

UNIVERSIDAD DE CHILE FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS Y MATEMÁTICAS DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOTECNOLOGÍA

EFECTO DE SALES DE MAR EN BACTERIAS DE LODOS ACTIVOS, ADHERIDAS A PORTADORES, EN LA REMOCIÓN DE CARGA ORGÁNICA

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE INGENIERA CIVIL EN BIOTECNOLOGÍA

CAMILA ANDREA SORIANO ASCENCIO

PROFESOR GUÍA ALBERT LEANDRO HERRERA ZEPPELIN

MIEMBROS DE LA COMISIÓN PATRICIA CONTRERAS ARANEDA CÉSAR SÁEZ NAVARRETE

ESTE TRABAJO HA SIDO PARCIALMENTE FINANCIADO POR TRATAMIENTO DE AGUAS MANANTIAL

> SANTIAGO DE CHILE JUNIO 2013

Resumen

La escasez de agua potable es un problema actual a nivel mundial. Para combatir este problema no sólo se ha desalinizado agua de mar sino que además se ha utilizado ésta en sustitución al agua potable. El reemplazo de ésta en inodoros ha dado lugar a la generación de aguas servidas salinas, cuyo tratamiento se diferencia del convencional por la influencia negativa que ejerce la sal en los microorganismos involucrados.

El presente estudio persigue como objetivo fundamental, evaluar el efecto de un incremento brusco en la concentración de sales de mar sobre la cinética de remoción de la carga orgánica en bacterias de lodos activos. Para ello, se llevó a cabo la adhesión de bacterias a portadores de biomasa, desarrolladas en un reactor biológico de lodos activos convencionales, para posteriormente trasladar estos portadores a un reactor que contiene las mismas aguas servidas previamente cargadas con sal.

La biomasa adherida se cuantificó como sólidos en base seca, mediante un método original, debido a falencias observadas en la metodología tradicional. El nuevo método es una mejor determinación de la biomasa adherida a portadores como masa seca por unidad de portador o de volumen de reactor.

Los portadores con biomasa adherida, se sometieron por un período de seis horas a medios salinos de distintas concentraciones, en un reactor batch aireado. Las conversiones de carga orgánica, medida con el método de DQO para concentraciones de 1, 10, 100 y 1.000 ppm fueron superiores al 80%; mientras que sólo alcanza un valor de 52% para 10.000 ppm de sales de mar. En tanto para concentraciones mayores a 20.000 ppm, la carga orgánica aumentó en comparación con la DQO inicial, probablemente debido a una lisis celular causada por las sales.

Se obtuvo un modelo cinético simple para la remoción de DQO durante la maduración del biofilm en un reactor de aguas servidas convencional. Además, se trató de ajustar un modelo a los resultados en medio salino, concluyendo que el modelo es más complejo de lo que se propone en el presente estudio y se requiere un diseño experimental más avanzado.

Se concluye del trabajo que para desarrollar un tratamiento de aguas servidas salinas, no es recomendable iniciar el desarrollo de biomasa con inóculo de lodos activos de agua dulce, pues se observó la incapacidad de estos cultivos para enfrentar concentraciones sobre las 10.000 ppm. Por lo tanto, el desarrollo de un sistema de tratamiento de aguas servidas con agua de mar debiera desarrollarse inoculando bacterias procedentes de agua de mar real contaminada, donde se habrán adaptado bacterias que utilizan el agua residual para su metabolismo durante tiempos extensos en lugar de intentar la adaptación desde lodos activos de agua dulce.

Dedicatoria

A mi familia, por ser mi pilar fundamental, por el amor y el apoyo incondicional.

Agradecimientos

Primero, quiero agradecer a Dios, por la posibilidad de vivir. También por las distintas experiencias que se han presentado, ya que gracias a ellas soy quién soy. Además, por haber puesto en mí camino a aquellas personas que han hecho que mi vida tenga felicidad y compañía.

A mi familia, que sin ellos no sería la persona que soy. A mis padres, por cuidar de mí desde antes de que naciera y por el apoyo que me han dado. A mi padre, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha transmitido siempre, por el valor mostrado para salir adelante, por su amor y apoyo. A mi madre, por apoyarme en todo momento. A mis hermanos, que con ellos entendí lo que significa el apoyo incondicional, que a pesar de las peleas, el amor es mayor. Simplemente no podría vivir sin mi familia. No puedo dejar de lado a mi Tía Lidia y a mi abuelita Teresa, que han estado acompañándome y enseñándome durante toda mi vida.

A todas las personas que han sido parte de mi vida. Partiendo en el colegio a Javi Yolín, Cami Valenzuela, Feña Godoy, Con Salas y Pauli Labbe, con las que sé que seguiré compartiendo mi vida. Luego, en los inicios de la Carrera, con mis amigos Ignacio, Pablo, Daniel, Edu, Rocio. Por último, quiero agradecer a todo IQBT por ser la familia que son, en especial a mis amigos Cami Bay, Nico Mardones, Edu Rossel, Camilo Acuña, Lore Martinez, Maripa, Reynaldo, Diego, Rachel y a los más pequeñines también, Nati Galarce, Javi Gatica, Hans, Trini, Becky, Carlitos, Negro, Jorge, Nacho, etc. Todos fueron muy importantes en el proceso, y los llevaré en mi corazón por siempre.

No puedo dejar de lado a mi Grupo de Guías y Scouts Ailinpuhuen, que me ha visto crecer estos últimos años, me ha dado el apoyo que he necesitado y me ha dado infinitas alegrías. Gracias a todos ellos.

Por último quiero agradecer a la comisión, al Profesor Leandro, del cual pude aprender mucho, a Patricia, por ayudarme a crecer con sus consejos y con su apoyo y al Profesor César, por sus buenos consejos. Además, agradecer a todos los profesores del departamento por la educación y cariño demostrados día a día a sus alumnos.

Gracias a todos los que fueron y son parte de mi vida.

Tabla de Contenido

Capítulo 1: Introducción1
1.1 Escasez de agua potable a nivel mundial1
1.2 Antecedentes Generales2
1.2.1 Residuos Líquidos Domiciliarios2
1.2.2 Lodos Activos3
1.2.3.2 Portadores de Biomasa6
1.2.3 Biofilm7
1.2.3.1 Ciclo de vida del Biofilm8
1.2.4 Medición de Biomasa Adherida9
1.2.5 Efecto de sales en bacterias11
1.2.5.1 Efecto de sales en bacterias de lodos activos11
1.2.5.2 Efecto de sales en biofilms11
1.2.6 Modelos cinéticos12
1.3 Objetivo15
1.3.1 Objetivos15
Capítulo 2: Metodología16
2.1 Diseño Experimental16
2.2.1 Sistema experimental reactor batch aireado con portadores con biomasa adherida16
2.2.2 Diseño de experimentos con sales18
2.2.3 Portadores utilizados19
2.2.4 Agua de mar sintética utilizada19
2.3 Métodos de Medición20
2.3.1 Medición DQO20
2.3.2 Medición de DQO de muestras con sales de mar21
2.3.3 Medición SST21
2.3.4 Medición de biomasa adherida a portadores
2.5 Modelamiento25
Capítulo 3: Resultados Experimentales y Discusiones

27
29
33
33
39
52
54
56
72
73
2 2 3 3 5 5 5 7 7

Índice de Figuras

Figura 1: Proceso de Lodos Activos
Figura 2: Ciclo de vida del biofilm multiespecie (Loera et al., 2012),
donde A corresponde a las etapas 1 a 3, B a la etapa 4 y C a la etapa 5.
9
Figura 3: Reactor batch de 5 L con portadores16
Figura 4: Bolsa de malla con portadores17
Figura 5: Portadores utilizados. Vista superior (izquierda) y vista lateral
(derecha) (Ankori, 2012)19
Figura 6: Medición de biomasa adherida en portadores24
Figura 7: Curvas de DQO durante la maduración del biofilm (sin sal) 27
Figura 8: Curvas de DQO a distintas concentraciones de sales de mar. 30
Figura 9: Ajuste de modelo de primer orden para S de datos del día 10
durante la formación del biofilm (sin sal)
Figura 10: Ajuste de modelo de primer orden para S de datos del día 13
durante la formación del biofilm (sin sal)35
Figura 11: Ajuste de modelo de primer orden para S de datos del día 17
durante la formación del biofilm (sin sal)35
Figura 12: Ajuste de modelo de primer orden para S de datos del día 24
durante la formación del biofilm (sin sal)
Figura 13: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día
10 durante la formación del biofilm (sin sal)
Figura 14: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día
13 durante la formación del biofilm (sin sal)
Figura 15: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día
17 durante la formación del biofilm (sin sal)
Figura 16: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día
24 durante la formación del biofilm (sin sal)
Figura 17: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 1
ppm de sales de mar
Figura 18: Ajuste de modelo de segundo orden para 5 de datos con 10
ppm de sales de mar
Figura 19: Ajuste de modelo de segundo orden para 5 de datos con 100
ppm de sales de mar
1 000 ppm do solos do mor
Figure 21: Aiuste de modelo de segundo orden para 5 de datos con
10 000 npm de sales de mar

Figura 22: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 20.000 ppm de sales de mar
Figura 26: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 100 ppm de sales de mar
Figura 27: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 1.000 ppm de sales de mar45
Figura 28: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 10.000 ppm de sales de mar
Figura 29: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 20.000 ppm de sales de mar45
Figura 30: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 30.000 ppm de sales de mar
Figura 32: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm de datos con 10 ppm de sales de mar
Figura 34: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm de datos con 1.000 ppm de sales de mar
datos con 20.000 ppm de sales de mar49

Figura 37: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm de datos con 30.000 ppm de sales de mar
Figura 39: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 10 ppm de sales de mar.
Figura 40: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 100 ppm de sales de mar
Figura 41: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 1.000 ppm de sales de mar
Figura 42: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 10.000 ppm de sales de mar
Figura 43: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 20.000 ppm de sales de mar
Figura 44: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 30.000 ppm de sales de mar
Figura 45: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 1 ppm de sales de mar
Figura 46: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 10 ppm de sales de mar
Figura 47: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 100 ppm de salos de mar
Figura 48: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 1.000 ppm de
Figura 49: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 10.000 ppm de
Sales de Illar

Figura 50: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 20.000 ppm de sales de mar......57 Figura 51: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 30.000 ppm de sales de mar......57 Figura 52: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 1 ppm de sales de mar.....59 Figura 53: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 10 ppm de sales de mar......59 Figura 54: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición Figura 55: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 1.000 ppm de sales de mar.....60 Figura 56: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 10.000 ppm de sales de mar.....60 Figura 57: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 20.000 ppm de sales de mar.....60 Figura 58: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 30.000 ppm de sales de mar.....61

Índice de Tablas

Tabla 1: Búsqueda Bibliográfica de los métodos de Medición de Biomasa
Adherida a portadores10
Tabla 2: Concentración de Biomasa Adherida a los portadores en la
formación del biofilm en mg/portador28
Tabla 3: Concentración de Biomasa Adherida a los portadores en la
formación del biofilm en gr/L de reactor
Tabla 4: Tabla resumen de los promedios de biomasa adherida a las
distintas concentraciones de sales de mar
Tabla 5: Medición de Biomasa adherida luego de utilizar ultrasonido para
desprenderla a distintas concentraciones de sales de mar32
Tabla 6: Comparación de Medición de Biomasa adherida mediante el
Método Chang y el método de SST luego de utilizar ultrasonido para
desprenderla a distintas concentraciones de sales de mar33
Tabla 7: Coeficientes K y S $_0$ durante la maduración del biofilm
calculados mediante mínimos cuadrados de la ecuación de segundo
orden para S38
Tabla 8: Coeficiente k/Y durante la maduración del biofilm
Tabla 9: Coeficientes K y S $_0$ en experimentos con medio salino a
distintas concentraciones de sales de mar42
Tabla 10: Coeficientes K_1 , K_2 y S_0 (ecuación 24) en experimentos con
medio salino a distintas concentraciones de sales de mar46
Tabla 11: Coeficientes K_1 , K_2 y S_0 (ecuación 26) en experimentos con
medio salino a distintas concentraciones de sales de mar50
Tabla 12: Coeficientes K_1 , K_2 y S_0 (ecuación 29) en experimentos con
medio salino a distintas concentraciones de sales de mar, calculados
mediante mínimos cuadrados54
Tabla 13: Coeficientes K_1 , K_2 y S_0 (ecuación 32) en experimentos con
medio salino a distintas concentraciones de sales de mar58
Tabla 14: Coeficientes K_2 y S_0 (ecuación 35) en experimentos con medio
salino a distintas concentraciones de sales de mar61
Tabla 15: Mediciones de DQO durante la maduración de biofilm 73
Tabla 16: Mediciones de DQO durante a las distintas concentraciones de
sales de mar74
Tabla 17: Medición de biomasa adherida durante la maduración del
biofilm76
Tabla 18: Medición de biomasa adherida a distintas concentraciones de
sales de mar77

Tabla 19: Medición de biomasa adherida luego de utilizar ultrasonido . 78

Nomenclatura

Símbolo	Descripción			
ASM1	Modelo de Lodos activos 1, del inglés Activated Sludge Model 1			
СОТ	Carbono Orgánico Total			
DBO	Demanda Biológica de Oxígeno			
DBO ₅	Demanda Biológica de Oxígeno al quinto día			
DQO	Demanda Química de Oxígeno			
EPS	Sustancias poliméricas extracelulares del inglés Extracellular Polymeric Substances			
OCDE	Organización para la cooperación económica y el desarrollo, del inglés Organization for economic cooperation and development.			
OMS	Organización Mundial de la Salud			
SST	Sólidos Suspendidos Totales			
SSV	Sólidos Suspendidos Volátiles			
TRH	Tiempo de Retención Hidráulico			
UNESCO	Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura del inglés United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization.			

