conjunto de datos para los que se realiza el test no están distribuidos según el modelo teórico con el que se comparan.

Prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov.

La prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov (KS) es una prueba no paramétrica que se emplea para probar el grado de concordancia entre la distribución de datos empíricos de la muestra y alguna distribución teórica específica, cuyos parámetros son completamente conocidos.

Mediante la prueba se compara la distribución acumulada de las frecuencias teóricas con la distribución acumulada de las frecuencias observadas, se encuentra el punto de divergencia máxima y se determina qué probabilidad existe de que una diferencia de esa magnitud se deba al azar. La Ecuación 90 muestra el estadístico de contraste utilizado:

$$D = \max_{1 \leq i \leq n} |\hat{F}_n(x_i) - F_0(x_i)| \quad \text{Ecuación 90}$$

Donde:

- x_i es el i -ésimo valor observado en la muestra (tras ordenar los valores de menor a mayor)
- $\widehat{F}_n(x_i)$ es la función de distribución acumulada de las frecuencias observadas.
- $F_0(x_i)$ es la función de distribución acumulada de las frecuencias teóricas.

La función de distribución acumulada de las frecuencias observadas se calcula como la proporción de elementos en la muestra cuyos valores son menores o iguales a x_i :

$$\widehat{F}_n(x_i) = \begin{cases} 0 & \rightarrow \text{para } i = 1 \\ \frac{i}{n} & \rightarrow \text{para } 1 < i < n \\ 1 & \rightarrow \text{para } i = n \end{cases} \quad \text{Ecuación 91}$$

Si los valores observados son similares a los esperados, el valor de D será pequeño, por lo que el criterio para aceptar la hipótesis nula será que el valor de D sea inferior a un valor crítico D_α . El valor de D_α se elige de manera que la probabilidad de rechazar H_0 cuando las funciones de distribución acumulada de las frecuencias observadas y teóricas son iguales (H_0 es cierta), sea igual al nivel de significación para el que se realiza el contraste de hipótesis (α). Este valor depende del tipo de distribución a probar, y en general es de la forma presentada en la Ecuación 92.

$$D_\alpha = \frac{c_\alpha}{k(n)} \quad \text{Ecuación 92}$$

Donde c_α y $k(n)$ se encuentran en la Tabla 62 y la Tabla 63, respectivamente.

Distribución	α		
	0.1	0.05	0.01
General	1.224	1.358	1.628
Normal	0.819	0.895	1.035
Exponencial	0.990	1.094	1.308
Weibull $n=10$	0.760	0.819	0.944
Weibull $n=20$	0.779	0.843	0.973
Weibull $n=50$	0.790	0.856	0.988
Weibull $n=\infty$	0.803	0.874	1.007

Tabla 62. Valores del coeficiente c_α para diferentes tipos de distribución de contraste y diferentes niveles de significación α .

<i>Distribución</i>	<i>k(n)</i>
General	$k(n) = \sqrt{n} + 0.12 + \frac{0.11}{\sqrt{n}}$
Normal	$k(n) = \sqrt{n} - 0.01 + \frac{0.85}{\sqrt{n}}$
Exponencial	$k(n) = \sqrt{n} + 0.12 + \frac{0.11}{\sqrt{n}}$
Weibull	$k(n) = \sqrt{n}$

Tabla 63. ecuaciones para el cálculo del coeficiente k(n) para diferentes tipos de distribución

Test de normalidad de kolmogorov-Smirnov-Lilliefors.

El test de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors (KSL) es una modificación del test KS, propuesta por Hurbert Lilliefors, para comprobar si la muestra proviene de una población normalmente distribuida, cuando los parámetros de la población se desconocen. En dicho caso, la aplicación del test KS podría conducir a resultados extremadamente conservadores, dado que la probabilidad de cometer un error tipo I (rechazar H_0 , siendo esta cierta en la población) es menor que la dada por las tablas para el estadístico del test KS (Lilliefors, 1967).

Al contrario que el test KS, en el que μ y σ^2 deben ser conocidos de antemano, los parámetros del test KSL son estimados a partir de la muestra. El estadístico para el test KSL se calculará de igual modo que para el test KS, sustituyendo $F_0(x_i)$ por la función de distribución normal acumulada con $\mu = \bar{X}$, el promedio de la muestra, y $\sigma^2 = s^2$, la varianza de la muestra, definidos con denominador n-1.

El estadístico resultante para el test KSL es el mismo que el estadístico del test KS. Sin embargo, los valores críticos tabulados para el estadístico son diferentes para cada test (Lilliefors calculó el valor crítico del estadístico mediante el método Montecarlo), por lo que es posible alcanzar conclusiones diferentes sobre la normalidad de la distribución de la población de la que provienen los datos.

Otra forma de evaluar si la muestra proviene de una población normalmente distribuida es a través del P-valor. El P-valor nos informa sobre cuál sería el nivel de significación, α , más pequeño que nos permitiría rechazar H_0 . Así pues, un p-valor superior al α escogido, indicará que no hay evidencia estadística para rechazar H_0 .

A II.1.2.3 Comparación de Varianzas

Test de Levene de igualdad de varianzas.

El test de Levene es un estadístico inferencial usado para evaluar la igualdad de varianzas entre dos muestras diferentes. La importancia de realizar este test radica en que algunos procedimientos estadísticos comunes asumen que las varianzas de las poblaciones a partir de las cuales se obtuvieron las muestras son iguales. Mediante este test se prueba la asunción anterior, por lo que la hipótesis nula (H_0) la constituye la homogeneidad de varianzas u homoscedasticidad de las poblaciones. Un P-valor inferior al nivel de significación (generalmente $\alpha = 0,05$), indica que es poco probable que las diferencias existentes entre las varianzas de las muestras se deban a la aleatoriedad del muestreo a partir de poblaciones con varianzas iguales, por lo que se rechaza H_0 .

A II.1.2.4 Comparación de medias

Test t de Student de localización para dos muestras independientes

Un test t de Student es cualquier prueba estadística en la que el estadístico utilizado tiene una distribución t de Student si la hipótesis nula es cierta. Se aplica cuando la población estudiada sigue una distribución normal pero el tamaño muestral es demasiado pequeño como para que el estadístico en el que está basada la inferencia esté normalmente distribuido, utilizándose una estimación de la desviación típica en lugar del valor real.

Mediante el test t de Student de localización para dos muestras se comprueba si las medias de dos muestras distribuidas normalmente son iguales, cuando se da la homogeneidad de sus varianzas. Cuando no se puede asumir igualdad de varianzas, el test recibe el nombre de prueba t de Welch. En general, la mayoría de los test t son de la forma dada por la Ecuación 93.

$$T = \frac{Z}{s} \qquad \text{Ecuación 93}$$

Donde Z y s son funciones de los datos estudiados. Z se suele diseñar de manera que sea sensible a la hipótesis alternativa (generalmente, mayor cuando la hipótesis alternativa sea cierta) y s es un parámetro de escala que permite que la distribución de T pueda ser determinada.

En la prueba t de Student de localización para dos muestras independientes, deberían comprobarse los siguientes supuestos:

- Cada una de las dos poblaciones que están siendo comparadas sigue una distribución normal. Para comprobar este supuesto, puede hacerse uso del test de bondad de ajuste de KS o el test de normalidad de KSL.
- Si se está utilizando la definición original de Student sobre su prueba t, las dos poblaciones a ser comparadas deben poseer las mismas varianzas. Para comprobar este supuesto, se puede hacer uso del test de Levene de igualdad de varianzas.
- Los datos usados para llevar a cabo la prueba deben ser muestreados independientemente para cada una de las dos poblaciones que se comparan.

Análisis de la varianza (ANOVA)

Este método fue desarrollado por R.A. Fischer entre los años 1920 y 1930. Los ejemplos de aplicación son múltiples, pudiéndose agrupar, según el objetivo que persiguen, en dos principalmente: la comparación de la media de múltiples poblaciones de datos y la estimación de los componentes que influyen sobre un proceso.

Para utilizar el ANOVA de forma satisfactoria deben cumplirse tres tipos de hipótesis, aunque es un método robusto frente a ligeras desviaciones de las condiciones ideales:

- Cada conjunto de datos debe ser independiente del resto.
- Los resultados obtenidos para cada conjunto deben seguir una distribución normal.
- Las varianzas de cada conjunto de datos no deben diferir de forma significativa.

Cuando el objetivo es comparar los diversos valores medios para determinar si alguno de ellos difiere significativamente del resto, la ventaja del uso del método ANOVA frente a la comparación de pares de medias con el método de la t de Student es doble. Por un lado, el esfuerzo computacional requerido es menor y, por otro lado, al reducir el número de contrastes, se reduce el error tipo I (probabilidad de rechazar la H_0 , siendo esta cierta).

Sea cual sea la aplicación, en todos los casos hay dos posibles fuentes de variación: una debida al error aleatorio en la medida y la otra debida a uno o varios factores, que pueden ser controlados o aleatorios (Ecuación 94)

$$SC_T = SC_{Aleatorio} + SC_{Factor} \quad \text{Ecuación 94}$$

SC_T es la suma de las diferencias al cuadrado de cada resultado individual (x_{kj} , donde k indica el n° de grupo y j indica el n° de observación) respecto a la media de todos los resultados (\bar{x}) y por tanto, representa la variación total de los datos (Ecuación 95).

$$SC_T = \sum_{k=1}^K \sum_{j=1}^{n_k} n_k \cdot (x_{kj} - \bar{x})^2 \quad \text{Ecuación 95}$$

$SC_{Aleatorio}$ mide las desviaciones entre los resultados individuales de cada grupo y la media del grupo (\bar{x}_k) y, por lo tanto, es una medida de la dispersión dentro de los grupos (Ecuación 96).

$$SC_{Aleatorio} = \sum_{k=1}^K \sum_{j=1}^{n_k} (x_{kj} - \bar{x}_k)^2 \quad \text{Ecuación 96}$$

Cuando se divide $SC_{Aleatorio}$ por los correspondientes grados de libertad, $(N - K)$, se obtiene el cuadrado medio "intra-grupos", $CM_{Aleatorio}$ (Ecuación 97).

$$CM_{Aleatorio} = \frac{SC_{Aleatorio}}{(N - K)} \quad \text{Ecuación 97}$$

Por su lado, SC_{Factor} mide las desviaciones entre los resultados medios de los grupos y el resultado medio global (Ecuación 98)

$$SC_{Factor} = \sum_{k=1}^K n_k \cdot (\bar{x}_k - \bar{\bar{x}})^2 \quad \text{Ecuación 98}$$

Dividido por sus grados de libertad ($K - 1$), constituye el cuadrado medio "inter- grupos", CM_{Factor} (Ecuación 99).

$$CM_{Factor} = \frac{SC_{Factor}}{(K - 1)} \quad \text{Ecuación 99}$$

Tras calcular $CM_{Aleatorio}$ y CM_{Factor} , como una medida de la varianza dentro de los grupos y entre los grupos, respectivamente, se comparan mediante una prueba de hipótesis *F de Fischer*. El estadístico F se calcula según la Ecuación 16.

$$F_{Calculado} = \frac{CM_{Factor}}{CM_{Aleatorio}} \quad \text{Ecuación 100}$$

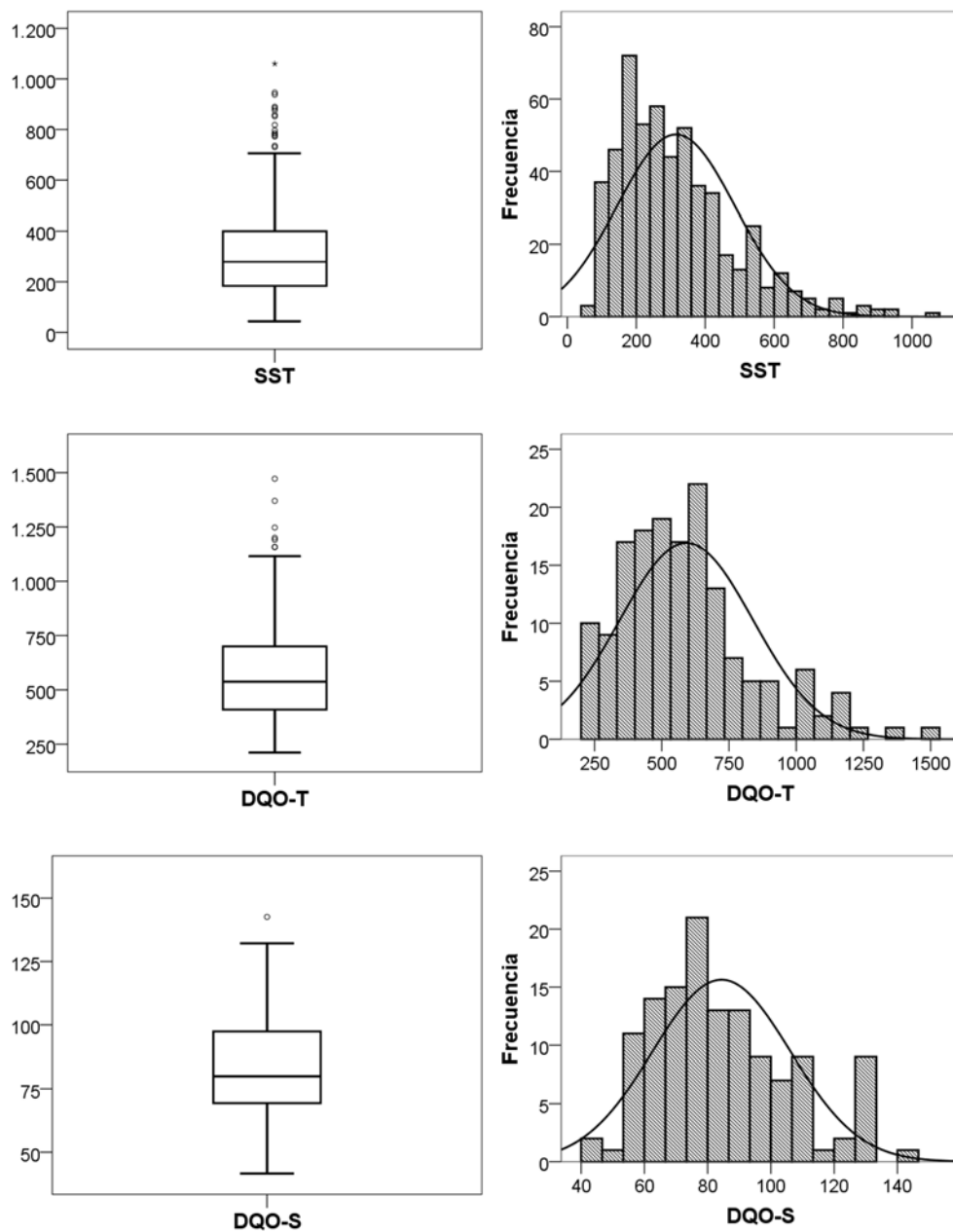
Siendo la región de rechazo de H_0 :

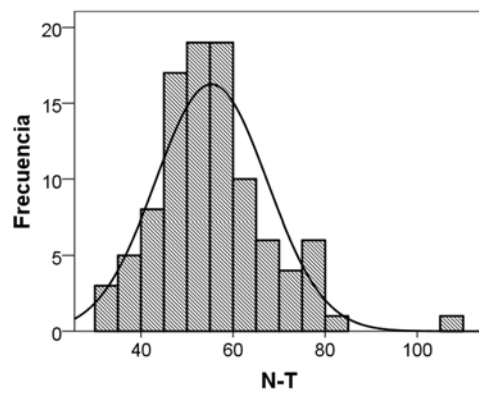
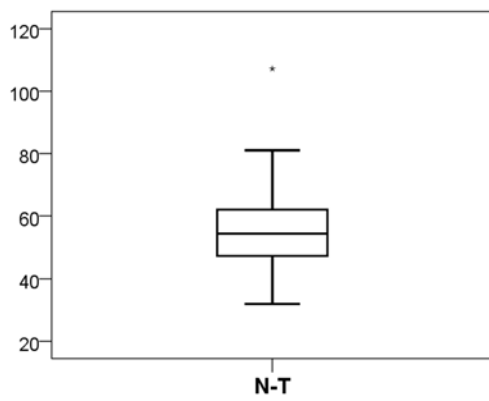
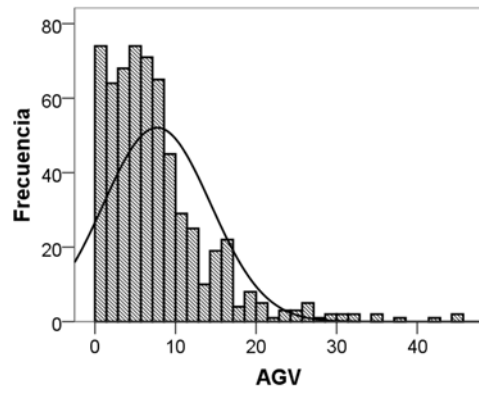
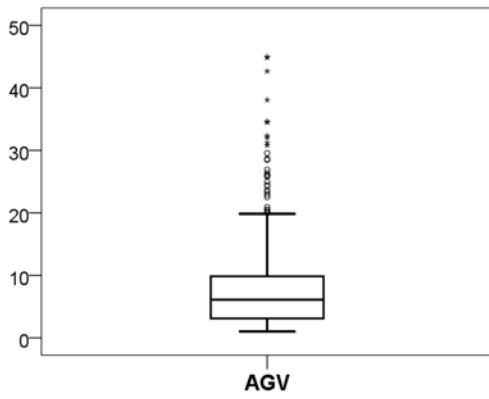
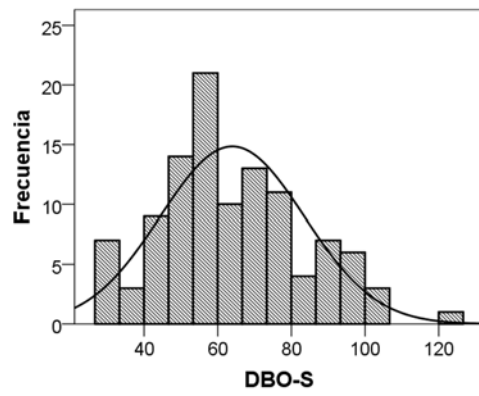
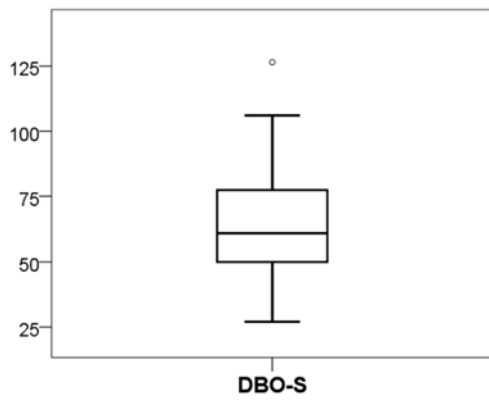
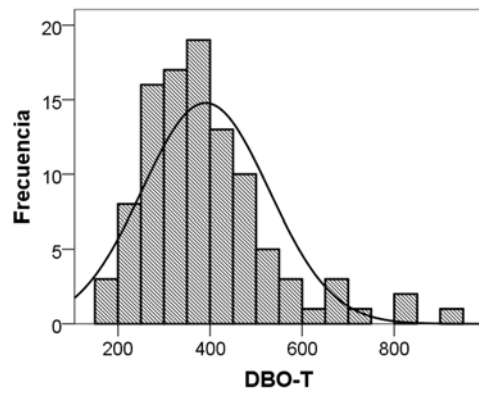
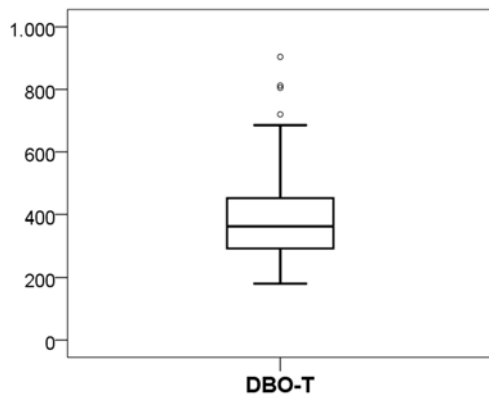
$$F_{Calculado} < F_{\alpha;N,K} \quad \text{Ecuación 101}$$