Capítulo 1: Introducción

1.1 Escasez de agua potable a nivel mundial

La escasez de agua dulce constituye uno de los mayores problemas a los que se enfrenta el ser humano en la actualidad. La creciente demanda del recurso y el progresivo deterioro de su calidad han limitado cada vez más el número de fuentes aptas para su uso.

A pesar que el 71% de la superficie del planeta está cubierta de agua, sólo el 2,53% es agua dulce potabilizable, de la cual una parte está en los casquetes polares y otra sufre diferentes alteraciones de su calidad, fundamentalmente por la intervención humana. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), sólo se puede tener acceso aproximadamente al 0,007% del total del agua de la Tierra para el consumo humano directo (Matus et al., 2004). Durante el 2008, 900 millones de personas carecían del acceso a agua potable. La gravedad de este problema se refleja en que aproximadamente el 80 % de las enfermedades de los países en desarrollo se relacionan con el agua (OECD, 2006), y causan la pérdida de 2,2 millones de vidas de niños cada año (Organización Mundial de la Salud, 2012).

Actualmente existen países como Estados Unidos (Cooley et al., 2006), España (Chislett, 2007; Palomar et al., 2008), Israel, Singapur (Crie, 2000), entre otros, donde la escasez y alta demanda de agua dulce ha llevado a la desalinización del agua de mar como alternativa para obtener agua potable y de regadío, a pesar de su elevado costo y prolongados tiempos de tratamiento (Cooley et al., 2006), costos que si bien se han reducido dramáticamente con nuevos desarrollos tecnológicos, son aún elevados. En otros casos, con el objetivo de ahorrar agua dulce, se ha intentado utilizar el agua de mar directamente en algunos procesos (Leung et al., 2012). Específicamente en Chile, diversos proyectos mineros se han desarrollado enteramente utilizando agua de mar ,Minera Esperanza, Chile, mientras que otros han comenzado a utilizar agua de mar en partes de su proceso (Minera Esperanza, 2013).

En 1955, el agua de mar fue utilizada por primera vez para la descarga de inodoros como parte de un programa piloto desarrollado en

Hong Kong, seguido por la instalación en todas las viviendas nuevas a partir de 1957. Esta tecnología se aplicó con sistemas de distribución independientes no solo para el agua de mar y el agua potable, sino además para la recolección de aguas servidas. Durante los años 2008 y 2009 se utilizó un promedio de 750.000 m³/día de agua de mar, lo que cubre el 80 % del agua utilizada en inodoros de 7 millones de habitantes (Leung et al., 2012). A pesar del éxito en el ahorro de agua potable, esta práctica genera agua servida salina, cuyo tratamiento es un problema aún no resuelto industrialmente.

El tratamiento de agua servida en medio salino es menos conocido que el tratamiento convencional con agua dulce. Las bacterias presentes en un reactor de aguas servidas convencional se verán afectadas por el contenido de sal, que en altas concentraciones pueden causar pérdida de actividad celular y lisis osmótica (Kargi et al., 1996), reflejándose en la cinética del proceso.

No es claro entonces cómo, se puede desarrollar biomasa en alta concentración, capaz de consumir del material orgánico de aguas servidas si éstas se han producido con agua de mar; existe la posibilidad de desarrollar biomasa a partir de bacterias de aguas servidas de agua dulce, que se utilizarían como inóculo de sistemas de aguas servidas con agua de mar o, alternativamente, comenzar el desarrollo de la biomasa a partir de aguas de mar contaminadas con aguas servidas, en sectores de descargas no reguladas.

1.2 Antecedentes Generales

1.2.1 Residuos Líquidos Domiciliarios

Los residuos líquidos domiciliarios han sido una problemática a nivel social, cultural y ambiental, principalmente por las enfermedades que estos generan cuando no se tratan adecuadamente. Los sistemas de tratamiento para aguas servidas más utilizados, tanto en el país como en el resto del mundo, involucran procesos biológicos donde los microorganismos consumen la materia orgánica degradable biológicamente. Desde los años 1950 se han desarrollado tecnologías de tratamiento de varios tipos, destacándose la tecnología de lodos activos por su menor tiempo de residencia. Adicionalmente, la comunidad científica internacional ha estudiado la eficiencia de estas metodologías en la remoción de contaminantes, aportando una mayor base científica al diseño.

En dependencia del cuerpo receptor o lugar de disposición final, será el tipo de contaminante a remover y por tanto, el tipo de tratamiento a realizar. Sin embargo, de modo general, su objetivo persigue disminuir la carga infecciosa, la carga orgánica y los sólidos suspendidos (Comisión Nacional del Medio Ambiente, 2000).

En Chile, las descargas de residuos a las aguas superficiales y continentales, se regula en el Decreto Supremo 90/2000 (Ministerio Secretaría General de la Presidencia, 2000). En éste, se encuentran los valores máximos de distintos parámetros con los que debe cumplir el agua tratada según sea el cuerpo receptor final.

1.2.2 Lodos Activos

El tratamiento de aguas mediante el proceso de lodos activos surgió en 1914 para el tratamiento de aguas industriales y municipales. En ese proceso, las aguas residuales se ponían en contacto con una población microbiana mixta en forma de suspensión, en un sistema aireado y agitado (Rigola, 1990).

El proceso de lodos activos está constituido por dos operaciones unitarias relacionadas: la oxidación biológica y la separación sólidolíquido. Tal como se muestra en la Figura 1, la primera tiene lugar en el reactor aerobio al poner en contacto las bacterias, la materia orgánica y el oxígeno dando lugar a la disminución de los sólidos y la carga orgánica de la mezcla.

El tratamiento biológico, tal como se mencionó anteriormente, involucra la participación de microorganismos y su función consiste en oxidar la materia orgánica disuelta. Durante este proceso, los niveles de matería orgánica disuelta disminuyen y la biomasa aumenta. Siendo la tasa de crecimiento máxima específica (μ_{max}) de bacterias heterótrofas es de 0,6 a 13,2 día⁻¹, para el caso de bacterias autótrofas, su μ_{max} es de 0,2 a 1 día⁻¹ (Carlsson, 2012).

Luego del reactor, el medio reaccionante pasa a un equipo de separación de la biomasa habitualmente un sedimentador, cuya salida líquida (sobrenadante) es el efluente tratado que debe satisfacer las normas nacionales (en algunas especialidades se le denomina "agua clarificada"). La importancia del sedimentador es concentrar la biomasa para luego recircularla, en parte, al reactor para mantener una alta densidad de bacterias, haciendo posible el tratamiento, mientras que el excedente se extrae hacia algún sistema de manejo del exceso de biomasa (en algunas especialidades se le llama "lodos") (ver, por ejemplo Rigola (1990)). Este reactor con reciclo, tiene mayores conversiones al compararse con aquellos reactores de flujo pistón o de mezcla completa pues cumple con el requisito de recuperar y recircular reactivos valiosos que faltan en la entrada (Levenspiel, 2002). El reciclo, puede ser reemplazado un sistema que utiliza portadores donde se adhieren las bacterias evitando de esta manera que pasen directamente al sedimentador, permitiendo a la vez eliminar esta unidad en el proceso, a la vez mantiene la alta densidad bacteriana necesaria para el proceso. (Bertino, 2010).



Figura 1: Proceso de Lodos Activos

Las principales variables en el tratamiento de lodos activos, para el diseño y operación son el flujo másico de materia orgánica, la densidad de microorganismos y la concentración y flujo másico de oxígeno disuelto.

- Materia Orgánica:

Es una variable muy importante en el proceso, ya que si hay alto contenido orgánico en el agua servida, se deben ajustar los tiempos de reacción para que las bacterias sean capaces de degradar la materia orgánica para que el agua tratada cumpla con la normativa. La materia orgánica está compuesta por proteínas (entre el 40 y el 60%), carbohidratos (entre el 25 y el 50%), y menor cantidad para lípidos diversos (fosfolípidos, grasas, aceites, etc).

La materia orgánica se puede medir a través de la demanda de oxígeno, que puede ser bioquímica (DBO) o química (DQO); por medio de la medición de carbono orgánico total (COT) que mide la cantidad de CO₂ que se produce al oxidar la materia orgánica; entre otras, (Villaseñor, 2001).

La DBO₅ mide la cantidad de oxígeno necesario que consume el consorcio bacteriano para descomponer la materia orgánica biodegradable. Se mide el oxígeno disuelto presente en la muestra el día 5. Por su parte, la DQO mide la cantidad de oxígeno necesario para oxidar químicamente todos los contenidos de la muestra, tanto orgánicos como inorgánicos oxidables. El valor de DQO muestra el equivalente de oxígeno de la materia orgánica que puede ser oxidado por el dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) usando sulfato de plata (Ag_2SO_4) como catalizador bajo condiciones ácidas (H_2SO_4) (Henry et al., 1999). Las ventajas de la medición de DQO sobre DBO son principalmente de tiempo y manipulación.

El agua servida que llega a una planta puede tener entre 200 y 1.000 mg/L de DQO dependiendo de la hora, el lugar, etc.

- Microorganismos:

El tratamiento biológico es realizado por microorganismos, entre los que se han identificado las siguientes especies: Achromobacter, Acinetobacter, Aerobacter, Alcaligenes, Bacillus, Brevibacterium, Corynebacterium, Comamonas, Flavobacterium, Micrococcus, Pseudomonas, Spirillum, Zoogloea y algunas levaduras (Dias et al., 1964; Benedict et al., 1971).

El método más común para la medición de la biomasa presente en aguas servidas, debido a su simplicidad, es la medición de sólidos suspendidos volátiles (SSV). Esta metodología tradicional entrega el peso seco de las bacterias de una muestra (Metcalf & Eddy, 1979; División de Normas del Instituto Nacional de Normalización, 1995). Existen otros métodos que determinan componentes intracelulares específicos para medir biomasa, por ejemplo, la determinación de componentes celulares como lípidos, proteínas, ATP y ADN (Sonnleitner et al., 1992; Jes Vollertsen et al., 2001; Delgado, 2006; Casablanca et al., 2009), conteo celular mediante microscopía óptica (Rodríguez et al., ; Olivas et al., 2001), medición de actividad metabólica, turbidimetría (Tortora et al., 2010) o, la medición de DQO de sólidos de muestras de cultivos controlados (Contreras et al., 2000).

- Oxígeno disuelto:

El oxígeno es un gas poco soluble en el agua. La solubilidad del oxígeno en el agua varía con la temperatura, presión y salinidad (Orozco, 2005). En cuanto a la dependencia con la presión parcial, dada la escasa solubilidad, resulta adecuada la formulación simplificada conocida como "Ley de Henry", que establece los valores de equilibrio entre la presión parcial de la fase gaseosa y a la concentración en fase acuosa (Agudelo, 2009). El oxígeno disuelto observado en un sistema biológico aerobio corresponde al balance entre la transferencia desde la fase gaseosa y el consumo biológico en la fase acuosa. Para evitar la presencia de malos olores producto a la aparición de bacterias anaerobias, se ha aceptado un valor mínimo de concentración de oxígeno disuelto equivalente a 2 mg/L. El contenido de oxígeno disuelto se puede controlar en línea con un medidor de oxígeno disuelto (Mayarí et al., 2005; González et al., 2008) que actúa sobre el flujo de oxígeno gas (flujo de aire, generalmente). El objetivo del lazo de control será mantener la concentración de oxígeno disuelto en el valor de consigna de 2 a 2,5 mg/L rango óptimo para el desarrollo del proceso.

1.2.3.2 Portadores de Biomasa

El funcionamiento de los portadores es muy simple. La biomasa presente en el proceso, crece adherida al portador, formando un biofilm. Los portadores son el soporte que brinda la superficie de adhesión donde las bacterias crecen (Bertino, 2010). Estos pueden ser de distintos tamaños, formas, materiales, áreas específicas y densidades. La diferencia de estas características hace que el proceso difiera de un tipo de portador a otro.

Con los portadores, se puede tener mayor biomasa, en un mismo volumen, en comparación con el proceso de lodos activos. Además, al agregar portadores de biomasa en una planta en funcionamiento aumenta la capacidad de tratamiento, con lo que mejora la calidad del efluente.

1.2.3 Biofilm

Cuando la biomasa se adhiere a alguna superficie, se habla de biofilm o biopelícula. El biofilm está compuesto por bacterias y sustancias poliméricas extracelulares (EPS del inglés Extracellular Polymeric Substances). Constituye, por tanto, una comunidad de microorganismos que crecen en una matriz orgánica autoproducida y adherida a una superficie. Los biofilms pueden ser de un tipo de bacteria o de un consorcio bacteriano y se pueden formar en superficies bióticas o abióticas (O'Toole et al., 2000). En la mayoría de los casos están formados por más de una especie, siendo pocos los formados por una sola especie, en los sistemas naturales o abiertos a la interacción con el ambiente natural.

A diferencia de las bacterias libres en suspensión, tanto los biofilms como los flóculos de células en reactores de lodos activos, desarrollan una matriz polimérica extracelular. La matriz normalmente está compuesta por un 40-95 % de polisacáridos, entre un 10 y 60 % de proteínas, entre 10 y 20 % de ácidos nucléicos y entre 10 y 40 % por lípidos (Flemming et al., 2001). Esta composición varía dependiendo de las condiciones ambientales y del consorcio bacteriano (Kolter et al., 2006).

Las células en la matriz se pueden comunicar vía "quorum sensing"; este concepto se refiere a la comunicación entre bacterias mediante moléculas químicas, que permiten la sincronización de actividades de grandes grupos de bacterias (Waters et al., 2005).

Sutherland (2001) notó que la composición y estructura de los polisacáridos determinan la conformación primaria de la biopelícula, es decir, al ser los polisacáridos más rígidos y menos deformables, la biopelícula tendrá similares características. Además observó que los EPS del biofilm no son uniformes, sino que pueden variar espacial y temporalmente, lo que proporciona cierta adaptación a los distintos entornos.