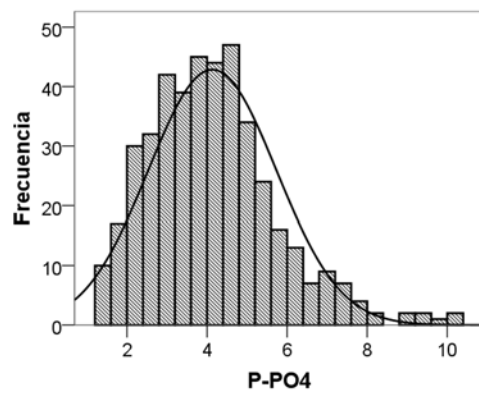
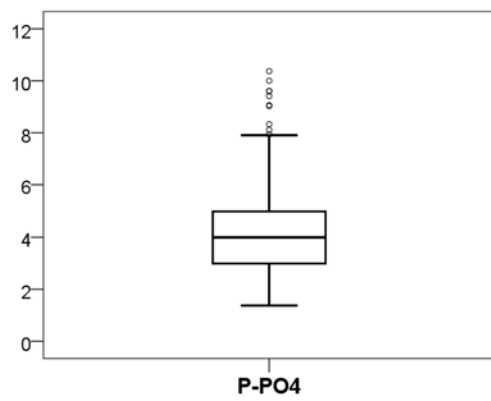
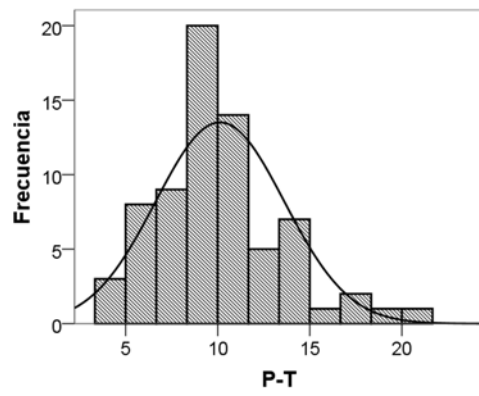
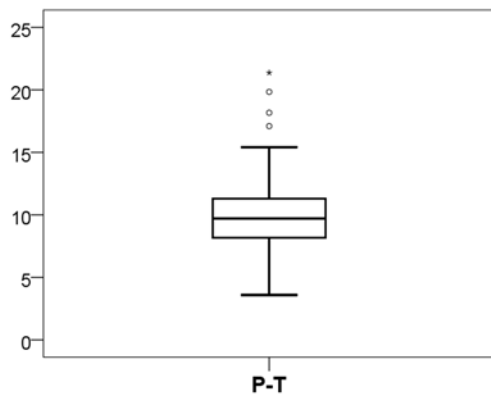
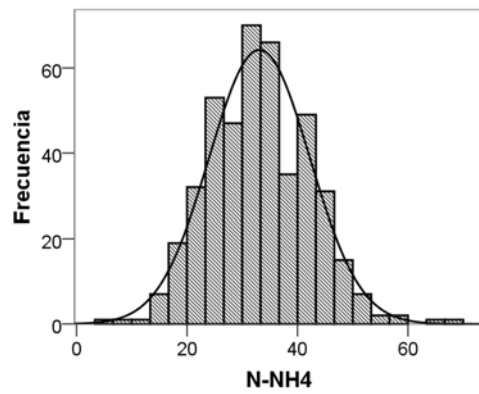
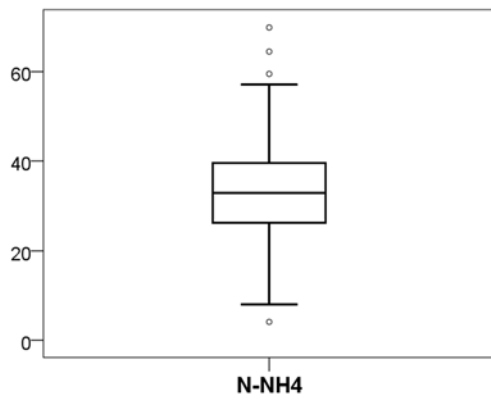
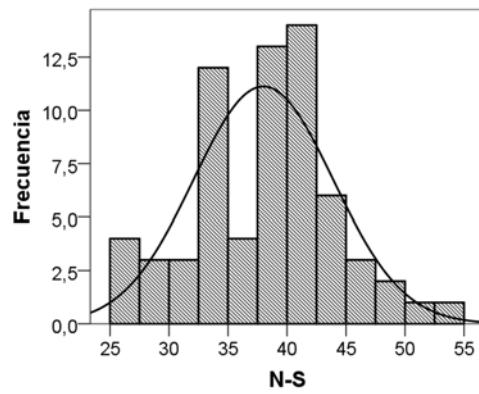
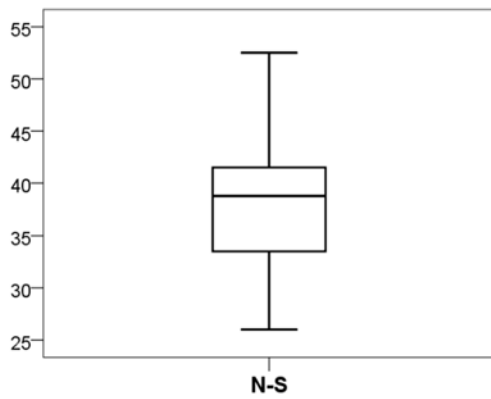
Si no existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, la presencia de errores aleatorios será la causa predominante de la discrepancia entre los valores medios, y el valor de $F_{Calculado}$ será reducido. Si, por el contrario, existe alguna diferencia significativa entre los grupos, CM_{Factor} será mucho mayor que $CM_{Aleatorio}$, con lo cual el valor de $F_{Calculado}$ será mayor que el valor de F tabulado para el nivel de significación, α , escogido y los grados de libertad mencionados ($F_{\alpha;N,K}$). En este caso, se podría concluir que la media de, al menos, uno de los grupos difiere significativamente de las medias del resto de grupos.

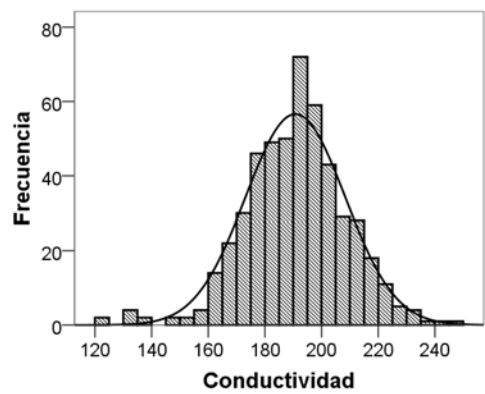
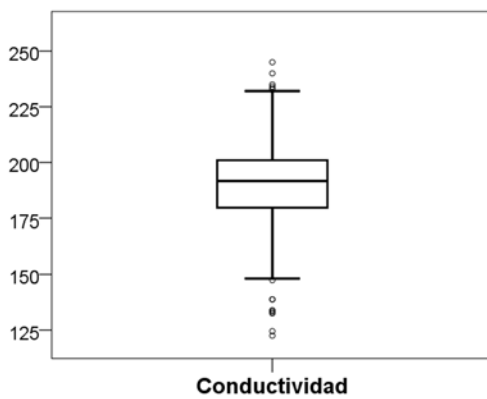
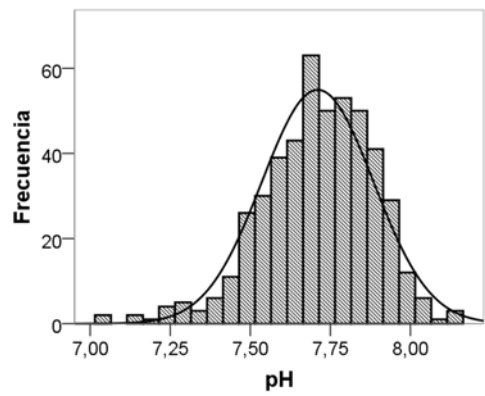
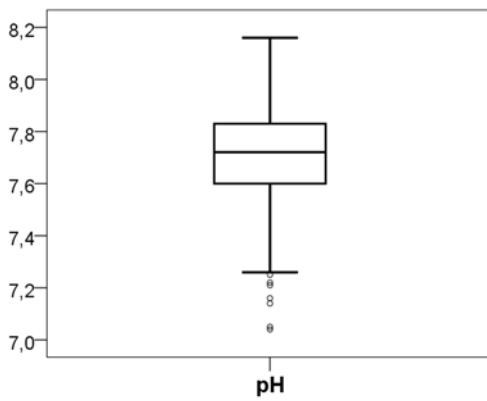
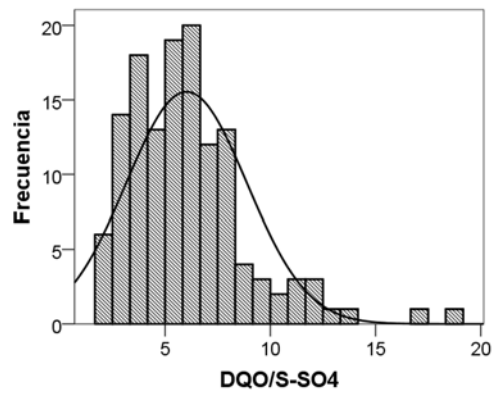
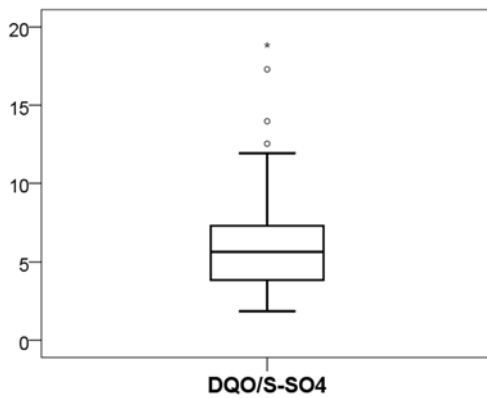
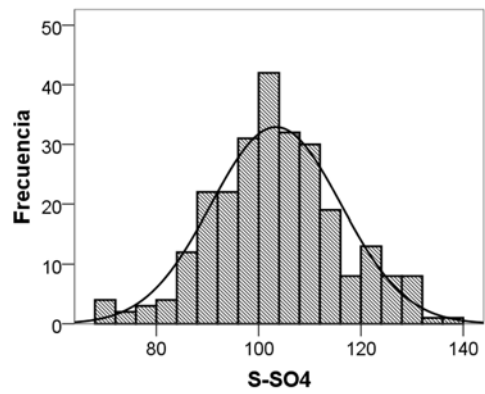
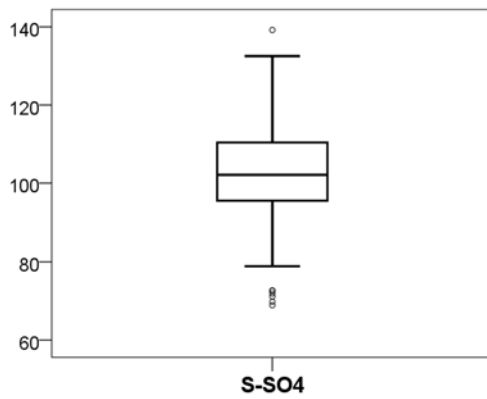
A II.2 Caracterización del afluente

En la Figura 77, se presentan los histogramas de frecuencias y los diagramas de cajas y bigotes de los diferentes parámetros característicos del A.R.U afluente al sistema. Estas representaciones gráficas, además de ofrecer una idea general de cómo se distribuye cada uno de los parámetros analizados, ofrecen también un resumen gráfico del conjunto de observaciones, señalando aquellas observaciones atípicas que no siguen la tendencia general, tal y cómo se definieron en el apartado A II.1.1.3.









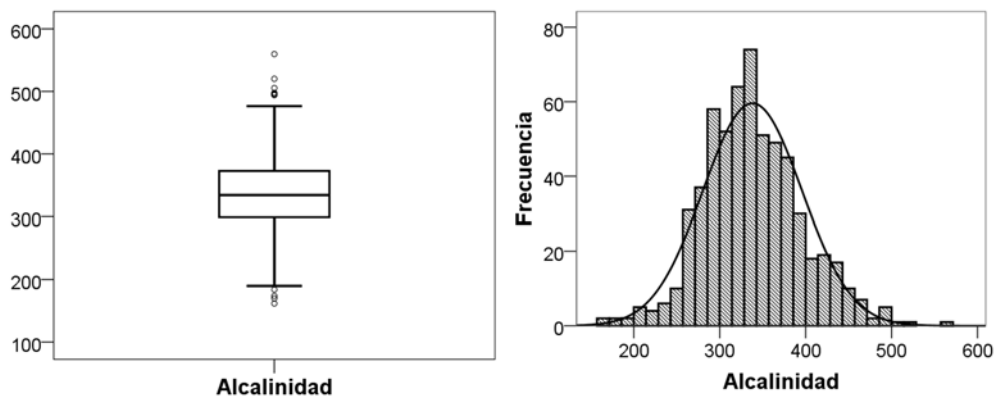


Figura 77. Histogramas y Diagramas de caja y bigotes de los diferentes parámetros característicos del A.R.U afluente. La línea continua en los histogramas representa la curva de distribución normal teórica (parámetros calculados a partir de la muestra).

En los histogramas presentados en la Figura 77, es posible observar que algunas de las distribuciones no se ajustan a la curva normal teórica de distribución de frecuencias, representada mediante una línea continua en cada una de las diferentes representaciones. Además, en los diagramas de caja y bigotes representados en la Figura 77, se observa que muchos de los parámetros característicos del ARU afluente presentan valores atípicamente elevados. Estos valores atípicos están relacionados con las descargas puntuales que recibe la EDAR del barranco del Carraixet, y son los que provocan que la curva de distribución de frecuencias sea asimétrica, presentando un sesgo a la izquierda. En algunos casos (i.e. $N-NH_4$, $S-SO_4$, pH, Conductividad, Alcalinidad), se observan valores atípicamente reducidos relacionados con episodios de lluvias.

Cuando la distribución de frecuencias de una muestra poblacional no es simétrica con respecto al valor central (no está normalmente distribuida), no es recomendable utilizar el promedio y la desviación estándar para resumir la tendencia central y la dispersión de la muestra poblacional, respectivamente, dado que se ven altamente afectadas por valores anormalmente elevados (cuando el sesgo es hacia la izquierda) o reducidos (cuando el sesgo es hacia la derecha).