1.2.3.1 Ciclo de vida del Biofilm

En este trabajo se trasladará biomasa adherida, procedente de un reactor de lodos activos de agua dulce, a un reactor con aguas servidas al que se ha agregado sales de agua mar sintética, de modo que se deberá medir el desarrollo de la biopelícula en sólidos portadores para conocer su densidad previo al inicio de experiencias con aguas servidas saladas.

El ciclo de vida del biofilm consta de cinco etapas (Figura 2):

1. Adherencia reversible:

El biofilm empieza a formarse cuando una célula se une a una superficie. Se dice que es reversible, ya que esa célula puede desprenderse del sustrato.

2. Formación de microcolonias:

La bacteria adherida comienza a dividirse y a formar una colonia en su entorno inmediato.

3. Matriz extracelular:

Durante la formación de microcolonias, las bacterias elaboran un exopolisacárido que constituye la matriz del biofilm, y éste comienza a desplegarse en una formación tridimensional (Lasa et al.). La matriz está compuesta por polisacáridos o glicoproteínas de diversos azúcares, proteínas libres, fosfolípidos y ácidos nucléicos.

4. Maduración:

Las bacterias ya adheridas crecen y se reproducen, además, se adhieren a la matriz bacterias suspendidas en el medio, lo que hace que el biofilm crezca (Lasa et al., ; Watnick et al., 2000).

5. Dispersión de células:

Bacterias de la matriz del biofilm se liberan. Estas bacterias pueden colonizar nuevas superficies cerrando el proceso de desarrollo de formación del biofilm (Setter R, 1996; Watnick et al., 2000).



Figura 2: Ciclo de vida del biofilm multiespecie (Loera et al., 2012), donde A corresponde a las etapas 1 a 3, B a la etapa 4 y C a la etapa 5.

1.2.4 Medición de Biomasa Adherida

Los portadores de biomasa que se trasladarán a aguas servidas con agua salada tendrán un valor determinado de biomasa y éste valor será dimensionado en los experimentos.

En la literatura se reportan distintos métodos para medir la biomasa adherida a los portadores. En uno de ellos, los portadores se someten a ultrasonido para desprender la biomasa adherida y luego se cuantifica la biomasa que queda en el líquido mediante el método de sólidos suspendidos totales (SST) (Chen et al., 2007; Chen et al., 2008; Chen et al., 2009; Chang et al., 2010; Wakadikar et al., 2012). En este método, se adoptan 2 hipótesis: la primera es que el ultrasonido sólo desprende células (sin romperlas, con lo que parte de la biomasa se perdería en forma líquida) y la segunda es que toda la biomasa que hay en el portador se desprende (es decir que la medición de sólidos deprendidos refleja fielmente la masa adherida en el portador).

Es sabido, que el ultrasonido genera ondas en el líquido creando regiones de compresión y expansión, que dan lugar a la formación de microburbujas. Dichas burbujas implosionan de manera violenta generando ondas de choque de alto nivel de energía y puntos de alta temperatura y presión (Piyasena et al., 2003), provocando lisis celular. Zhang et al (2007) midieron el aumento en la concentración de proteínas y ácidos nucléicos con el tiempo de sonicación en bacterias de lodos activos, obteniendo una relación directa entre ambas variables con lo que se concluye que el ultrasonido rompe las bacterias.

A partir de la evidencia de lisis celular, es probable que mediante el método de determinación de biomasa adherida con ultrasonido (Chang) se rompan células, las que no serán recuperadas en los filtros de determinación de sólidos suspendidos y los datos entregados por el método no serán los reales.

Otros métodos revisados en la literatura determinan la biomasa adherida por diferencia de peso entre: el portador con la biomasa secada a distintas temperaturas y periodos de tiempo, y el portador una vez desprendida la biomasa. En la Tabla 1 aparecen los tiempos y temperatura de secado de la biomasa, el método de desprendimiento y la fuente bibliográfica donde se citan los métodos.

Métodos de Medición de Biomasa Adherida en portadores					
Autor	Tiempo de secado [hrs]	Temperatura de Secado [ºC]	Método de desprendimiento de biomasa seca		
(Bolton et al., 2006)	Durante la noche	50	Solución Minncare 10%		
(Parker et al., 2002)	8	105	Detergente fuerte, un cepillo y ultrasonido		
(Pusker Regmi et al., 2011)	2	105	Solución 2 N de H ₂ SO ₄		
(Maas et al., 2008)	24	105	Solución de NaOH 0,25 N (24 hrs) luego ultrasonido (90 min).		
(Characklis et al., 1982)	Hasta peso contante	105	La superficie se limpia		

Tabla 1: Búsqueda Bibliográfica de los métodos de Medición de Biomasa Adherida a portadores.

1.2.5 Efecto de sales en bacterias

1.2.5.1 Efecto de sales en bacterias de lodos activos

Pernetti et al. (2005) realizaron un trabajo en el cual se trató agua servida salobre con el proceso de lodos activos. Se hicieron ensayos de respirometría para estudiar la inhibición causada por distintas concentraciones de sal. A concentraciones de 0,37 g sal/g SSV y 30,7 g sal/g SSV se registraron un 4 y 87% de inhibición en la respiración respectivamente. En este caso, la sal se agregó como un pulso, no en forma continua ni con las células adaptadas.

En el año 2003 algunos investigadores llevaron a cabo un estudio sobre la adaptación de células de lodos activados agregando 2.000 mg/L cada 10 días hasta llegar a 30.000 mg/L de cloruros. Los experimentos se llevaron a cabo en un reactor batch y se midió la velocidad específica de nitrificación. Esta disminuyó al 20% de su velocidad máxima (Chen et al., 2003).

Otros científicos realizaron un estudio similar en el 2004 agregando 3.000 mg/L cada semana hasta llegar a 18.000 mg/L de cloruros y lo compararon con un medio de concentración constante de 18.000 mg/L. En ambos casos la remoción de nitritos disminuyó a un 20%, lo que demuestra que la adaptación no ocurrió en esas bacterias. La remoción de amonio se vio disminuida cuando la concentración de sal fue constante. Sin embargo, la disminución fue menor cuando el aumento de sal fue gradual llegando a un 80% de la remoción sin sal (Chen et al., 2004).

A pesar de que se han publicado estudios sobre tratamiento de agua servida salina mediante lodos activos (Ludzack et al., 1965), además de nitrificación y denitrificación mediante bacterias adheridas, estos no han incluido la remoción de DQO (Campos et al., 2002; Bassin et al., 2011).

1.2.5.2 Efecto de sales en biofilms

Mills et al (1962) investigaron cómo afectaba el rendimiento de los cultivos adheridos ante la presencia de sales. En su estudio concluyeron que el rendimiento no se afectaba mientras el agua residual tuviera una concentración menor a 6.600 mg/L de cloruro de sodio (NaCl) mientras

que para concentraciones mayores aumentó la cantidad de DQO y amoniaco a la salida. Concluyeron además, que se requieren entre 1 y 3 semanas para estabilizar el rendimiento luego de un cambio en la concentración de cloruros.

De igual forma se observó en el estudio de Lawton y Eggert (1957) que la DBO₅ aumentó entre 10 y 15% al agregar concentraciones de sal superiores a 50 g/L.

Los estudios realizados hasta el momento se centran básicamente en el efecto de las sales en la velocidad de nitrificación o en la respiración de las bacterias, sin considerar el efecto en DQO y en la biomasa de bacterias adheridas a portadores.

1.2.6 Modelos cinéticos

Este trabajo considera evaluar el impacto de sales sobre la cinética de consumo de sustrato (como DQO), de modo que se debe decidir qué modelo resultaría mejor.

El crecimiento de microorganismos en ausencia de sustancias inhibidoras se ha podido representar mediante la ecuación de Monod (López et al., 2007). Las ecuaciones de Monod tradicionales deben incorporar, además, un término de mortalidad celular debido a la muy alta concentración a la que se llega en este tipo de aplicaciones (ecuación 1) si bien la cinética de consumo de sustrato, por ejemplo DBO₅, sigue la estructura de consumo proporcional a la biomasa, sin distinguir distintos tipo de masa celular, como en la ecuación 2.

Ecuación 1

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} \cdot \frac{S \cdot X}{K_s + S} - K_d X$$

Ecuación 2

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_{max}}{Y} \cdot \frac{S \cdot X}{K_s + S}$$

Dónde:

 $\mu_{max} = Velocidad máxima de crecimiento$

S = Concentración de sustrato

 $K_s = Constante de saturación o velocidad media$

 K_d = Constante de decaimiento o muerte celular

 $Y = Rendimiento \ celular$

 $= -\frac{\Delta X}{\Delta S}$, masa de células desarrolladas por unidad de sustrato consumido

La velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}) de la biomasa (X) representa la velocidad de crecimiento cuando el oxígeno no es limitante, y la constante de saturación (K_s) es la concentración de sustrato para la cual la velocidad de crecimiento es la mitad de su valor máximo ($\frac{1}{2} \mu_{max}$).

El modelo de Monod no se utiliza para biofilms, ya que este representa la cinética de bacterias en suspensión. El modelo que se podría utilizar para adherencia bacteriana es el modelo de Langmuir, cuya forma es la de la ecuación 3 (Ruiz et al., 2008).

Ecuación 3

$$r = \frac{dX}{dt} = k \cdot \frac{K \cdot X}{1 + K \cdot X}$$

r = velocidad de degradación del sustrato

k = constante cinética de reacción

K = Constante de adsorción

X = Concentración de biomasa

El modelo de Langmuir se centra en la adsorción y desorción de las bacterias al biofilm. En el presente estudio no se utilizarán modelos de tal fundamento porque la breve duración de las experiencias hará inobservable un cambio de la biomasa, de modo que, en la ecuación 3, la velocidad (r) será nula. Aquí interesa, en cambio, el efecto de las sales en la DQO y en la adherencia de las bacterias, que no altera los sitios de adherencia de Langmuir sino la microbiología del sistema.

Las ecuaciones de cinética de reacciones son más generales y se pueden utilizar en este caso. Resumiendo las ecuaciones cinéticas de primer, segundo y tercer orden de un solo componente, se obtienen las ecuaciones 4 a 9, que explican tanto el modelo como su integración sujeta a condiciones de borde idénticas para cada orden.

Reacción de primer orden:

Ecuación 4

$$v = k * [A]$$

Al integrar queda:

Ecuación 5

$$[A] = [A]_0 * e^{-kt}$$

Reacción de segundo orden:

Ecuación 6

$$v = k * [A]^2$$

Al integrar queda:

Ecuación 7

$$[A] = \frac{1}{\frac{1}{[A]_0} + kt}$$

Reacción de tercer orden:

Ecuación 8

$$v = k * [A]^3$$

Al integrar queda:

Ecuación 9

$$[A]^2 = \frac{1}{\frac{1}{[A]_0^2} + kt}$$

Los casos recién presentados corresponden a reacciones de primer, segundo y tercer orden, pero para una especie. Hay reacciones en las que participan más de una especie, por ejemplo, la ecuación 10 es un modelo de segundo orden en A y de primer orden en B, dejando así un modelo de tercer orden global: Ecuación 10

$$v = k * [A]^2 * [B]$$

Donde:

[A] = Concentración de A

[B] = Concentración de B

k = Constante cinética

v = Velocidad de consumo

1.3 Objetivo

El problema a abordar en el presente trabajo es si las bacterias de lodos activos pueden servir como inóculo para el tratamiento de agua servida salobre. Contar con esta información resulta indispensable a la hora de diseñar la puesta en marcha de una planta de tratamiento de lodos activos salobre.

1.3.1 Objetivos

El objetivo principal del presente estudio es:

Estudiar el comportamiento de las bacterias de lodo activos en agua servida salina, para determinar la factibilidad de la puesta en marcha de plantas de tratamiento de agua servida salobre utilizando biomasa de plantas de aguas servidas con agua dulce como inóculo.

Los objetivos específicos son:

- Determinar la evolución de la biomasa adherida sobre portadores específicos, de procedencia comercial, instalados en un reactor de tratamiento de aguas servidas convencional.
- Determinar el cambio en la cinética de remoción de DQO por bacterias de lodos activos adheridas a portadores al enfrentar un incremento brusco de concentración de agua de mar sintética.
- Evaluar el método de medición de biomasa adherida que se utiliza actualmente por la mayoría de los investigadores y definir el método a utilizar.

Capítulo 2: Metodología

2.1 Diseño Experimental

Se realizaron experimentos, a escala de laboratorio, en la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas de la Villa San José Obrero de la Comuna de Pirque.

2.2.1 Sistema experimental reactor batch aireado con portadores con biomasa adherida

El diseño experimental utilizado para el estudio del efecto de sales de mar en la biomasa de lodos activos adherida a portadores, contempló los siguientes equipos:

1 Reactor de 5 L

1 Sistema de transferencia de oxígeno (compresor de aire, mangueras y difusores)



Figura 3: Reactor batch de 5 L con portadores

El sistema estuvo compuesto por un reactor con aireación. El volumen de agua servida cruda fue de 4,4 L y el de los portadores de 0,6 L de volumen desplazado, para un total de 5 L. Para inocular el reactor se utilizaron portadores con biomasa ya adherida desde el reactor biológico de la planta de lodos activos. En adelante los

portadores se medirán sólo por el volumen desplazado, si bien la adherencia es un fenómeno de área, pero los portadores son idénticos entre sí, de modo que la expresión de su volumen permitirá especificar el área con facilidad.

Para cargar los portadores con biomasa adherida, se pusieron 945 portadores en una bolsa de malla en el reactor biológico de la Planta (Figura 4), para que estos estuvieran en contacto con el agua servida y el oxígeno y luego poder sacarlos fácilmente para llevarlos al reactor batch experimental, que contendría diversas concentraciones de sales. Se hicieron mediciones de DQO y de la biomasa adherida durante la maduración del biofilm.