En la Figura 78 se han representado las curvas de distribución de frecuencias más comunes (i.e. Normal y Log-Normal), dado que permiten modelar la mayor parte de fenómenos naturales.

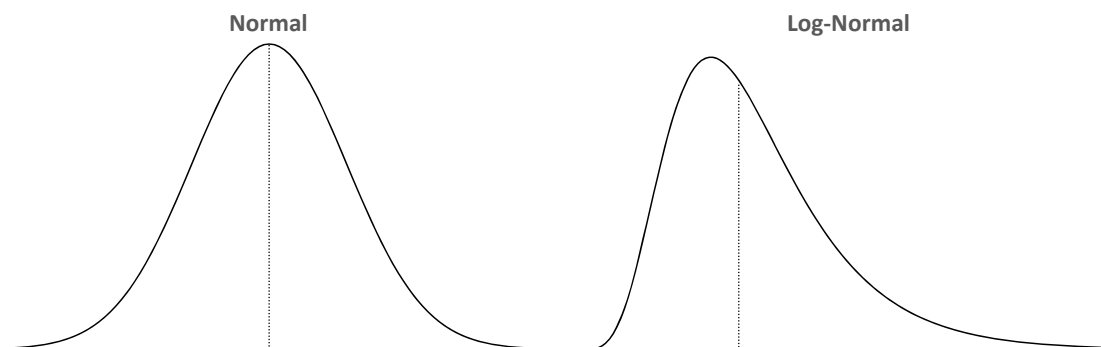
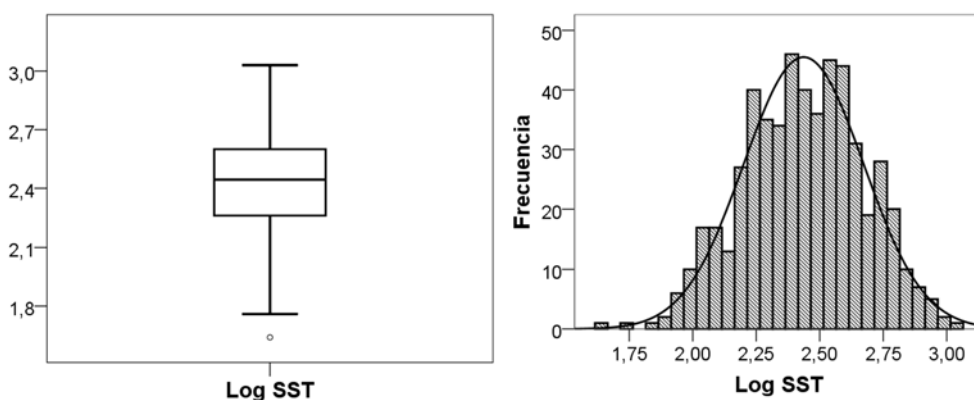
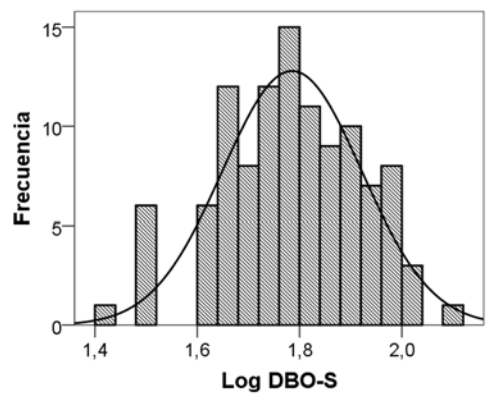
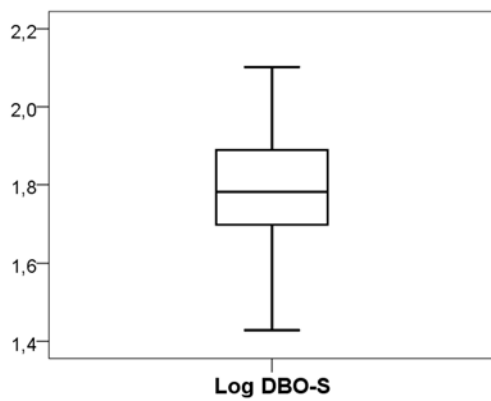
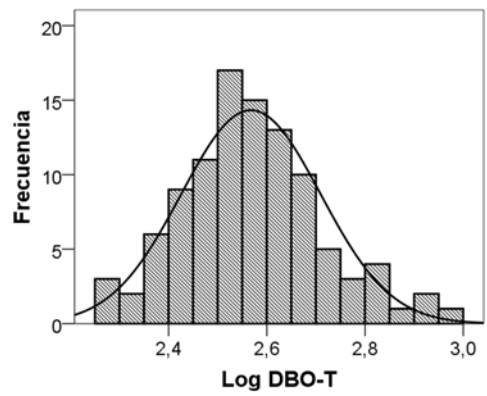
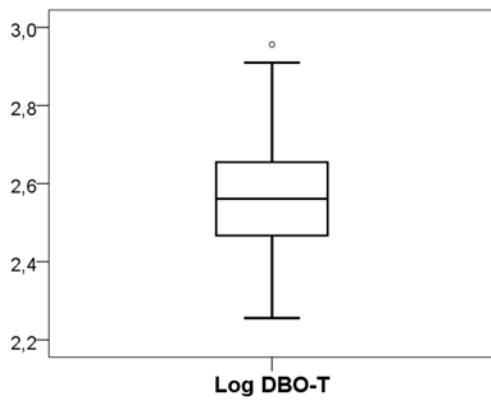
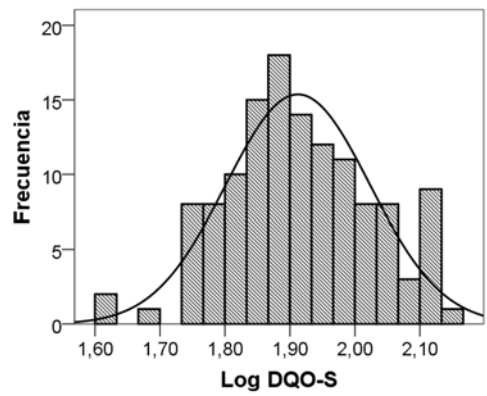
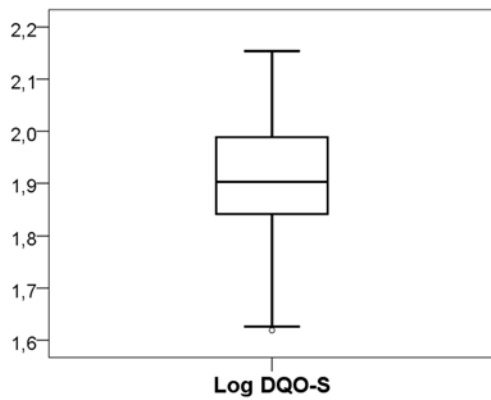
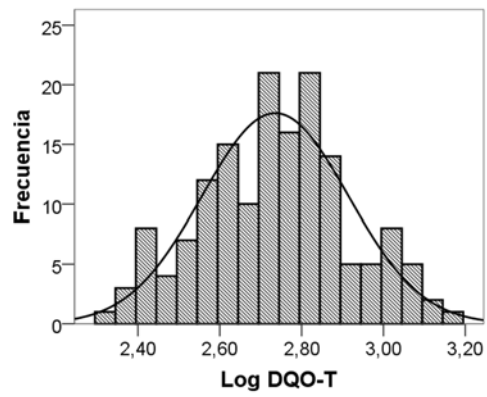
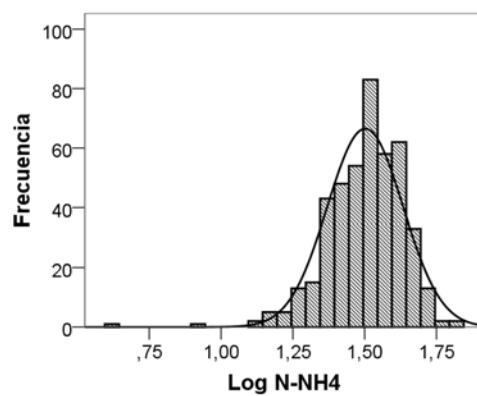
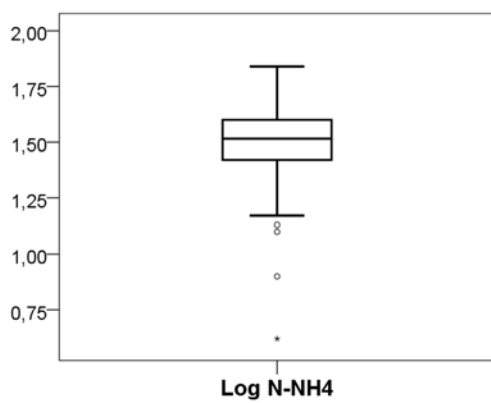
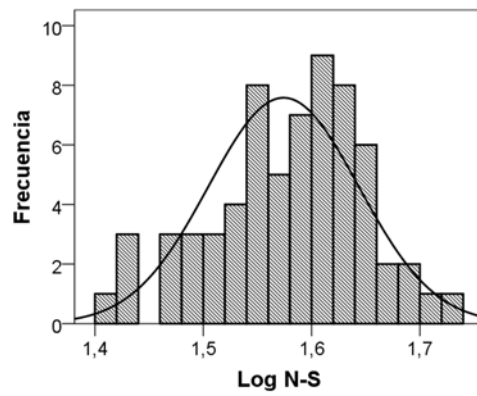
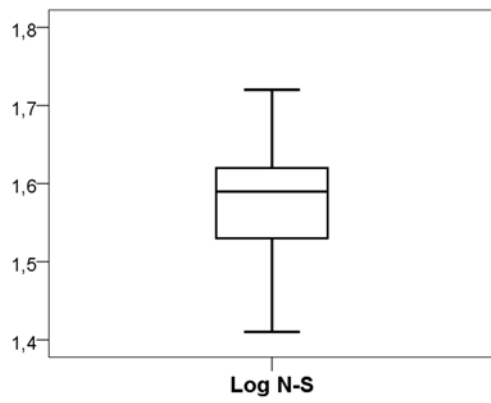
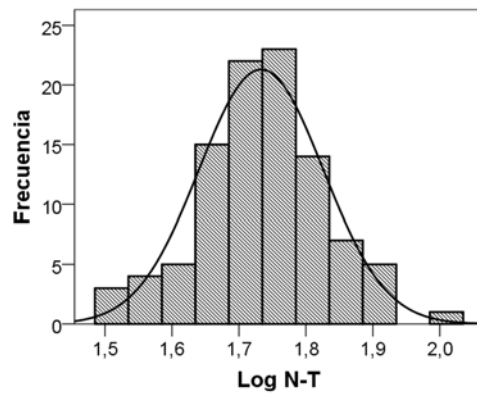
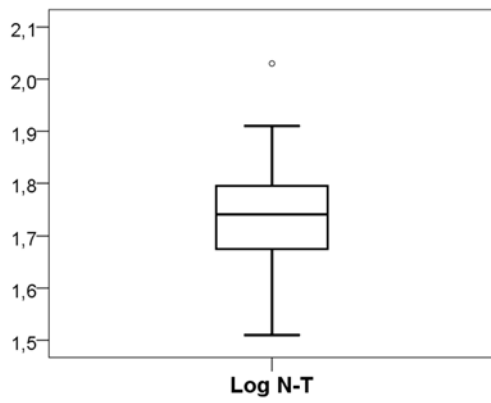
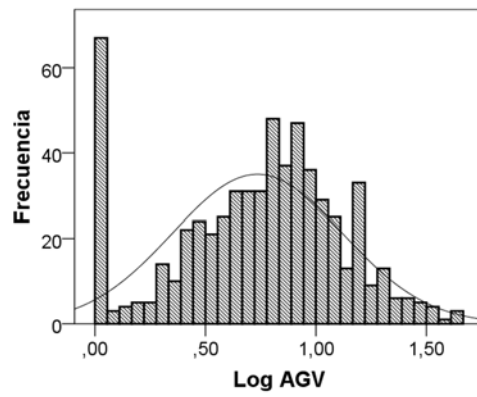
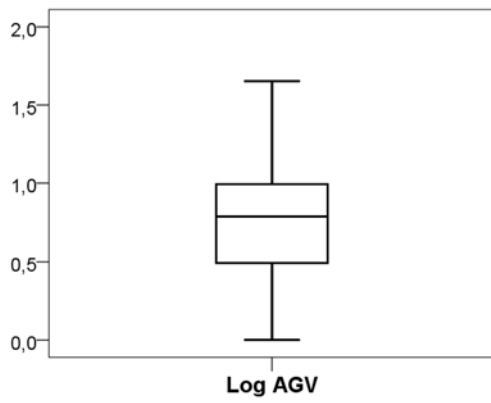