Figura 4: Bolsa de malla con portadores

Luego de 30 días de exposición de los portadores en el reactor de la Planta, se hicieron experimentos en los cuales se agregaron portadores con biomasa a aguas servidas crudas con distintas concentraciones de sales de mar al reactor batch, para analizar el impacto de la sal sobre la cinética de remoción de DQO. También se analizó el efecto sobre la biomasa adherida a los portadores expuestos al medio salino. Los valores de concentraciones de sales de mar estudiadas fueron 1, 10, 100, 1.000, 10.000, 20.000 y 30.000 ppm. Se tomó como concentración máxima 30.000 ppm, ya que la salinidad promedio del agua de mar es de 33.000 ppm. Por otra parte, el porcentaje del agua residencial utilizada para inodoros en los Estados Unidos es del 35% (Metcalf & Eddy, 1979), por lo que una salida domiciliaria en que se han implementado circuitos diferidos de agua (agua potable para uso en cocina y lavaderos y agua de mar para inodoros) que mezcla todos los residuos domésticos en un solo alcantarillado, daría lugar a un agua servida salina de concentración 11.550 ppm sales de mar, lo que es cercano a 10.000 ppm.

Se realizaron mediciones de DQO cada 30 min para obtener la cinética de remoción de DQO en presencia de sales, y se operó con 20 portadores para realizar mediciones de biomasa adherida.

2.2.2 Diseño de experimentos con sales

La influencia de las sales de mar en la remoción de DQO, utilizando bacterias de sistemas de tratamiento de agua dulce se suele realizar tomando un cultivo de bacterias en un reactor de alta tasa de transferencia de oxígeno (se le llama "de aireación" en algunos textos) al que se agregan sales progresivamente.

Tal diseño experimental considera observar el comportamiento con sales, esperando las fases de retardo que implican las sales.

Un diseño distinto sería poder incorporar biomasa a un medio con la carga a tratar y las sales. La mezcla de medio a tratar con sales de mar sintéticas, simula efectivamente la descarga de aguas servidas en el mar que a veces se observa. La incorporación de bacterias se debiera realizar sin diluir el reactor, de modo que se podría pensar en utilizar pellets de centrifugación de bacterias de lodos activos, pero estas bacterias estarán afectadas tanto por la centrifugación como por las sales.

El método aquí utilizado consiste en trasladar bacterias adheridas a portadores desde un sistema de lodos activos de agua dulce. De esta manera, se dispone de un método de traslado de bacterias activas sin más efecto que la presencia de sales en el medio reaccionante.

El desarrollo de estos experimentos consisten en preparar un reactor con un volumen de aguas servidas crudas (4,4 L), disolver la cantidad de sales necesaria (0, 1, 10, 100, 1.000, 10.000, 20.000 o 30.000 mg/L), proveer aireación suficiente para una adecuada transferencia de oxígeno y agregar portadores con una cantidad conocida de biomasa para completar los 5 L de reacción.

Este método ofrece varias ventajas, particularmente que aísla completamente el impacto de las sales respecto a otros efectos concomitantes, como por ejemplo los retardos (lag).

2.2.3 Portadores utilizados

Martín-Pascual et al (2012) realizaron una comparación de tres tipos de portadores: Aqwise ABC5, Kaldnes K1 y BIOCONS. De estos tres, los dos primeros tuvieron buen rendimiento en comparación con el tercero, pero no se determinó que variable era la que hacía la diferencia entre ellos.

Para el presente estudio se utilizó el portador de Aqwise ABC5, debido a los buenos resultados en estudios preliminares. Este portador es una espiral cuadrada hueca hecha de polietileno de alta densidad. La densidad de los portadores es de 0,92 a 0,96 g/cm³, además tienen una superficie interna de cerca de 650 m²/m³ (Pacific Institute, 2010; Martín-Pascual et al., 2012).



Figura 5: Portadores utilizados. Vista superior (izquierda) y vista lateral (derecha) (Ankori, 2012).

En la industria se utiliza el término de volumen aparente de portadores, siendo 1 L equivalente a 315 portadores. Se utilizó el 60% del volumen de llenado del reactor, por lo que se pusieron 945 portadores en cada bolsa.

2.2.4 Agua de mar sintética utilizada

Para llevar a cabo los experimentos se utilizó un conjunto de sales de mar denominado "marin salt" (marca sera) (Sera, 2011).

2.3 Métodos de Medición

Toma de muestra para medición de DQO:

Usar una jeringa de 5 mL para tomar una muestra de 3 mL del reactor. Filtrar con un filtro de 0,45 μ m de porosidad (Microclar, 2008) guardar en un tubo Eppendorf de 1,7 mL. Las muestras se refrigeran en un cooler para realizar la medición al día siguiente.

Para el caso de las mediciones realizadas en el reactor con agua servida en medio salino, se tomaron 10 mL, que se filtraron y se guardaron en tubos Falcon de 15 mL. Luego se refrigeraron.

Toma de muestra para medición de biomasa en suspensión:

Para el caso de las mediciones de biomasa en suspensión, se tomaron 5 mL con una jeringa y se guardaron refrigerados en tubos Falcon de 15 mL, hasta realizar la medición de sólidos suspendidos.

Toma de muestra para medición de biomasa adherida:

Se tomaron 20 portadores del reactor batch con guantes y se guardaron en una botella de vidrio con tapa rosca de 100 mL. Esta botella se refrigeró para medición al día siguiente. Se agregaron 20 portadores sin biomasa a la bolsa para mantener el número de portadores en 945, de esta forma se mantiene el volumen de portadores.

Las mediciones para la cuantificación de la biomasa durante el proceso de formación de biofilm, se realizaron día por medio durante dos semanas luego de que los portadores estuvieran 10 días en el reactor de la planta. Para el caso de la determinación de biomasa en los experimentos con sales de mar, se tomaron muestras al agregar los portadores al medio con sal (t=0) y al finalizar los experimentos (t=6 hrs) para verificar el efecto de la sal sobre la biomasa ya adherida.

2.3.1 Medición DQO

La medición de DQO se realizó mediante el método especificado en la Norma Chilena 2313/24: Determinación de la demanda química de oxigeno (DQO). La medición fue realizada con volúmenes menores a los del método, para utilizar de mejor forma los reactivos (Anexo A).

2.3.2 Medición de DQO de muestras con sales de mar

La medición de DQO en muestras salinas se especifica también en la Norma Chilena 2313/24. Sin embargo, este método tiene limitaciones conocidas para muestras con concentraciones de cloruros superiores a 2.000 mg/L, que producen interferencia. La interferencia se produce porque la oxidación de iones cloruro consume dicromato, como se especifica en la estequiometria en la ecuación 11.

Ecuación 11

$$Cr_2O_7^{2-} + 6Cl^- + 14H^+ \rightarrow 3Cl_2 + 2Cr^{3+} + 7H_2O$$

Investigadores han demostrado que la proporción 10:1 en las muestras con cloruros sobre los 2.000 mg/L entrega aún un error significativo en la medición (Baumann, 1974; Freire et al., 1998).

Vyrides et al. (2009) propusieron el uso de una relación $HgSO_4/Cl^-$ de 20/1. A continuación se muestra el procedimiento propuesto, el cual se puede utilizar hasta los 40.000 mg/L de cloruros.

Procedimiento:

- Agregar sulfato de mercurio (HgSO₄) en proporción 20/1 de masa con el cloruro. Para las concentraciones a utilizar de sales de mar se muestra cuanto sulfato de mercurio agregar (Vyrides et al., 2009)
- Una vez agregado el sulfato de mercurio, se deja que precipite por 2 hrs y luego se realiza la medición de DQO tal como se expone en 2.3.1.

2.3.3 Medición SST

La medición de SST se realizó mediante la Norma Chilena 2313/3: Determinación de sólidos suspendidos totales secados a 103 °C – 105 °C.

2.3.4 Medición de biomasa adherida a portadores

La medición de biomasa adherida adolece de los problemas descritos anteriormente en el Capítulo 1 (2.3.4), de modo que se

ensayaron y compararon 2 métodos para cuantificar la biomasa adherida.

Método Chang: (Chen et al., 2007; Chen et al., 2008; Chang et al., 2010)

- Los portadores se ponen en un vaso de precipitados de 100 mL y se les agrega agua destilada hasta cubrirlos.
- El vaso de precipitados se pone en una cubeta con hielo.
- Se somete la muestra a ultrasonido por 15 min.
- El líquido se filtra en un filtro de fibra de vidrio de porosidad 0,7 μ m pre-pesado, se seca el filtro a 105 °C y luego se pesa nuevamente.

Método Portador completo: (Contreras & Herrera, 2012, comunicación personal)

- Los portadores se secan a 105 °C por una hora, se dejan enfriar y se pesan (valor A).
- Los portadores con la biomasa seca se introducen en un vaso de precipitados de 100 mL con agua destilada. Con propósitos comparativos, la biomasa seca es removida con agua y ultrasonido por 15 min.
- La biomasa seca removida por ultrasonido, en el líquido, se mide mediante SST (valor S)
- Los portadores cuya biomasa se removió se secan a 105 °C por una hora y se pesan (valor B).
- Los portadores secos se tratan con ácido clorhídrico 1 M durante
 30 min para remover biomasa si se hubiese retenido algo de ella a pesar del ultrasonido.
- Los portadores se lavan con agua destilada, se secan a 105 °C por una hora y se pesan (valor C).

La biomasa adherida se calculó mediante el siguiente cálculo:

Ecuación 12

Biomasa adherida = A - C

Naturalmente, el peso seco de la biomasa debe ser el peso del portador con biomasa (A) menos el peso del portador seco una vez

removida toda la biomasa (C). Si esta diferencia es distinta (mayor) que el valor de los sólidos removidos por ultrasonido (S), se debe usar este método y no el método convencional.

La comparación experimental entre el método Chang y el aquí propuesto (método del portador completo) se realizó midiendo portadores de una misma condición con ambos métodos. En particular, se tomaron 20 portadores, divididos en dos lotes de 10 portadores cada uno. Ambos métodos se utilizaron para medir la biomasa adherida en 5 portadores, para obtener mediciones en duplicado. La Figura 6 ilustra esta metodología.


Figura 6: Medición de biomasa adherida en portadores.

El procedimiento de la figura 6 se utilizó en la secuencia:

Método convencional

 El primer grupo de 5 portadores con biomasa se sometió a ultrasonido por 15 min; la biomasa desprendida se midió como SST. Este sería el valor de la biomasa de los 5 portadores según el método convencional de Chang.

Método propuesto (portadores completos)

- El segundo grupo, se puso en una estufa a 105 °C por una hora. Luego se pesaron los portadores.
- Los portadores se llevaron a un vaso de precipitados con agua y se sometieron a ultrasonido por 15 min. Se midieron los SST en el líquido.
- Los portadores, cuya biomasa se removió por ultrasonido, se secaron y se pesaron.
- Luego los portadores se trataron con ácido clorhídrico 1 M por 30 min.

La hipótesis del trabajo es que con el método Chang se determina una cuantía menor de biomasa de la que realmente hay en los portadores.

2.5 Modelamiento

Los resultados experimentales se interpretarán mediante modelos simples, a fin de evaluar la posibilidad de explicar mecanismos que expliquen las observaciones.

Se ha establecido antes que el modelo de Monod es válido para bacterias en suspensión y no en biofilm. Para biofilms, se podría utilizar el modelo de Langmuir, que se centra en la adsorción y desorción de bacterias, pero este también fue descartado porque en experimentos de 6 horas, con el objetivo estudiar el comportamiento de bacterias de lodos activos en medio salino, la biomasa cambiará por razones ajenas a la adsorción o desorción. En un enfoque más convencional, se decidió utilizar ecuaciones de primer orden para el modelamiento en primer lugar.

Capítulo 3: Resultados Experimentales y Discusiones

3.1 Cinética de remoción de DQO durante la maduración del biofilm

Los resultados de la cinética de remoción de DQO durante la maduración del biofilm en la planta de tratamiento, se muestran en la Figura 7.



Figura 7: Curvas de DQO durante la maduración del biofilm (sin sal)

Por su parte, las Tablas 2 y 3 muestran la biomasa (ver 2.3.4) adherida a portadores durante la maduración del biofilm, expresada como miligramos de biomasa adherida por portador y gramos de biomasa adherida por litro de reactor respectivamente.

Concentración de Biomasa Adherida								
Fecha	Muestra	Método Chang [mg/portador]	Método Portador Completo [mg/portador]					
Día 10	1	1,40	-					
Día 14	1	10,30	-					
Día 17	1	5,76	43,20					
Día 19	1	5,09	52,01					
Día 21	1	3,94	65,78					
Día 24	1	30,25	41,70					
Día 24	2	37,38	65,20					

Tabla 2: Concentración de Biomasa Adherida a los portadores en la formación del biofilm en mg/portador.

Tabla 3: Concentración de Biomasa Adherida a los portadores en la formación del biofilm en gr/L de reactor.

Concentración de Biomasa Adherida durante la formación del biofilm							
Fecha	ha Muestra Método Chang [g/L]		Método Portador Completo [g/L]				
Día 10	1	0,26	-				
Día 13	1	1,95	-				
Día 17	1	1,09	8,16				
Día 19	1	0,96	9,83				
Día 21	1	0,74	12,43				
Día 24	1	5,72	7,88				
Día 24	2	7,06	12,32				

La concentración de biomasa adherida en los portadores aumenta durante el paso de los días, tal como se esperaba ocurriera. Se destaca la gran densidad de biomasa retenida por portadores, que es precisamente la utilidad que presentan al eliminar la necesidad de reciclar lodo del sedimentador en la tecnología convencional.

La primera toma de muestra de portadores que se realizó fue posterior a los de 10 días de haberlos introducido en el reactor biológico. Este fue el primer día que se constató, mediante inspección visual, la existencia de biomasa adherida. El biofilm era irregular, ya que sólo se presentaba en algunos lugares del portador y en algunos portadores, por lo que se cree que este se encontraba en el periodo de matriz extracelular. Se observaron diferencias entre los métodos utilizados para la medición de biomasa, siendo siempre mayor la recuperación de biomasa adherida con el método de portadores completos. Se alcanzaron diferencias de hasta un 94% (día 21), esto se debe probablemente a que el ultrasonido rompe las bacterias y se recupere menor cantidad de biomasa. Como el método de portadores completos seca la biomasa adherida a los portadores para luego desprenderla con el ultrasonido, y este no rompe las bacterias secas, se propone su uso en lugar del método de Chang.

Las muestras de los días 10 y 13 sólo se midieron con el método Chang. A partir del día 17 se midieron con el método portadores completos. Por otra parte, se quiso analizar si el ultrasonido desprendía toda la biomasa adherida a los portadores, por lo que se procedió a su medición de biomasa adherida empleando el mismo método.

La presencia de biofilm en los portadores se pudo observar luego de 10 días de introducirlos en el reactor de la planta y las mediciones se realizaron hasta el día 24. En este periodo no se alcanzó un estado estacionario en el desarrollo de biomasa adherida al portador, lo que hubiera dado un tiempo real de madurez del biofilm a la hora de realizar los experimentos en medio salino.

3.2 Impacto de las sales de mar en la cinética y biomasa adherida

Por medio de los experimentos realizados a distintas concentraciones de sal, se obtuvieron los resultados que se presentan en la Figura 8.





Hasta las 1.000 ppm la conversión de materia orgánica fue mayor a 0,8, mientras que para 10.000 ppm de sales de mar, la conversión es de 0,52. Eso sugiere la hipótesis explicativa de que aunque muchas bacterias se lisan debido a la alta concentración de sales de mar, existen otras bacterias que continúan vivas y activas. Se podría realizar el mismo experimento, pero con mayor tiempo de retención para evaluar si se alcanza una conversión mayor o si se está en presencia de un fenómeno de muerte celular en curso. Para las concentraciones de 20.000 y 30.000 ppm, la DQO final fue superior a la inicial probablemente debido a una lisis celular en presencia de las sales. Estos resultados experimentales indican que el tratamiento no se puede realizar para aguas servidas con concentraciones que superen los 20.000 ppm de sales de mar.

En la Tabla 4 se presentan los resultados de las mediciones de biomasa adherida a los portadores al agregarla al reactor experimental con sales al inicio y luego de las 6 hrs (final). Sólo para la concentración de 1 ppm de sales la biomasa adherida aumenta y para el resto de las concentraciones, la biomasa adherida disminuye. Las sales de mar afectan negativamente a la biomasa adherida. No es posible establecer si las sales afectan a la estabilidad de la matriz de EPS o si directamente afectan la sobrevivencia de las bacterias haciendo que estas se lisen. No se realizaron observaciones microscópicas que avalen una u otra hipótesis, por lo que se podría profundizar en estos estudios para aclarar la importancia relativa de ambos u otros mecanismos.

Tabla 4: Tabla resumen de los promedios de biomasa adherida a las distintasconcentraciones de sales de mar.

Promedio de Biomasa Adherida baio distintas concentraciones de sales

de mar							
ppm de sales de mar	Muestra	Método Portador Completo [mg/portador]	Método Portador Completo [g/L]				
1	Inicio	11,60	2,19				
1	Fin	21,12	3,99				
10	Inicio	68,01	12,85				
10	Fin	54,81	10,36				
100	Inicio	36,43	6,89				
100	Fin	19,57	3,70				
1.000	Inicio	66,80	12,63				
1.000	Fin	10,01	1,89				
10.000	Inicio	48,95	9,25				
10.000	Fin	15,80	2,99				
20.000	Inicio	27,85	5,26				
20.000	Fin	23,63	4,47				
30.000	Inicio	18,64	3,52				
30.000	Fin	10,72	2,03				

Cuando se utiliza el método de Portadores Completos, luego de desprender la biomasa seca con ultrasonido, la biomasa es medida con el método de SST para verificar que el peso de biomasa desprendida del portador, sea la misma que queda en el líquido. En la Tabla 5 se muestran los resultados obtenidos de la medición de biomasa en el líquido con SST en comparación con la diferencia de peso seco del método de Portadores Completos.

Biomasa Adherida a distintas concentraciones de sales de mar en gr/L de reactor						
ppm sales de mar	Muestra	SST biomasa desprendida [gr/L]	Método Portadores Completos [gr/L]			
1	Inicio	1,74	2,19			
1	Fin	3,18	3,99			
10	Inicio	6,75	12,85			
10	Fin	3,46	10,36			
100	Inicio	4,16	6,89			
100	Fin	2,71	3,70			
1.000	Inicio	7,70	12,63			
1.000	Fin	1,56	1,89			
10.000	Inicio	1,29	9,25			
10.000	Fin	1,25	2,99			
20.000	Inicio	4,72	5,26			
20.000	Fin	1,87	4,47			
30.000	Inicio	2,90	3,52			
30.000	Fin	1,13	2,03			

Tabla 5: Medición de Biomasa adherida luego de utilizar ultrasonido para desprenderlaa distintas concentraciones de sales de mar.

Los resultados de la Tabla 5 muestra que existe diferencias entre la medición de biomasa por el método de portadores completos y por SST luego de desprenderla del portador. Una de las causas podría deberse a que el ultrasonido no consigue un desprendimiento óptimo de la biomasa; sin embargo, una prueba adicional indicó que al sonicar los portadores se logró un 99% de recobrado de la biomasa adherida a ellos Anexos B.5. Resulta mucho más probable que la causa de las diferencias se deba a errores en el proceso de secado, el cual debe realizarse hasta alcanzar un peso constante para evitar diferencias de peso entre las muestras por humedad no eliminada.

En la Tabla 6 se exponen los resultados de las mediciones de biomasa mediante el método Chang y el método de SST de la biomasa desprendida del portador con ultrasonido, luego de secar el portador a 105 °C. En la mayoría de los casos la medición de biomasa es mayor con el método de SST por lo que se corrobora que es mejor utilizar secado antes del ultrasonido. Tabla 6: Comparación de Medición de Biomasa adherida mediante el Método Chang y el método de SST luego de utilizar ultrasonido para desprenderla a distintas concentraciones de sales de mar.

Biomasa Adherida a distintas concentraciones de sales de								
mar en gr/L de reactor								
ppm sales de mar	Muestra	SST biomasa desprendida [gr/L]	Método Chang [gr/L]					
1	Inicio	1,74	3,88					
1	Fin	3,18	4,20					
10	Inicio	6,75	1,27					
10	Fin	3,46	1,79					
100	Inicio	4,16	3,63					
100	Fin	2,71	2,32					
1.000	Inicio	7,70	3,39					
1.000	Fin	1,56	3,65					
10.000	Inicio	1,29	2,82					
10.000	Fin	1,25	3,52					
20.000	Inicio	4,72	4,06					
20.000	Fin	1,87	1,65					
30.000	Inicio	2,90	2,64					
30.000	Fin	1,13	1,64					

3.3 Modelamiento de los Resultados Obtenidos

3.3.1 Modelamiento en base a los resultados obtenidos durante la maduración del biofilm

Se realizó un ajuste de los resultados obtenidos a un modelo. La ecuación a utilizar para el ajuste de resultados a una cinética de primer orden para la concentración de sustrato (S) es:

Ecuación 13

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y}kXS$$

Dónde:

$$X = Concentración de biomasa [g/L]$$

S = Concentración de sustrato [mg/L]

k = Constante cinética

$$Y = Rendimiento \ celular = -\frac{\Delta X}{\Delta S}$$

Durante la formación del biofilm, se considera la biomasa constante ya que el tiempo del experimento es de 6 hrs, por lo que el modelo cinético es:

Ecuación 14

$$\frac{dS}{dt} = KS$$

En el cual el término K contiene el coeficiente cinético, la biomasa y el coeficiente de rendimiento:

Ecuación 15

$$K = -\frac{1}{Y}kX$$

El modelo integrado resulta:

Ecuación 16

$$S = S_0 * e^{Kt}$$

Los resultados de la DQO, obtenidos durante la maduración del biofilm, se ajustaron mediante el método de mínimos cuadrados al modelo integrado (ecuación 16) y se obtuvieron las gráficas de las Figuras 9, 10, 11 y 12.







Figura 10: Ajuste de modelo de primer orden para S de datos del día 13 durante la formación del biofilm (sin sal).



Figura 11: Ajuste de modelo de primer orden para S de datos del día 17 durante la formación del biofilm (sin sal).



Figura 12: Ajuste de modelo de primer orden para S de datos del día 24 durante la formación del biofilm (sin sal).

Los gráficos muestran que el modelo de primer orden para S no se ajusta adecuadamente a los resultados obtenidos por lo que se evaluó un modelo de segundo orden para S, es decir de tercer orden global (si se considera explícitamente la biomasa) con la finalidad de verificar si los resultados se ajustaban mejor a él. Dicho modelo se presenta a continuación:

Ecuación 17

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y}kXS^2$$

Donde se definirá, al igual que en el tratamiento anterior:

Ecuación 18

$$K = -\frac{1}{Y}kX$$

Al reemplazar la ecuación 19 en la 18, queda:

Ecuación 19

$$\frac{dS}{dt} = KS^2$$

Integrando esta ecuación se obtiene:

Ecuación 20

$$S = \frac{1}{\frac{1}{S_0} + Kt}$$

Al ajustar el modelo de segundo orden para S a los resultados durante la maduración del biofilm se obtuvo:



Figura 13: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día 10 durante la formación del biofilm (sin sal).



Figura 14: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día 13 durante la formación del biofilm (sin sal).



Figura 15: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día 17 durante la formación del biofilm (sin sal).



Figura 16: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos del día 24 durante la formación del biofilm (sin sal).

En las figuras 13 a 16 se aprecia que el modelo de segundo orden para S se ajusta mejor que el de primer orden.

Al comparar ambos modelos, se observa que la figura 14 se ajusta mejor que en el modelo de primer orden para S (ver figura 10), lo que corresponde a los datos de día 13. Por otro lado, los datos de S para los días 17 y 24 respectivamente muestran comportamientos similares a las del modelo de primer orden (figuras 11 y 12). Se aceptará, entonces, el modelo de segundo orden en S, para el consumo de sustrato.

Cabe destacar, que los resultados del día 10 son muy dispersos, por lo que en ninguno de los modelos estos datos serán tomados en cuenta (ver figuras 9 y 13).

Tras la elección del modelo de ajuste, se calcularon los coeficientes K y S_0 de la ecuación 22, para cada día durante la maduración del biofilm.

Coeficientes de la ecuación de segundo orden durante la maduración del biofilm							
Días durante la	К	S ₀					
maduración del biofilm	[L/mg*hr]	[mg/L]					
Día 10	6,00E-04	250,4					
Día 13	4,53E-03	206,9					
Día 17	4,03E-03	262,9					
Día 24	3,55E-03	281,4					

Tabla 7: Coeficientes K y S_0 durante la maduración del biofilm calculados mediante mínimos cuadrados de la ecuación de segundo orden para S.

Como se tienen los valores de biomasa adherida para los días 17 y 24, se puede calcular el término $\frac{k}{v}$

Coeficientes de la ecuación de segundo orden							
Días durante la maduración del biofilm	K [L/mg*hr]	Biomasa adherida [mg/L]	k/Y [L²/mg²*hr]				
Día 17	4,03E-03	8164,8	4,93E-07				
Día 24	3,55E-03	10102,05	3,51E-07				

Tabla 8: Coeficiente k/Y durante la maduración del biofilm.

El valor de la constante K el día 24 no sigue la tendencia de aumento durante la maduración del biofilm, por lo que se utilizará el K del día 17 como el K a 0 ppm de sales de mar ($K_0(ppm)$), con el cual se calculó $\frac{k}{Y_0(ppm)}$.

$$K_{0 ppm} = 4.03 * 10^{-3}$$
$$\frac{k}{Y_{0 ppm}} = 4.93 * 10^{-7}$$

El modelo de tercer orden global se ajusta a los resultados obtenidos durante la maduración del biofilm. Finalmente el modelo integrado que se postula durante este proceso es:

Ecuación 21

$$\frac{dS}{dt} = -4,93 * 10^{-7} \cdot X \cdot S^2$$

3.3.2 Modelamiento en base a los resultados obtenidos con los experimentos en medio salino

Debido al buen ajuste del modelo de tercer orden global a los resultados durante la maduración del biofilm, se realizó el ajuste con el mismo modelo de la ecuación 21 para los datos obtenidos en medio salino.



Figura 17: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 1 ppm de sales de mar.



Figura 18: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 10 ppm de sales de mar.



Figura 19: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 100 ppm de sales de mar.







Figura 21: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 10.000 ppm de sales de mar.



Figura 22: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 20.000 ppm de sales de mar.



Figura 23: Ajuste de modelo de segundo orden para S de datos con 30.000 ppm de sales de mar.

El modelo se ajusta a los resultados hasta una salinidad de 1.000 ppm de sales de mar (Figuras 17 a 20). Además, se calcularon los coeficientes K y S_0 de la ecuación 21, para cada concentración de sales de mar.

Tabla	9:	Coeficientes	Κ	У	S ₀	en	experimentos	con	medio	salino	а	distintas
concer	ntra	ciones de sale	s d	e m	ar.							