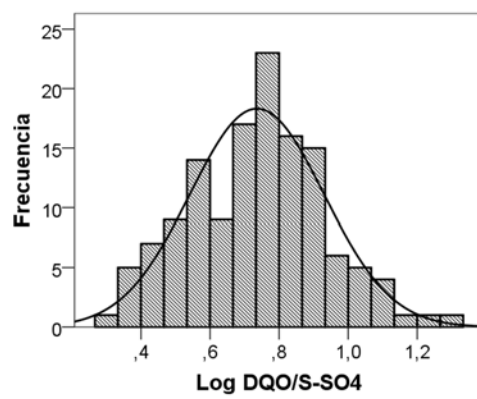
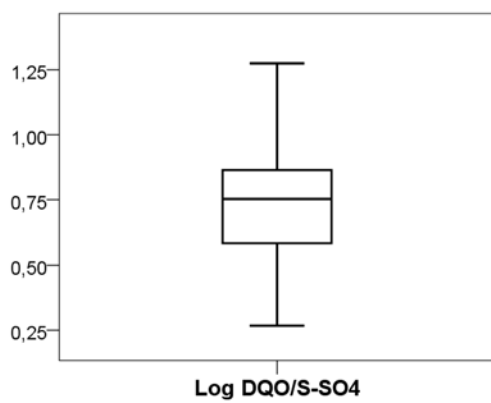
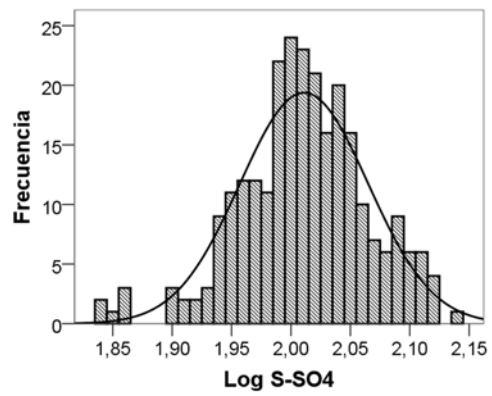
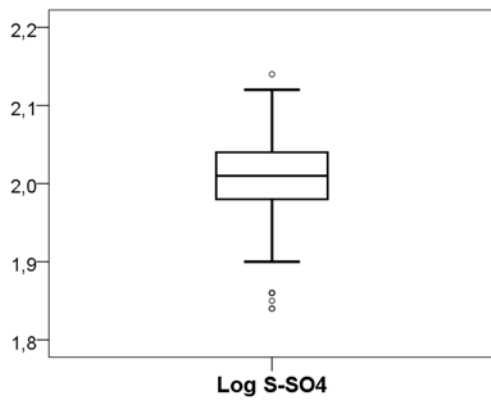
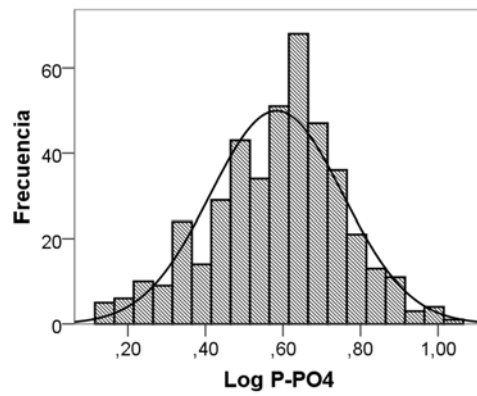
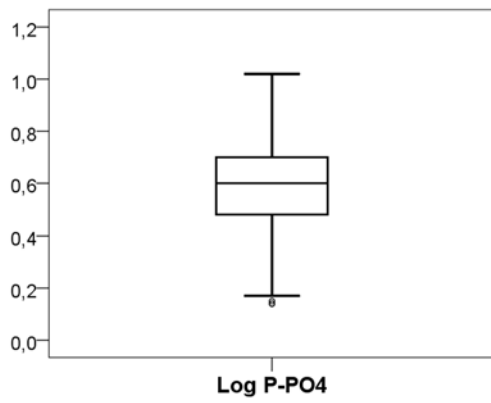
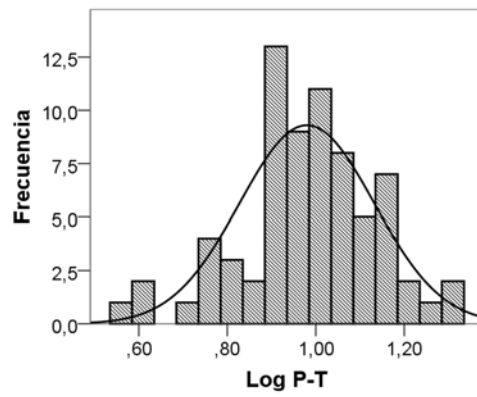
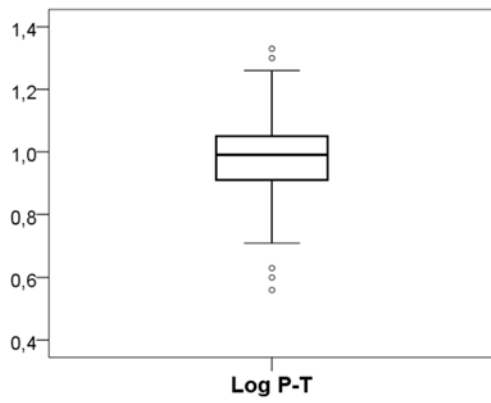
Figura 78. Tipos de distribución de frecuencias más comunes. La línea discontinua representa el promedio de la población.

El modelo normal se ajusta a variables resultantes de la suma de unas pocas causas independientes, mientras que el modelo Log-normal se utiliza para variables resultantes del producto multiplicativo de muchos pequeños factores individuales. Por otro lado, el modelo Log-normal se caracteriza por tener el logaritmo normalmente distribuido. Así pues, con la finalidad de obtener una idea de si los parámetros característicos del ARU afluente presentan una distribución log-normal, en la Figura 79 se presentan los histogramas de frecuencias de los logaritmos de los diferentes parámetros. En la Figura 79 también se han incluido los diagramas de caja y bigotes, para identificar los valores atípicos y resumir gráficamente los diferentes parámetros característicos.









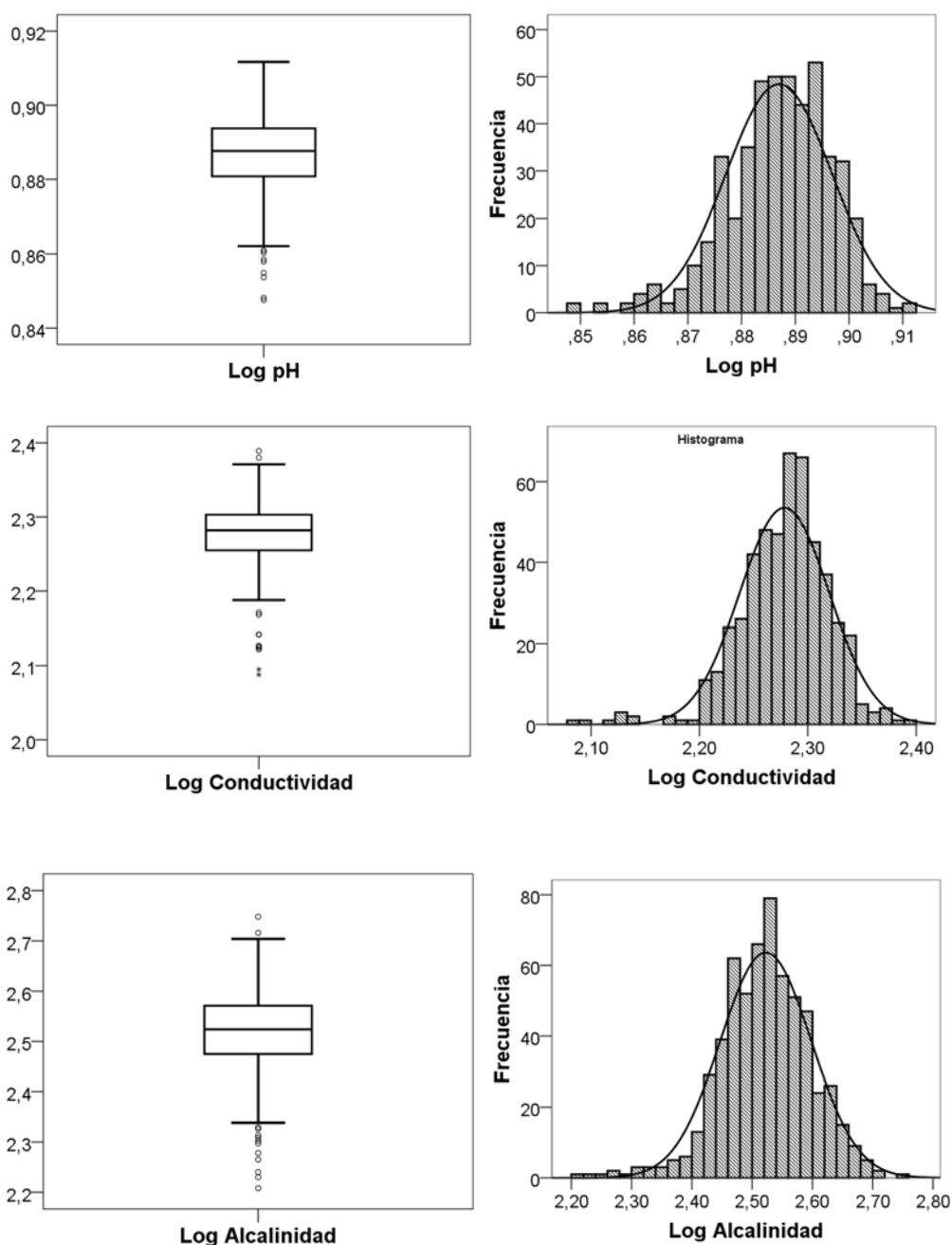


Figura 79. Histogramas de las observaciones y de sus logaritmos, de diferentes parámetros físico-químicos característicos del ARU afluente al sistema.