Coeficientes de la ecuación de segundo orden para experimentos con salinidad						
Salinidad ppm	K [L/mg*hr]	S₀ [mg/L]				
1	6,98E-03	160,5				
10	4,28E-03	231,2				
100	2,33E-03	113,7				
1.000	5,06E-03	174,7				
10.000	2,22E-04	325,5				
20.000	-1,54E-04	324,1				
30.000	-5,85E-05	523,0				

Se obtuvieron coeficientes negativos para 20.000 y 30.000 ppm de sales de mar, reflejando correctamente la aparición o aumento de DQO en el experimento, seguramente a partir de las propias células. En este caso, el modelo no resulta adecuado porque no incorpora este fenómeno en sus hipótesis de modelamiento y por ende, debe buscarse otro. El nuevo modelo debe reflejar el comportamiento de las bacterias frente a altas concentraciones de sales de mar, donde la inhibición de la actividad y la muerte celular expliquen los resultados experimentales. Al modelo de tercer orden global, se le agregaron constantes de inhibición y de muerte celular. El modelo cinético que se postuló fue:

Ecuación 22

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{1 + K_I C_s} \frac{k}{Y} X S^2 + k_d X C_s$$

Dónde:

 $k_d = Coeficiente de decaimiento celular$

 $K_I = Constante de inhibición$

 $C_s = Concentración de sales de mar$

Para facilitar la integración se utilizaron variables que involucran todas las constantes y la biomasa, la cual se supondrá, en primera aproximación e inicialmente, constante durante un experimento.

Ecuación 23

$$K_1 = \frac{1}{1 + K_I C_s} \frac{k}{Y} X$$
$$K_2 = k_d X C_s$$

Al reemplazar los valores de la ecuación 23 en la 22 e integrarla, da como resultado:

Ecuación 24

$$S = S_0 + K_2 t + \frac{1}{\frac{1}{S_0} + K_1 t}$$

Los resultados del ajuste a la ecuación 24 se muestran en las Figuras 24 a la 30 para las concentraciones de 1, 10, 100, 1.000, 10.000, 20.000 y 30.000 ppm.



Figura 24: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte celular de datos con 1 ppm de sales de mar.



Figura 25: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 10 ppm de sales de mar.



Figura 26: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 100 ppm de sales de mar.











Figura 29: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 20.000 ppm de sales de mar.



Figura 30: Ajuste de modelo de segundo orden para S añadiendo constantes de inhibición y muerte de datos con 30.000 ppm de sales de mar.

El modelo presentado en la ecuación 24 no se ajusta a los resultados. Todos los ajustes dan como resultados rectas, lo que difiere mucho a los resultados.

Por otra parte, el ajuste sin las constantes de inhibición y muerte celular es mucho mejor que el modelo en donde se las incluye. A partir de los 10.000 ppm de sal, las bacterias se ven afectadas y es probable que la lisis celular produzca una DQO final mayor a la inicial, por lo que la modelación debería incluir la contribución a la DQO a partir de las células que mueren.

Luego de realizar el ajuste, se calcularon los coeficientes K_1 , K_2 y S_0 de la ecuación 24, para cada concentración de sales.

Coeficientes de la ecuación de segundo orden para experimentos con salinidad								
ppm	S₀ [mg/L]	K ₁ [L/mg*hr]	K ₂ [L/mg*hr]					
1	150,00	3,79E+04	-31,90					
10	161,05	-1,36E+06	-31,51					
100	150,00	1,40E+05	-34,47					
1.000	111,10	2,63E+05	-20,52					
10.000	320,94	2,75E+03	-21,78					
20.000	318,20	1,21E+04	17,77					
30.000	520,44	2,23E+04	14,58					

Tabla 10: Coeficientes K_1 , K_2 y S_0 (ecuación 24) en experimentos con medio salino a distintas concentraciones de sales de mar.

El modelo tampoco se ajusta a los resultados, por lo que se debe buscar otro modelo. En la Tabla 10 están los valores de K_1 , estos no siguen ninguna tendencia. En cambio, los valores de K_2 aumenta proporcionalmente a la concentración de sales de mar.

Por otra parte, los valores de K₁ son muy distintos a los calculados con la ecuación 20. Los valores de K (Tabla 9) son cercanos a 10^{-4} y los calculados con la ecuación 26 son cercanos a 10^4 , es decir, hay 8 órdenes de magnitud de diferencia entre ambos valores, por lo que se procedió a calcular K₁ y K₂ de otra forma. Se utilizó el $\frac{k}{y}$ que se obtuvo sin sales para calcular K₁ y k_d, por lo que el K₁ se redefinió como:

$$\frac{k}{Y_{0 ppm}} = 4,93 * 10^{-7}$$
$$K_1 = \frac{X}{K_I C_s}$$

Luego de definir las constantes K_1 y K_2 , se reemplazaron en la ecuación 22 para obtener:

Ecuación 25

$$\frac{dS}{dt} = -4,93 * 10^{-7} * K_1 S^2 + K_2$$

Al integrar la ecuación 25:

Ecuación 26

$$S = S_0 + K_2 t + \frac{1}{\frac{1}{S_0} + 4,93 * 10^{-7} * K_1 t}$$

Los resultados del ajuste de la ecuación 26 se presentan en las Figuras 31 a 37 donde se muestra el modelo para las distintas concentraciones de sales de mar.



Figura 31: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm de datos con 1 ppm de sales de mar.



Figura 32: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm de datos con 10 ppm de sales de mar.



Figura 33: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm de datos con 100 ppm de sales de mar.











Figura 36: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm de datos con 20.000 ppm de sales de mar.



Figura 37: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm de datos con 30.000 ppm de sales de mar.

El modelo presentado en la ecuación 26 no se ajusta a los resultados. Los coeficientes de la ecuación 26 calculados con este modelo se explicitan en la Tabla 11. Este modelo se descarta, debido a que no se ajustan a los resultados.

El ajuste de este modelo, es similar al anterior (ecuación 24), la mayor diferencia se encuentra en los resultados de 10 ppm.

Se calcularon los coeficientes K_1 , K_2 y S_0 de la ecuación 26, para cada concentración de sales.

Tabla	11:	Coeficier	ites K	1, K₂ y S	o (ecuació	n 26)	en	experimentos	con	medio	salino	a
distin	tas	concentra	ciones	s de sale	s de mar.							

Coeficientes de la ecuación de segundo orden para experimentos con salinidad								
ppm	S₀ [mg/L]	K₁ [L/mg*hr]	K₂ [L/mg*hr]					
1	150,00	2,37E+08	-31,90					
10	78,45	1,42E+05	-8,14					
100	150,00	1,30E+07	-34,45					
1.000	150,00	-2,34E+10	-32,84					
10.000	320,95	7,41E+08	-21,78					
20.000	159,10	-1,17E-02	17,77					
30.000	260,22	3,14E-03	14,58					

Los últimos dos modelos, que no incorporan el cambio de biomasa adherida, no se ajustan a los resultados. Durante los experimentos con sales, la biomasa adherida cambia, según se observa en la Tabla 4. Como los valores inicial y final de biomasa adherida se midieron experimentalmente para cada concentración de sal (ver Tabla 4), se calculó la ecuación de la recta que los relaciona (suponiendo un cambio lineal en el tiempo entre inicio y fin), con lo que se pudo asignar un valor de biomasa interpolado para cada observación de DQO en el tiempo. Con esto, la biomasa adherida no es constante, ahora toma un valor determinado para cada tiempo. De esta forma el nuevo modelo que se propone es:

Ecuación 27

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{1+K_I C_S} \frac{k}{Y} X S^2 + k_d X C_S$$

Ecuación 28

$$K_1 = \frac{1}{1 + K_I C_s} \frac{k}{Y}$$
$$K_2 = k_d C_s$$

Ecuación 29

$$S = S_0 + K_2 X t + \frac{1}{\frac{1}{S_0} + K_1 X t}$$

Al ajustar el modelo de la ecuación 29 se obtuvo para las distintas concentraciones de sales de mar:



Figura 38: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 1 ppm de sales de mar.







Figura 40: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 100 ppm de sales de mar.



Figura 41: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 1.000 ppm de sales de mar.



Figura 42: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 10.000 ppm de sales de mar.



Figura 43: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 20.000 ppm de sales de mar.



Figura 44: Ajuste de modelo de segundo orden para S con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 30.000 ppm de sales de mar.

En la Figura 38, el modelo es una curva cóncava, pero los datos obtenidos experimentalmente muestran una curva convexa. No obstante, el modelo se ajusta para los datos de 10, 100, 20.000 y 30.000 ppm.

Cabe mencionar que es interesante ver en la Figura 41, el gráfico con los datos del medio salino con 1.000 ppm de sales de mar, que luego de las 4 hrs, el modelo predice que la DQO aumenta, lo que en el proceso se entiende como que las sales empiezan a afectar de mayor forma a las bacterias haciendo que estas se lisen y aumente la DQO.

Se calcularon los coeficientes K_1 , K_2 y S_0 de la ecuación 29, para cada concentración de sales, los cuales se presentan en la Tabla 12.

Tabla 12: Coeficientes K₁, K₂ y S₀ (ecuación 29) en experimentos con medio salino a distintas concentraciones de sales de mar, calculados mediante mínimos cuadrados.

Coeficientes de la ecuación de segundo orden para experimentos con salinidad				
ppm	So	K ₁	K ₂	
	[mg/L]	[L/mg*hr]	[L/mg*hr]	
1	150,00	-2,80E+04	-8,13E-03	
10	200,00	5,19E+00	-3,85E-03	
100	130,00	1,42E+01	-5,21E-03	
1.000	170,00	7,40E+00	-6,94E-03	
10.000	309,45	8,06E-06	-4,62E-03	
20.000	327,99	5,00E-02	3,49E-03	
30.000	500,17	1,91E+02	8,88E-03	

Los valores de K₁ siguen sin tener ninguna tendencia constante, por lo que se utilizará $\frac{k}{Y_0}$ para de eliminar el ruido que posee K₁. Por otro lado, K₂ sigue con una tendencia de aumento, pero no se puede calcular k_d como una constante. El modelo que se plantea es:

Ecuación 30

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{1 + K_I C_s} \frac{k}{Y} X S^2 + k_d X C_s$$

Ecuación 31

$$K_1 = -\frac{1}{1 + K_I C_s}$$

$$K_2 = k_d C_s$$

 $\frac{k}{Y} = 4,93 * 10^{-7}$

Ecuación 32

$$S = S_0 + K_2 X t + \frac{1}{\frac{1}{S_0} + 4,93 * 10^{-7} * K_1 X t}$$

Los resultados del ajuste a la ecuación 32 se muestran en las Figuras 45 a 51 para las distintas concentraciones.







Figura 46: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 10 ppm de sales de mar.















Figura 50: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 20.000 ppm de sales de mar.



Figura 51: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo de datos con 30.000 ppm de sales de mar.

Para los datos de 10, 10.000, 20.000 y 30.000 ppm el modelo se ajusta a los resultados. Al igual que en el modelo anterior, para 1 ppm la curva del modelo (Figura 38 y 45) es cóncava, contrario a los resultados.

El modelo no se ajusta bien para los resultados de los experimentos con 1 ppm de sales de mar. Para 100 y 1.000 ppm la DQO aumenta, estos modelos mostrarían como luego de un tiempo las sales de mar afectan a las bacterias haciendo que estas se lisen y aumenten la DQO. A diferencia del modelo anterior (ecuación 29), que predecía que desde 1.000 ppm la DQO aumenta, este modelo predice que a 100 ppm la DQO, luego de un periodo de horas, aumenta también.

Se calcularon los coeficientes K_1 , K_2 y S_0 de la ecuación 32, para cada concentración de sales, los cuales se presentan en la Tabla 13.

Coeficientes de la ecuación de segundo orden para experimentos con salinidad				
ppm	So	K ₁	K ₂	
	[mg/L]	[L/mg*hr]	[L/mg*hr]	
1	150,00	-4,99E+02	-8,10E-03	
10	104,26	1,59E+00	-2,14E-03	
100	70,00	-1,03E+00	-1,27E-02	
1.000	170,00	5,45E+05	-6,94E-03	
10.000	353,30	2,66E+07	-6,83E-03	
20.000	164,00	-1,52E-05	3,49E-03	
30.000	250,09	-1,77E-05	8,88E-03	

Tabla 13: Coeficientes K_1 , K_2 y S_0 (ecuación 32) en experimentos con medio salino a distintas concentraciones de sales de mar.

A lo largo de los distintos modelos que se han tratado de ajustar a los resultados, se ha visto que el K_1 , el que incluye la constante de inhibición, no sigue una tendencia, por lo que es un ruido. En la siguiente modelación se sacará la constante de inhibición y sólo se utilizará la constante de decaimiento. El modelo sin constante de inhibición que se plantea es:

Ecuación 33

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{k}{Y}XS^2 + k_d XC_s$$

Ecuación 34

$$K_2 = k_d C_s$$

 $\frac{k}{\gamma} = 4,93 * 10^{-7}$

Ecuación 35

$$S = S_0 + K_2 X t + \frac{1}{\frac{1}{S_0} + 4,93 * 10^{-7} * X t}$$

En las Figuras 52 a 58 se muestran los resultados de DQO y el modelo mostrado en la ecuación 37 que se quiere ajustar.







Figura 53: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 10 ppm de sales de mar.



Figura 54: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y Oppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 100 ppm de sales de mar.






Figura 56: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 10.000 ppm de sales de mar.







Figura 58: Ajuste de modelo de segundo orden para S con k/Y 0ppm con biomasa adherida cambiando en el tiempo, sin constante de inhibición de datos con 30.000 ppm de sales de mar.

El modelo no se ajusta para los resultados con 1 ppm de sales de mar, para el resto de las concentraciones el ajuste es un poco mejor. En la Tabla 14 se exponen los coeficientes K_2 y S_0 de la ecuación 35.