De forma general, en la Figura 79 se observa que al resumir gráficamente los conjuntos de los logaritmos de las observaciones mediante diagramas de caja y bigotes, el número de valores atípicos se ha reducido con respecto a los diagramas de caja y bigotes de las observaciones, presentados en la Figura 77. Además, al comparar muchos de los diagramas de caja y bigotes de las observaciones con los de sus logaritmos, se aprecia que la mediana está más centrada en

la “caja”, indicando una mayor simetría de los datos con respecto al valor central. Esto también se observa al comparar los histogramas de frecuencias de las observaciones con los de sus logaritmos, dado que los últimos se ajustan mejor a la función de distribución normal teórica que los primeros.

Según lo comentado en el apartado A II.1.2.2, para describir correctamente los parámetros característicos del ARU influyente a partir de la muestra poblacional de la que disponemos, resulta necesario determinar cómo se distribuyen las observaciones que componen dicha muestra. Para ello, aplicamos test de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov (KS, ver sección A II.1.2.2) a cada una de las muestras poblacionales de los diferentes parámetros físico-químicos con los que vamos a caracterizar el ARU

En la Tabla 64 se presenta el resultado del test de bondad de ajuste KS, utilizando la distribución normal como distribución de contraste.

<i>Parámetro</i>	<i>N</i>	<i>Parámetros normales^{a,b}</i>		<i>D</i>	<i>D_α</i>	<i>P-Valor</i>
		<i>Media</i>	<i>Desv. típica</i>			
<i>SST</i>	538	315,1	171,0	0,097	0,059	0,000
<i>DQO_T</i>	158	591,6	248,4	0,097	0,108	0,103
<i>DQO_S</i>	128	84,4	21,8	0,107	0,120	0,105
<i>DBO_T</i>	102	390,3	137,7	0,120	0,135	0,105
<i>DBO_S</i>	109	63,9	19,5	0,095	0,130	0,275
<i>AGV</i>	606	7,6	6,7	0,130	0,055	0,000
<i>N-NH₄</i>	440	33,1	9,1	0,038	0,065	0,533
<i>N_T</i>	99	55,3	12,2	0,099	0,137	0,291
<i>N_S</i>	66	38,0	5,9	0,073	0,167	0,874
<i>P-PO₄</i>	429	4,13	1,60	0,065	0,066	0,051
<i>P_T</i>	71	10,12	3,49	0,129	0,161	0,191
<i>S-SO₄</i>	262	103,4	12,7	0,047	0,084	0,613
<i>DQO_T/S-SO₄</i>	134	6,02	2,87	0,107	0,117	0,091
<i>pH</i>	480	7,71	0,17	0,053	0,062	0,130
<i>Conductividad</i>	499	190,7	17,6	0,035	0,061	0,562
<i>Alcalinidad</i>	603	338,1	57,7	0,063	0,055	0,016

a. La distribución de contraste es la Normal.

b. Se han calculado a partir de los datos.

Tabla 64. Test de bondad de ajuste KS para diferentes parámetros físico-químicos característicos del ARU afluente al sistema.

En la Tabla 64, se presentan: el número de observaciones (N) con el que cuenta cada muestra poblacional; los estadísticos resumen de la tendencia central (Media) y dispersión (D.E.); los valores del estadístico KS (D) y del valor crítico (D_α) por encima del cual rechazaríamos H_0 ; y el valor del P-valor. Se han resaltado los valores del P-valor mayores que el nivel de significación ($\alpha = 0.05$), para los cuales no rechazaríamos la H_0 (i.e., DQO_T, DQO_S, DBO_T, DBO_S, N-NH₄, N_T, N_S, P-PO₄, P_T, S-SO₄, DQO_T/S-SO₄, pH y Conductividad). Para los parámetros anteriores, el estadístico calculado se encuentra fuera de la región de rechazo ($D < D_\alpha$).

A partir de los resultados mostrados en la Tabla 64, únicamente rechazaríamos la H_0 al contrastar las distribuciones de las observaciones de SST, AGV y Alcalinidad con la función de distribución normal teórica, dado que el estadístico calculado se encuentra en la región de rechazo, y además, el P-Valor es inferior al nivel de significación ($\alpha = 0,05$). Sin embargo, los histogramas mostrados en la Figura 77 y la Figura 79 sugieren que la distribución de algunos de los parámetros, que según el test KS están normalmente distribuidos, parece ajustarse a una distribución Log-normal, por lo que se aplican test de bondad de ajuste a los logaritmos de las observaciones de los diferentes parámetros característicos del ARU. Los resultados se muestran en la Tabla 65.

A partir de los resultados mostrados en la Tabla 65 podemos obtener algunas conclusiones sobre la distribución de frecuencias que presentan algunos de los parámetros característicos del ARU analizados. En primer lugar se observa que, al contrario de lo que ocurría con el estadístico calculado a partir de las observaciones de SST y AGV, el estadístico calculado a partir de sus logaritmos se encuentra fuera de la región de rechazo de H_0 , lo que nos llevaría a concluir que los parámetros SST y Alcalinidad presentan una distribución Log-normal. En segundo lugar, el estadístico calculado a partir de las observaciones de N-NH₄ y P-PO₄ se encuentra fuera de la región de rechazo de H_0 . Sin embargo, al calcularlo a partir de los logaritmos de dichas observaciones, se encuentra dentro de la región de rechazo, por lo que podemos concluir que los parámetros N-NH₄ y P-PO₄ presentan una distribución normal.

<i>Parámetro</i>	<i>N</i>	<i>Parámetros normales^{a,b}</i>		<i>D</i>	<i>D_α</i>	<i>P-Valor</i>
		<i>Media</i>	<i>Desv. típica</i>			
<i>Log₁₀ SST</i>	538	2,437	0,236	0,040	0,059	0,343
<i>Log₁₀ DQO_T</i>	158	2,736	0,179	0,045	0,108	0,909
<i>Log₁₀ DQO_S</i>	128	1,912	0,111	0,059	0,120	0,763
<i>Log₁₀ DBO_T</i>	102	2,568	0,142	0,053	0,135	0,937
<i>Log₁₀ DBO_S</i>	109	1,785	0,136	0,046	0,130	0,975
<i>Log₁₀ AGV</i>	606	0,599	0,759	0,217	0,055	0,000
<i>Log₁₀ N-NH₄</i>	440	1,502	0,132	0,071	0,065	0,024
<i>Log₁₀ NT</i>	99	1,733	0,093	0,073	0,137	0,670
<i>Log₁₀ N_S</i>	66	1,574	0,069	0,106	0,167	0,452
<i>Log₁₀ P-PO₄</i>	429	0,584	0,171	0,068	0,066	0,040
<i>Log₁₀ P_T</i>	71	0,980	0,152	0,094	0,161	0,551
<i>Log₁₀ S-SO₄</i>	262	2,011	0,054	0,078	0,084	0,085
<i>Log₁₀ DQO_{T/S-SO₄}</i>	134	0,736	0,195	0,055	0,117	0,820
<i>Log₁₀ pH</i>	480	0,887	0,010	0,058	0,062	0,078
<i>Log₁₀ Conductividad</i>	499	2,278	0,041	0,058	0,061	0,071
<i>Log₁₀ Alcalinidad</i>	603	2,523	0,080	0,042	0,055	0,238

a. La distribución de contraste es la Normal.
b. Se han calculado a partir de los datos.

Tabla 65. Test de bondad de ajuste KS para los logaritmos de diferentes parámetros físico-químicos característicos del ARU afluente al sistema

Al calcular el estadístico a partir de las observaciones del resto de parámetros, o de sus logaritmos (excepto para el caso de los AGV), encontramos que el estadístico se encuentra fuera de la región de rechazo de H_0 en ambos casos, por lo que no podemos concluir de forma clara cuál es el tipo de distribución que presentan. En el apartado A II.1.2.2 se ha comentado que, cuando los parámetros de la distribución teórica con la que se contrasta (μ y σ) se desconocen y se calculan a partir de la muestra, es posible que el resultado propuesto por el test de bondad de ajuste KS sea excesivamente conservador, incrementando la posibilidad de cometer error tipo I, o falso positivo (no rechazar H_0 , siendo ésta falsa en la población).

Para evitar el error tipo I, se procedió a aplicar el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors (KSL, ver sección A II.1.2.2) sobre las muestras de los diferentes parámetros característicos del ARU a las que no habíamos podido atribuir una distribución de frecuencias clara con el test de bondad de ajuste de KS. En la Tabla 66 y la Tabla 67 se presentan los resultados obtenidos al aplicar el test de normalidad KSL sobre las muestras de DQO_T, DQO_S,

DBO_T, DBO_S, N_T, N_S, P_T, S-SO₄, DQOT/S-SO₄, pH y Conductividad, y sus correspondientes logaritmos, respectivamente.

<i>Parámetro</i>	<i>N</i>	<i>Parámetros normales</i>		<i>D</i>	<i>D_α</i>	<i>P-Valor</i>
		<i>Media</i>	<i>Desv. típica</i>			
<i>DQO_T</i>	158	591,6	248,4	0,097	0,071	0,001
<i>DQO_S</i>	128	84,4	21,8	0,107	0,079	0,001
<i>DBO_T</i>	102	390,3	137,7	0,120	0,088	0,010
<i>DBO_S</i>	109	63,9	19,5	0,095	0,085	0,016
<i>N_T</i>	99	55,3	12,2	0,099	0,089	0,019
<i>N_S</i>	66	38,0	5,9	0,073	0,110	>0,200
<i>P_T</i>	71	10,12	3,49	0,129	0,106	0,005
<i>S-SO₄</i>	262	103,4	12,7	0,047	0,055	>0,200
<i>DQO_T/S-SO₄</i>	134	6,02	2,87	0,107	0,077	0,001
<i>pH</i>	480	7,71	0,17	0,053	0,041	0,002
<i>Conductividad</i>	499	190,7	17,6	0,035	0,040	0,180

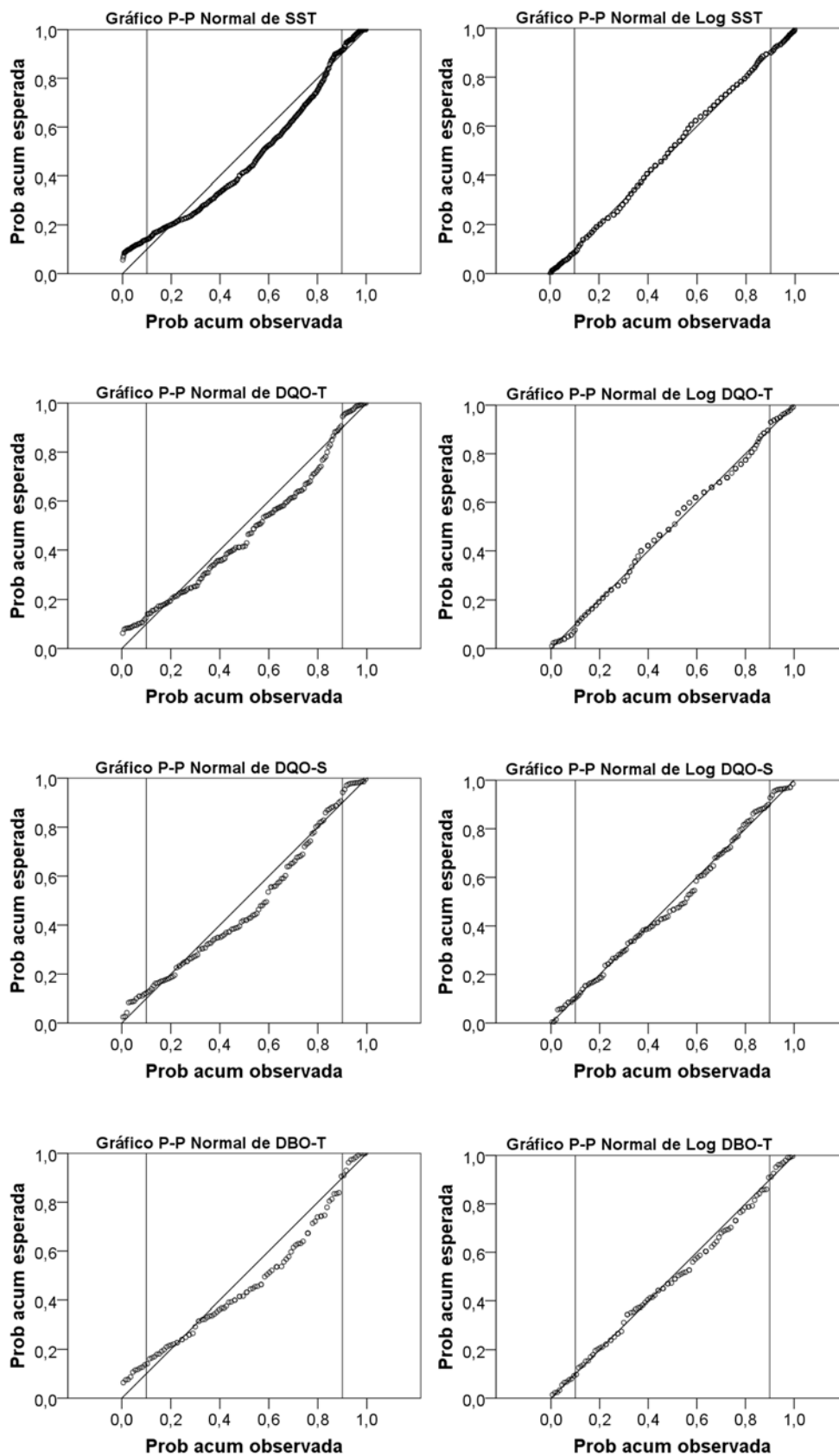
Tabla 66. Test de normalidad KSL para las observaciones de diferentes parámetros físico-químicos característicos del ARU afluente.

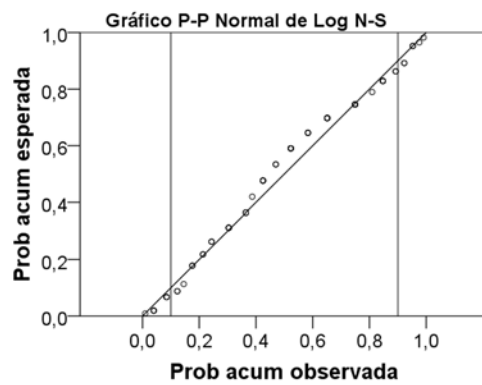
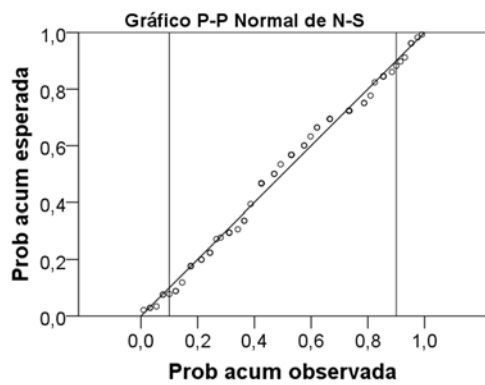
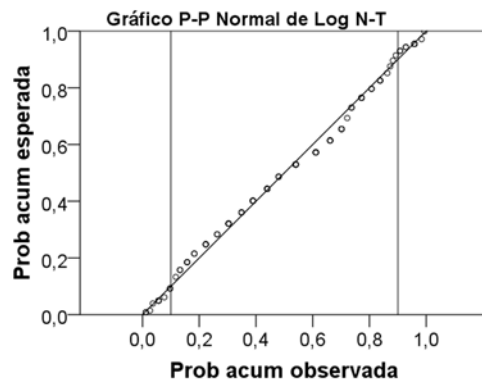
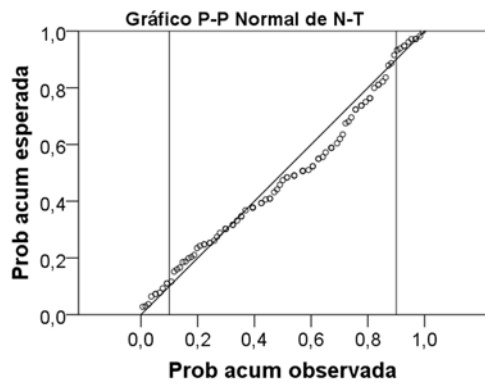
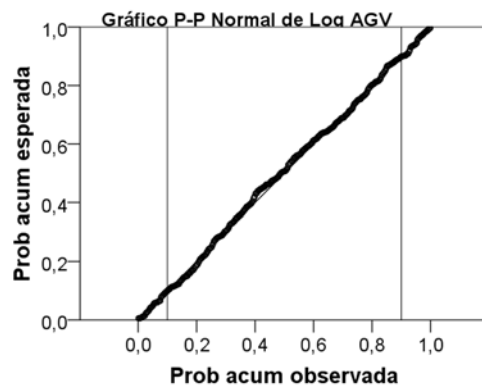
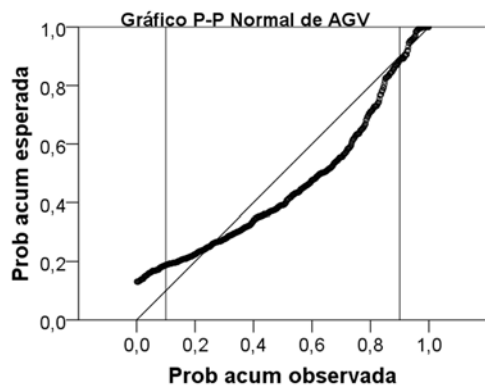
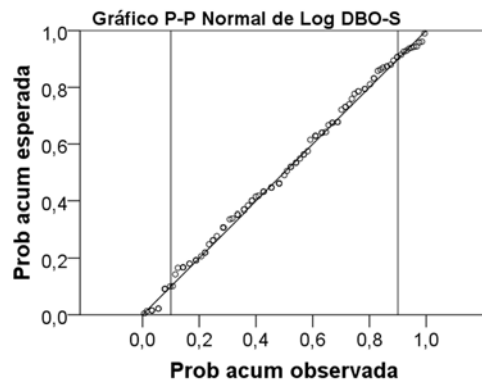
<i>Parámetro</i>	<i>N</i>	<i>Parámetros normales</i>		<i>D</i>	<i>D_α</i>	<i>P-Valor</i>
		<i>Media</i>	<i>Desv. típica</i>			
<i>Log₁₀ DQO_T</i>	158	2,736	0,179	0,045	0,071	>0,200
<i>Log₁₀ DQO_S</i>	128	1,912	0,111	0,059	0,079	>0,200
<i>Log₁₀ DBO_T</i>	102	2,568	0,142	0,053	0,088	>0,200
<i>Log₁₀ DBO_S</i>	109	1,785	0,136	0,046	0,085	>0,200
<i>Log₁₀ N_T</i>	99	1,733	0,093	0,073	0,089	>0,200
<i>Log₁₀ N_S</i>	66	1,574	0,069	0,106	0,110	0,064
<i>Log₁₀ P_T</i>	71	0,980	0,152	0,094	0,106	0,192
<i>Log₁₀ S-SO₄</i>	262	2,011	0,054	0,078	0,055	0,001
<i>Log₁₀ DQO_T/S-SO₄</i>	134	0,736	0,195	0,055	0,077	>0,200
<i>Log₁₀ pH</i>	480	0,887	0,010	0,058	0,041	0,001
<i>Log₁₀ Conductividad</i>	499	2,278	0,041	0,058	0,040	0,000

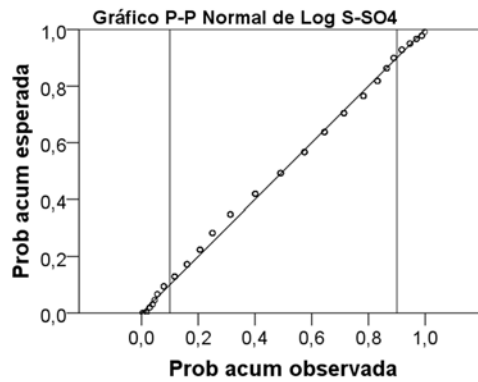
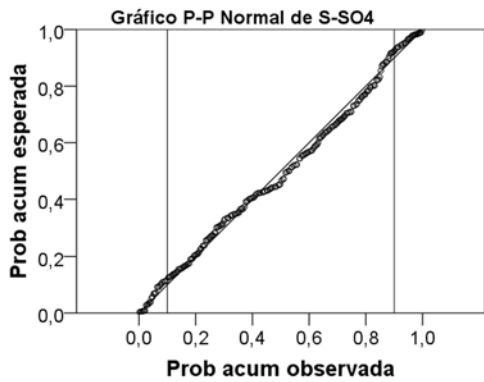
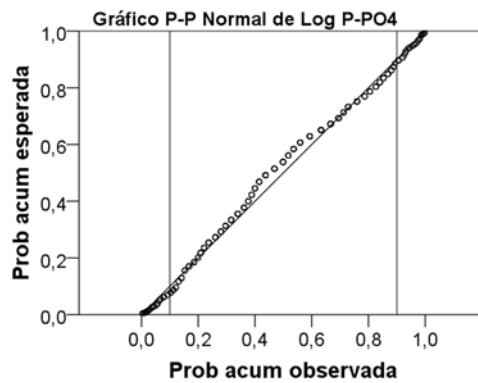
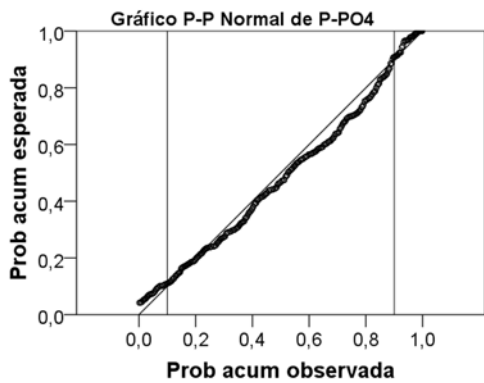
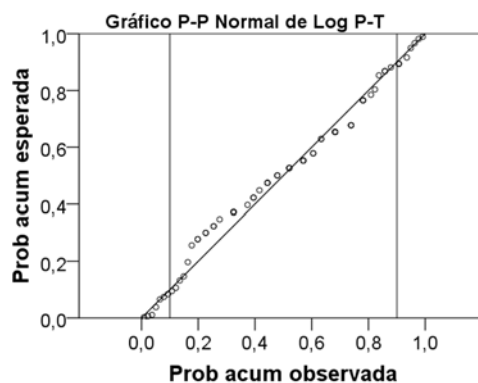
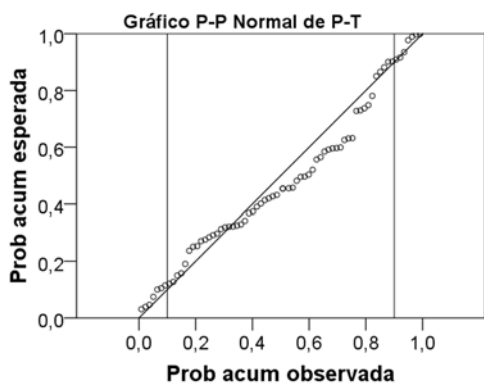
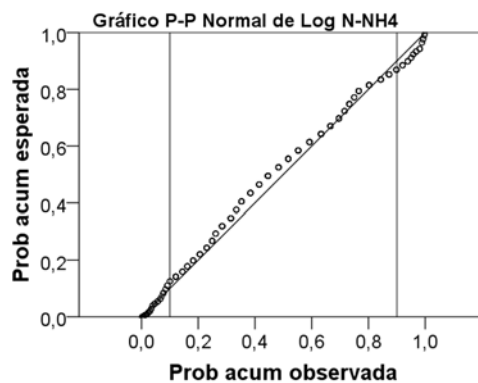
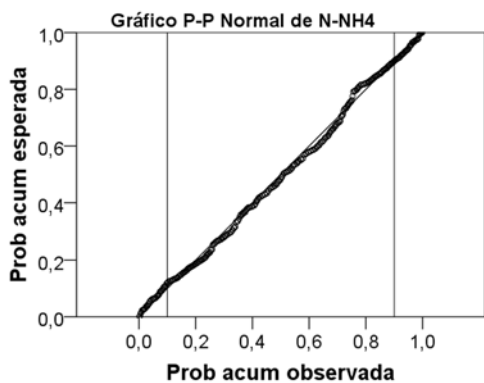
Tabla 67. Test de normalidad KSL para los logaritmos de las observaciones de diferentes parámetros físico-químicos característicos del ARU afluente.