Coeficientes de la ecuación de segundo orden para experimentos con salinidad						
ppm S ₀ K ₂ [mg/L] [L/mg*]						
1	80,00	-6,89E-03				
10	98,48	-2,21E-03				
100	70,00	-4,32E-03				
1.000	100,00	-6,09E-03				
10.000	196,33	-1,96E-03				
20.000	176,55	7,94E-03				
30.000	261,78	2,18E-02				

Tabla 14: Coeficientes K_2 y S_0 (ecuación 35) en experimentos con medio salino a distintas concentraciones de sales de mar.

Los valores de K_2 siguen una tendencia creciente a medida que la concentración de sales de mar aumenta. En el modelo se postula que K_2 es la constante de muerte celular por un factor dependiente de la concentración de sales de mar. Con estos resultados no se obtiene una constante de decaimiento celular, por lo que el modelo tampoco resulta aceptable.

Finalmente se concluye que el modelo cinético de comportamiento de la DQO en medio salino es más complejo que los modelos que se han propuesto aquí, por lo que no se pudo realizar el modelo para bacterias adheridas a portadores en medio salino.

A lo largo de la modelación se pueden discutir varias cosas. Primero, que el hecho de dejar la biomasa constante durante los experimentos con sales entregó muy malos resultados. Al realizar la ecuación de la recta y obtener un valor de biomasa para cada tiempo, el ajuste mejoró. Con respecto a la constante de inhibición, en todos los modelos que se utilizó no mostró ninguna tendencia, sólo era un ruido. Por otra parte, la tendencia de K₂, la que incluye la constante de muerte celular, aumentaba al aumentar sales, lo que concuerda con lo que ocurre en la realidad, pero no se pudo calcular la constante de decaimiento y separarla del factor que depende de la concentración de sales de mar.

3.4 Problemas a lo largo del desarrollo del trabajo

En cuanto a los portadores, estos se pusieron en el reactor biológico, para la formación del biofilm, en 3 bolsas de malla con 945 portadores el 4 de enero. Cada bolsa estaba amarrada con un alambre a unas cañerías que están en la parte superior de cada muralla del reactor. Algunas de las bolsas se rompieron luego de un tiempo y se salieron los portadores, por lo que hubo que poner los portadores que quedaban en otra bolsa y rellenar hasta los 945 con portadores sin biomasa. Con estos problemas se perdieron muchos portadores con biomasa adherida. Luego de algunos de estos problemas, se decidió cambiar la bolsa cada dos semanas, tiempo en el cual no se rompían. Otro problema que se tuvo con las bolsas, es que debido a la velocidad de arrastre por la aireación, se rompió el alambre con el cual estaban amarradas. Para este caso, hubo bolsas que pudieron recuperarse y otras que no. Cuando no se pudieron recuperar, se tuvo que poner otra bolsa con portadores sin biomasa.

Con respecto a la medición de biomasa adherida a portadores, lo ideal hubiera sido realizar cada medición con más de 2 grupos de portadores, ya que se podría obtener un promedio más significativo, pues al ser sólo en duplicado los errores pueden ser mayores. Esto no se pudo realizar, ya que al usar 25 portadores por método resultaban 50 portadores por muestra, lo que disminuye la biomasa adherida cada vez que se toma una muestra. Esto se podría haber solucionado teniendo portadores con biomasa adherida para agregar a la bolsa y tratar de mantener la biomasa adherida constante.

Los experimentos se analizaron usando mediciones experimentales que no se comparaban contra un blanco sino que se entienden como valores absolutos, comparables entre sí. Sin embargo, la DBO₅ de entrada a una Planta de tratamiento cambia permanentemente. También cambia, aunque en menor medida, la concentración de operación del reactor de la planta. En este sentido, los experimentos futuros debieran medir un blanco de tiempo cero, para comparar resultados sobre una base más confiable.

Capítulo 4: Conclusiones

El tratamiento con bacterias de lodos activos no se puede realizar para agua servida con concentraciones de sal sobre 10.000 ppm. Por lo tanto, si se desea desarrollar un tratamiento de aguas servidas con agua de mar es más recomendable desarrollarlo a partir de agua de mar contaminada por aguas servidas durante tiempos extensos (descarga de aguas servidas en el mar) en lugar de intentar la adaptación desde lodos activos de agua dulce.

El método de medición de biomasa adherida convencional (de Chang) es un subestimador. Se propone un método para uso generalizado, denominado método de portadores completos, ya que mide mejor la biomasa adherida.

Para los resultados durante la formación del biofilm se pudo obtener un modelo cinético. La constante cinética resultó ser de $4,93 * 10^{-7} \left[\frac{L^2}{mg^2 \cdot hr}\right]$. El modelo elegido es de segundo orden para el sustrato, que se muestra a continuación:

$$\frac{dS}{dt} = -4,93 * 10^{-7} \cdot X \cdot S^2$$

No se pudo obtener un modelo cinético de la DQO para los experimentos con sales de mar. Se intentó con un modelo de segundo orden para el sustrato y tercer orden global. Luego se agregaron constantes de inhibición y muerte celular. El modelo mejoró al incluir el cambio de biomasa adherida. La constante de inhibición fue un ruido en los modelos que se utilizó. La constante de muerte celular tiene una tendencia de aumento mientras la concentración de sales aumenta, pero no se pudo determinar. Finalmente el modelo que se ajuste a los resultados, probablemente es más complejo que el que se podía alcanzar en este trabajo de titulación.

Se utilizaron portadores sólidos en los que se adhiere biomasa de una planta de tratamiento, permitiendo un sistema experimental inédito, diferente a los ensayos en que se agregan sales a cultivos suspendidos, que deben esperar una fase de retardo que puede ser extensa, para obtener resultados experimentales.

Bibliografía

- Agudelo, R. (2009). Construcción de una hoja de cálculo en excel para la aplicación del modelo de simulación de oxígeno disuelto en cuerpos de aguas superficiales (ríos y quebradas). <u>Escuela de</u> <u>Química</u>. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander. Especialista en Química Ambiental: 70.
- Ankori, M. (2012). "Israeli Succes Story Aqwise: The Evolution of Niology." Retrieved 18 de enero, 2013, from <<u>http://www.israelnewtech.com/2012/02/israeli-success-story-aqwise-the-evolution-of-biology/></u>.
- Bassin, J., Dezotti, M., et al. (2011). "Nitrification of industrial and domestic saline wastewaters in moving bed biofilm reactor and sequencing batch reactor." Journal of Hazardous Materials **185**: 242-248.
- Baumann, F. J. (1974). "Dichromate reflux chemical oxygen demand proposed method for chloride correction in highly saline wastes. ." <u>Analytical Chemistry</u> 46: 1336-1338.
- Benedict, R. G. and Carlson, D. A. (1971). "Aerobic heterotrophic bacteria in activated sludge." <u>Water Research</u> **5**(11): 1023–1030.
- Bertino, A. (2010). Study on one-stage partial nitritation-anammox process in moving bed biofilm reactors: a sustainable nitrogen removal. <u>Department of Land and Water Resources Engineering</u>, Royal Institute of Technology (KTH): 132.
- Bolton, J., Tummala, A., et al. (2006). "Procedure to Quantify Biofilm Activity in Carriers
- Used in Wastewater Treatment Systems." <u>Journal of Environmental</u> <u>Engineering</u> **133**(11): 1422-1430.
- Campos, J., Mosquera-Corral, A., et al. (2002). "Nitrification in saline wastewater with high ammonia concentration in an activated sludge unit." <u>Water Res</u> **36**(10): 2555-60.
- Carlsson, B. (2012). The Activated Sludge Model No 1. ASM1. Department of Information Technology, Uppsala Universitet.
- Casablanca, E., Ríos, N., et al. (2009). "Optimización de las condiciones de cultivo anaeróbico termófilo para aumentar la producción enzimática de xilanasas con cepas bacterianas encapsuladas y libres." <u>BIOFARBO</u> **17**(2): 51-59.
- Comisión Nacional del Medio Ambiente (2000). Norma de Emisión Descarga Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficicales.
- Contreras, E., Bertola, N., et al. (2000). <u>Un método alternativo para la</u> <u>determinación de biomasa en cultivos puros y sistemas de barros</u> <u>activados.</u>

Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente, Mendoza, AIDIS.

- Cooley, H., Gleick, P., et al. (2006). "Desalination, with a grain of salt. A California Perspective. ." Retrieved 27 de julio, 2012, from <<u>http://www.pacinst.org/reports/desalination/desalination report.</u> <u>pdf</u>>
- Crie, H. (2000). "Desalination tomorrow." <u>Hydroplus</u> **101**: 4-25.
- Chang, C., Chang, J., et al. (2010). "An innovative attached-growth biological system for purification of pond water. ." <u>Bioresource</u> <u>Technology</u> **101**: 1506-1510.
- Characklis, W. G., Trulear, M. G., et al. (1982). "Dynamics of biofilm processes: methods." <u>Water Research</u> **16**(7): 1207-1216.
- Chen, G. and Wong, M. (2004). "Impact of increased chloride concentration to nitrifying activated sludge process. ." <u>Environmental Engineering</u> **130**(2): 116-125.
- Chen, G., Wong, M., et al. (2003). "Dynamic response of nitrifying activated sludge batch culture to increased chloride concentration." <u>Water Research</u> **37**: 3125–3135.
- Chen, S., Sun, D., et al. (2007). "Treatment of pesticide wastewater by moving-bed biofilm reactor combined with Fenton-coagulation pretreatment." Journal of Hazardous Materials **144**: 577–584.
- Chen, S., Sun, D., et al. (2008). "Simultaneous removal of COD and ammonium from landfill leachate using an anaerobic–aerobic moving-bed biofilm reactor system." <u>Waste Management</u> **28**(2): 339-346.
- Chen, S., Sun, D., et al. (2009). "Simultaneous methanogenesis and denitrification of aniline wastewater by using anaerobic–aerobic biofilm system with recirculation." <u>Journal of Hazardous Materials</u> **169**(1-3): 575-580.

Chislett, W. (2007). "Inversión Extranjera Directa en España." <u>Real</u> <u>Instituto Elcano</u>.

- Davies, P. S. (2005). <u>The Biological Basis of Wastewater Treatment</u>, Strathkelvin Instruments Ltd 2005.
- Delgado, C. (2006). Efecto del Zn²⁺, Mg²⁺, Cu²⁺ y Fe²⁺ sobre la biosíntesis de amiloglucosidasa generada po *Aspergillus Niger* en fermentación sólida y sumergida. <u>Departamento de Química</u>. Bucaramanga, Universidad Industrial de Santander. **Químico:** 68.
- Dias, F. F. and Bhat, J. V. (1964). "Microbial Ecology of Activated Sludge : I. Dominant Bacteria." <u>Applied Microbiology</u> **12**(5): 412-417.
- División de Normas del Instituto Nacional de Normalización (1995). Aguas residuales - Métodos de análisis - Parte 3:
- Determinación de sólidos suspendidos totales secados a

103°C - 105°C, Instituto Nacional de Normalización: 11.

- Flemming, H. C. and Wingender, J. (2001). "Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs). Part I: Structural and ecological aspects." <u>Water science and technology</u> **43**(6): 1-8.
- Freire, D. D. C. and Sant'anna, G. L. (1998). "A proposed method modification for the determination of cod in saline waters." <u>Environmental technology</u> **19**: 1243-1247.
- González, M. and Saldarriaga, J. (2008). "Remoción biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo en un sistema tipo anaerobioanóxico-aerobio." <u>EIA</u> **10**: 45-53.
- Henry, J. and Heinke, G. (1999). Ingeniería ambiental, Prentice Hall.
- Jes Vollertsen, J., Jahn, A., et al. (2001). "Comparison of methods for determination of microbial biomass in wastewater." <u>Water</u> <u>Research</u> **35**(7): 1649-1658.
- Kargi, F. and Dincer, A. (1996). "Effect of salt concentration on biological treatment of saline wastewater by fed-batch operation." Enzyme and Microbial Technology **19**: 529-537.
- Kolter, R. and Greenberg, E. P. (2006). "Microbial sciences: The superficial life of microbes." <u>Nature</u> **441**: 300-302.
- Lasa, I., del Pozo, J., et al. "Biofilms bacterianos e infección." from <<u>http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/colaba.ht</u> <u>ml></u>.
- Lawton, G. and Eggert, C. (1957). "Effect of high sodium chloride concentration on trickling filter slimes. ." <u>Sewage & Industrial</u> <u>Wastes</u> **29**: 1228-1236.
- Leung, R. W., Li, D. C., et al. (2012). "Integration of seawater and grey water reuse to maximize alternative water resource for coastal areas: the case of the Hong Kong International Airport." <u>Water</u> <u>Science and Technology</u> **65**(3).
- Levenspiel, O. (2002). <u>Ingeniería de las reacciones químicas</u>, Editorial Reverté.
- Loera, A., Ramírez, F., et al. (2012). "Biopelículas multi-especie: asociarse para sobrevivir. ." <u>Investigación y Ciencia de la</u> <u>Universidad Autónoma de Aguas Calientes</u>**54**: 49-56.
- López, A. and Serpa, J. (2007). Tratamiento de Residuales por digestión anaerobia. Aplicación de la Simulación de Procesos. Estudio bibliográfico. <u>Departamento de Química e Ingeniería Química.</u>, UNIVERSIDAD DE MATANZAS: 29.
- Ludzack, F. J. and Noran, D. K. (1965). "Tolerance of High Salinities by Conventional Wastewater Treatment Processes." <u>Water Pollution</u> <u>Control Federation</u> **37**(10): 1404-1416.
- Maas, C. L., Parker, W. J., et al. (2008). "Oxygen uptake rate tests to evaluate integrated fixed film activated sludge processes." <u>Water</u> <u>Environment Research</u> **80**(12): 2276-2283.