A la vista de los resultados mostrados en las tablas anteriores, podemos concluir que los parámetros S-SO₄ y Conductividad están distribuidos normalmente, mientras que los parámetros DQO_T, DQO_S, DBO_T, DBO_S, N_T, P_T y DQOT/S-SO₄ presentan distribución Log-normal.

Tras aplicar el test de normalidad KSL, se observa que para el caso del Ns no se puede rechazar la hipótesis nula al contrastar la distribución de las observaciones con la función de distribución normal teórica, ni al contrastar los logaritmos de las observaciones. En el caso del pH ocurre lo contrario, se rechaza la hipótesis nula tanto para las observaciones como para sus logaritmos, por lo que sigue sin quedar claro el tipo de distribución que presentan estas dos variables. En cualquiera de los dos casos, la diferencia entre la media aritmética y la geométrica es poco significativa, a efectos de resumir el conjunto de observaciones de las que se dispone para dichas variables. Sin embargo, resulta necesario conocer el tipo de distribución que presentan dado que, como se ha comentado en el apartado A II.1.2.2, muchos de los procedimientos estadísticos inferenciales habitualmente utilizados se basan en el supuesto de que la población sobre la que vamos a inferir esté normalmente distribuida. Con la finalidad de eliminar la duda sobre el tipo de distribución que presentan estas variables, y comprobar que el resto de variables presentan, efectivamente, el tipo de distribución que se les ha atribuido, en la Figura 80 se presentan los gráficos de probabilidad normal acumulada de las observaciones de los diferentes parámetros característicos del ARU afluente y de sus logaritmos. Este tipo de representaciones gráficas han sido descritas en el apartado A II.1.1.4.







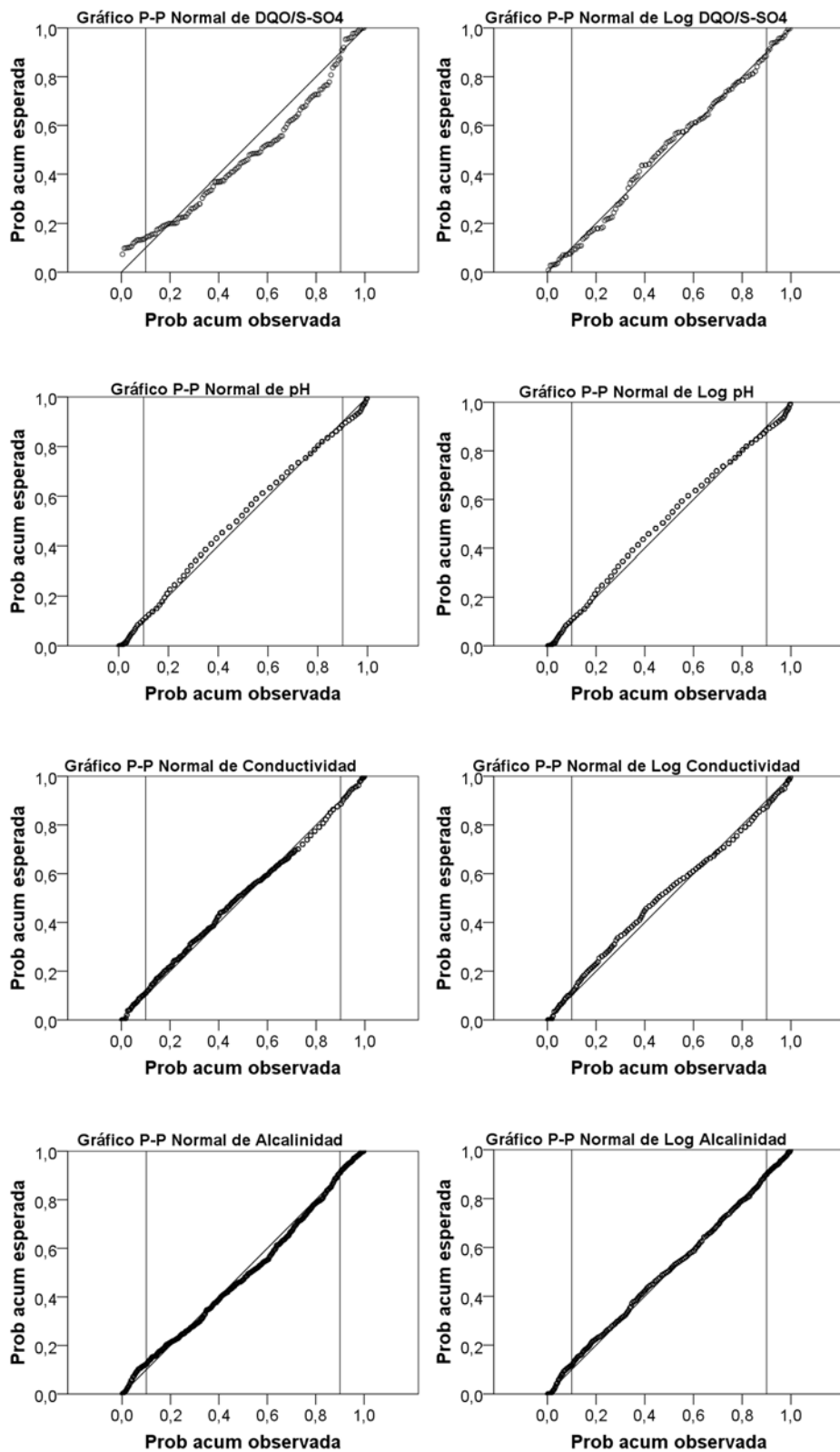


Figura 80. Diagramas de probabilidad normal acumulada para los diferentes parámetros característicos del ARU afluente

Las representaciones gráficas mostradas en la figura Figura 80 confirman las conclusiones que se habían extraído con anterioridad sobre los diferentes parámetros característicos del ARU. La línea diagonal continua representa la probabilidad acumulada esperada para la función de distribución normal teórica y las líneas horizontales representan los percentiles 10 y 90, entre los cuales deberíamos realizar el análisis gráfico (Twain, 2001). En el caso de los parámetros con distribución normal (N-NH₄, P-PO₄, S-SO₄ y Conductividad), es la probabilidad acumulada de las observaciones la que se ajusta razonablemente a la probabilidad acumulada esperada para la función de distribución normal teórica. Por el contrario, en el caso de los parámetros con distribución Log-Normal (SST, DQO_T, DQO_S, DBO_T, DBO_S, N_T, P_T, DQO_T/S-SO₄ y Alcalinidad), es la probabilidad acumulada de los logaritmos de las observaciones la que se ajusta de una manera razonable a la probabilidad acumulada esperada.

En los casos particulares del N_s y del pH, para los cuales no habíamos obtenido una respuesta clara a partir de los métodos estadísticos utilizados con anterioridad en el presente capítulo, se observa que: la probabilidad normal acumulada de las observaciones de N_s se ajusta mejor que la probabilidad acumulada de los logaritmos de dichas observaciones, por lo que podemos asumir que está normalmente distribuido. La probabilidad acumulada de las observaciones de pH se ajusta tan bien a la probabilidad acumulada esperada como la probabilidad acumulada de los logaritmos de las observaciones, por lo que asumiremos que está normalmente distribuida.

En el caso de los AGV, el estadístico se encuentra dentro de la región de rechazo tanto al contrastar la distribución de las observaciones como la de sus logaritmos con la función de distribución normal teórica. En este caso, podemos observar que la distribución de los logaritmos de las observaciones es claramente bimodal. Existe una elevada fracción de observaciones (9,4 %) cuyo valor es inferior al límite de detección (L.D.=1 mg CH₃COOH·L⁻¹), mientras que el resto se distribuye en torno a un valor diferente de cero. En la Figura 81 se ha representado el histograma de las observaciones de AGV, excluyendo todos los valores inferiores al L.D. del equipo utilizado para valorar las muestras.

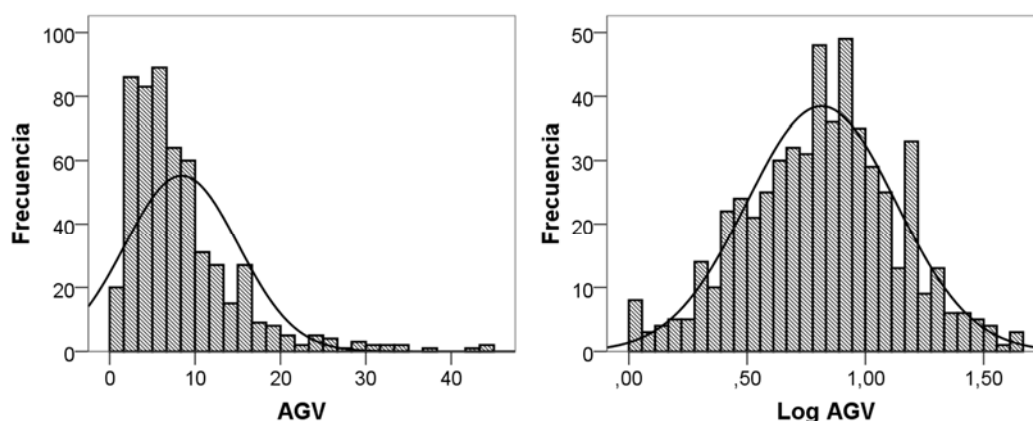


Figura 81. Histograma de las observaciones de AGV y sus logaritmos, excluyendo los valores inferiores al L.D.

Al aplicar test de bondad de ajuste a las observaciones y sus logaritmos de AGV, tras excluir los valores inferiores al L.D., obtenemos los resultados mostrados en la Tabla 65.

<i>Parámetro</i>	<i>Parámetros normales^{a,b}</i>		<i>D</i>	<i>D_α</i>	<i>P-Valor</i>	
	<i>N</i>	<i>Media</i>				<i>Desv. típica</i>
AGV	549	8,43	6,61	0,148	0,065	0,000
Log₁₀ AGV	549	0,81	0,32	0,134	0,065	0,568

a. La distribución de contraste es la Normal.
b. Se han calculado a partir de los datos.

Tabla 68. Test de bondad de ajuste KS a partir de las observaciones de AGV y sus logaritmos, excluyendo los valores inferiores al L.D.

En la Tabla 68 se observa que el estadístico calculado a partir de los logaritmos de las observaciones de AGV (excluyendo los valores inferiores al L.D.) se encuentra fuera de la región de rechazo, por lo que podemos concluir que la segunda moda de los logaritmos de las observaciones de AGV se encuentra en torno a 0,81, lo que equivale a 6,52 mg CH₃COOH·L⁻¹.