- Martín-Pascual, J., López-López, C., et al. (2012). "Comparative Kinetic Study of Carrier Type in a Moving Bed System Applied to Organic Matter Removal in Urban Wastewater Treatment." <u>Journal of</u> <u>Water Air and Soil Pollution</u> **223**: 1699-1712.
- Matus, N., Fernández, B., et al. (2004). "Recursos Hídricos en Chile. Desafíos para la Sustentabilidad." Retrieved 28 de julio, 2012, from

<<u>http://icc.ucv.cl/ingenieria_sanitaria/apuntes/01_gestion_del_ag</u> ua/03_recursos_hidricos_%20final.pdf>.

- Mayarí, R., Gutiérrez, J., et al. (2005). "Validación de La Determinación de Oxígeno Disuelto y Demanda Bioquímica de Oxígeno en Aguas y Aguas Residuales. ." <u>CENIC Ciencias Químicas</u> **36**(Especial).
- Metcalf & Eddy (1979). <u>Wastewater Engineering: Treatment, disponsal</u> and reuse., McGraw-Hill.
- Microclar. (2008). "División Control de Calidad. Filtros para Jeringa." from <<u>http://www.microclar.com/filtrosjeringa.php></u>.
- Mills, E. and Wheatland, A. (1962). "Effect of saline sewage on the performance of percolating filters." <u>Water & Waste Treatment</u> Journal **9**: 170-172.
- Minera Esperanza. (2013). "Desarrollo Sustentable: Gestión del Agua." Retrieved 18 de mayo, 2013, from <<u>http://www.mineraesperanza.cl/desarrollo_sustentable/g_medio_ambiental/gestion_del_agua/Pages/default.aspx></u>.
- Ministerio Secretaría General de la Presidencia (2000). Norma de emisión para la regulación de contaminantes asociados a las descargas de residuos líquidos a aguas marinas y continentales superficiales. Santiago.
- O'Toole, G., Kaplan, H., et al. (2000). "Biofilm formation as microbial development." <u>Annual Review of Microbiology</u> **54**: 49-79.
- OECD, O. f. e. c. a. d. (2006). Improving Water Management: Recent OECD Experience: 8.
- Olivas, E. and Alarcon, L. (2001). <u>Manual de Prácticas de Microbiología</u> <u>básica y Microbiología de Alimentos</u>.
- Organización Mundial de la Salud (2012). UN-Water Global Analysis and Assessment of Sanitation and Drinking-Water. GLASS Report 2012: The challenge of extending and sustaining services.: 101.
- Orozco, A. (2005). <u>Bioingenieria de Aguas Residuales.</u>, Asociación Colombiana de ingeniería sanitaria y ambiental. Acodal.
- Pacific Institute. (2010). "Low footprint solution enhances capacity and nitrification." Retrieved 12 de enero, 2013, from <<u>http://www.aqwise.com/UserFiles/File/aquize/PDF%20files/2%2</u> <u>0Case%20Studies%20at%20World%20Water%20March%202010.</u> <u>pdf></u>.

- Palomar, P. and Losada, I. (2008). "Desalinización de agua marina en España." <u>Revista de Obras Públicas: Organo profesional de los</u> <u>ingenieros de caminos, canales y puertos</u>.
- Parker, D., Rusten, B., et al. (2002). "A new process for enriching nitrifiers in activated sludge through separate heterotrophic wasting form biofilm carriers." <u>Water environment research</u>: 68-76.
- Pernetti, M. and Di Palma, L. (2005). "Experimental evaluation of inhibition effects of saline wastewater on activated sludge." <u>Environ Technol</u> **26**(6): 695-703.
- Piyasena, P., Mohareb, E., et al. (2003). "Inactivation of microbes using ultrasound: a review." <u>International Journal of Food Microbiology</u> 87: 207-216.
- Pusker Regmi, P., Thomas, W., et al. (2011). "Nitrogen removal assessment through nitrification rates and media biofilm accumulation in an IFAS process demonstration study." <u>Water Research</u> **45**(20): 6699-6708.
- Rigola, M. (1990). <u>Tratamiento de Aguas Industriales: Aguas de Proceso</u> <u>y Residuales</u>, Alfaomega Marcombo.
- Rodríguez, E., Gamboa, M., et al. <u>Bacteriología General. Principios y</u> <u>prácticas de laboratorio.</u>, Universidad de Costa Rica.
- Ruiz, O., Sanmiguel, F., et al. (2008). Estudio de la capacidad de degradación fotocatalítica de vidriados cerámicos. <u>Departamento</u> <u>de Química Inorgánica y Orgánica</u>. Castellón, España, Universidad Jaume I.
- Sera (2011). "Marine Aquariums."
- Setter R, J. D., De Lora F. (1996). <u>Tratamiento de aguas residuales</u>, Editorial Reverté S.A.
- Sonnleitner, B., Locher, G., et al. (1992). "Biomass Determination." Jorunal of Biotechnology **25**: 5-22.
- Sutherland, I. W. (2001). "Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. ." <u>Microbiology</u> **147**: 3-9.
- Tortora, G., Funke, B., et al. (2010). <u>Microbiology: An introduction</u>, Pearson Benjamin Cummings.
- Villaseñor, J. (2001). Eliminación biológica de fósforo en aguas residuales urbanas, Universidad de Castilla-La Mancha. **Tesis Doctoral:** 364.
- Vyrides, I. and Stuckey, D. (2009). "A modified method for the determination of chemical oxygen demand (COD) for samples with high salinity and low organics. ." <u>Bioresource Technology</u> **100**: 979-982.
- Wakadikar, K., Sil, A., et al. (2012). "Influence of Sewage Sludge and Leachate on Biochemical Methane Potential of Waste Biomass." Journal of Bioremediation & Biodegradation **8**(2).

- Waters, C. M. and Bassler, B. L. (2005). "Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria." <u>Annual Review of Cell and Developmental Biology</u> **21**: 319-346.
- Watnick, P. and Kolter, R. (2000). "Biofilm, City of Microbes. ." Journal of Bacteriology **182**(10): 2675-2679.
- Zhang, P., Zhang, G., et al. (2007). "Ultrasonic treatment of biological sludge: Floc disintegration, cell lysis and inactivation." <u>Bioresource</u> <u>Technology</u> **98**(1): 207-210.

Anexo A

Medición de DQO:

El procedimiento que se muestra a continuación es el realizado para medir la DQO de las muestras.

Procedimiento:

- Preparar tubos de reacción con 0,6 mL de solución de digestión I y 1,4 mL de reactivo ácido sulfúrico-sulfato de plata.
- Introducir 0,5 mL de la mezcla escurriendo por la pared interior de un tubo con reactivos previamente homogeneizada.
- Agregar 0,5 mL de agua destilada.
- Cerrar los tubos con su tapa y mezclar el contenido invirtiendo varias veces.
- Colocar los tubos en una placa calefaccionada y mantener a 150°C \pm 2°C por 2 h.
- Retirar los tubos de estufa o digestor y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- Medir la absorbancia de cada tubo a 600 nm, contra un blanco de agua destilada y soluciones.
- Calcular la DQO a partir de una curva de calibración hecha previamente.

Anexo B

Resultados de las Mediciones Realizadas a lo largo de la investigación.

B.1 Resultados de DQO durante la maduración del biofilm

Tabla 15: Mediciones de DQO durante la maduración de biofilm

	Medición de DQO durante la maduración del biofilm								
Día	Tiempo	Muestra	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio			
10	0,1	1	280	232	832	448			
10	0,5	2	768	400	320	496			
10	1	3	192	184	144	173,3			
10	1,5	4	200	104	312	205,3			
10	2	5	216	200	232	216			
10	2,5	6	288	272	288	282,67			
10	3	7	152	168	264	194,67			
13	0,1	1	236	200	80	172			
13	0,5	2	104	120	168	130,67			
13	1	3	84	72	132	96			
13	1,5	4	40	88	144	90,67			
13	2	5	36	12	48	32			
13	2,5	6	76	36	80	64			
13	3	7	68	52	52	57,33			
13	3,5	8	148	84	76	102,67			
13	4	9	52	64	28	48			
13	4,5	10	112	240	-	176			
13	5	11	28	36	52	38,67			
13	5,5	12	48	88	60	65,33			
17	0,1	1	224	228	236	229,33			
17	0,5	2	160	204	208	190,67			
17	1	3	160	276	116	184			
17	1,5	4	152	80	92	108			
17	2	5	176	72	72	106,67			
17	2,5	6	240	106,67	-	173,33			
17	3	7	48	60	48	52			
17	3,5	8	24	64	64	50,67			
17	4	9	36	52	60	49,33			
17	4,5	10	84	72	184	113,33			
17	5	11	108	48	36	64			
17	5,5	12	44	64	100	69,33			
24	0,1	1	268	212	228	236			
24	0,5	2	220	252	216	229,33			

24	1	3	128	140	124	130,67
24	1,5	4	172	112	104	129,3
24	2	5	88	104	100	97,3
24	2,5	6	166,67	140	186,7	164,4
24	3	7	48	44	12	34,67
24	3,5	8	132	36	52	73,3
24	4	9	4	24	0	9,3
24	4,5	10	52	8	28	29,3
24	5	11	44	44	-	44
24	5,5	12	56	20	32	36

B.2 Resultados de DQO a las distintas concentraciones de sales de mar

Tabla 16: Mediciones de DQO durante a las distintas concentraciones de sales de mar

Medición de DQO a distintas concentraciones de sales de mar									
ppm de sales de mar	Tiempo	Muestra	Medición 1	Medición 2	Medición 3	Promedio			
1	0,1	1	140	128	144	137,3			
1	0,5	2	88	116	136	113,3			
1	1	3	144	72	80	98,7			
1	1,5	4	12	44	48	34,7			
1	2	5	40	64	56	53,3			
1	2,5	6	13,33	33,33	53,33	33,3			
1	3	7	24	8	32	21,3			
1	3,5	8	80	32	88	66,7			
1	4	9	20	28	48	32			
1	4,5	10	20	28	20	22,7			
1	5	11	8	4	8	6,7			
1	5,5	12	4	32	4	13,3			
10	0,1	1	256	192	196	214,7			
10	0,5	2	124	164	88	125,3			
10	1	3	136	152	136	141,3			
10	1,5	4	112	100	104	105,3			
10	2	5	96	84	88	89,3			
10	2,5	6	200	80	40	106,7			
10	3	7	64	28	72	54,7			
10	3,5	8	44	28	20	30,7			
10	4	9	24	28	44	32			
10	4,5	10	24	24	16	21,3			
10	5	11	16	-	-	16			
10	5,5	12	16	4	20	13,3			
100	0,1	1	120	116	124	120			

100	0,5	2	76	53,3	136	88,4
100	1	3	96	44	164	101,3
100	1,5	4	48	32	32	37,3
100	2	5	144	40	96	93,3
100	2,5	6	193,3	106,7	100	133,3
100	3	7	32	32	12	25,3
100	3,5	8	28	36	68	44
100	4	9	36	52	68	52
100	4,5	10	8	36	20	21,3
100	5	11	64	84	104	84
100	5,5	12	60			60
1.000	0,1	1	188	168		178
1.000	0,5	2	108	116	72	98,7
1.000	1,5	4	80	64	64	69,3
1.000	2	5	36	68	56	53,3
1.000	2,5	6	64	80	64	69,3
1.000	3	7	130	-	-	130
1.000	3,5	8	35	5		20
1.000	4	9	108	68	56	77,3
1.000	4,5	10	20	8	-	14
1.000	5	11	8	16	-	12
1.000	5,5	12	16	-	-	16
10.000	0,1	1	204	284	392	293,3
10.000	0,5	2	308	300	384	330,7
10.000	1	3	308	224	256	262,7
10.000	1,5	4	280	260	276	272
10.000	2	5	284	284	308	292
10.000	2,5	6	393,3	406,7	466,7	422,2
10.000	3	7	240	240	256	245,3
10.000	3,5	8	368	276	232	292
10.000	4	9	244	172	252	222,7
10.000	4,5	10	272	248	236	252
10.000	5	11	172	208	296	225,3
10.000	5,5	12	188	164	184	178,7
20.000	0,1	1	272	328	196	265,3
20.000	0,5	2	300	304	424	342,7
20.000	1	3	292	312	344	316
20.000	1,5	4	348	356	384	362,7
20.000	2	5	336	332	428	365,3
20.000	2,5	6	424	472	420	438,7
20.000	3	7	396	420	364	393,3
20.000	3,5	8	368	352	348	356
20.000	4	9	408	400	380	396,0

$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$	_							
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		20.000	4,5	10	440	388	760	529,3
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		20.000	5	11	392	392	368	384
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		20.000	5,5	12	492	372	352	405,3
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		30.000	0,1	1	520	480	472	490,7
$\begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$		30.000	0,5	2	540	492	420	484
30.0001,54524524568538,730.00025680536544586,730.0002,56560564612578,730.0003764462057261230.0003,5863668854862430.00049612860644705,330.0004,510540600560566,730.00051153675655661630.0005,512520568548545,3		30.000	1	3	576	528	480	528
30.00025680536544586,730.0002,56560564612578,730.0003764462057261230.0003,5863668854862430.00049612860644705,330.0004,510540600560566,730.00051153675655661630.0005,512520568548545,3		30.000	1,5	4	524	524	568	538,7
30.0002,56560564612578,730.0003764462057261230.0003,5863668854862430.00049612860644705,330.0004,510540600560566,730.00051153675655661630.0005,512520568548545,3		30.000	2	5	680	536	544	586,7
30.0003764462057261230.0003,5863668854862430.00049612860644705,330.0004,510540600560566,730.00051153675655661630.0005,512520568548545,3		30.000	2,5	6	560	564	612	578,7
30.0003,5863668854862430.00049612860644705,330.0004,510540600560566,730.00051153675655661630.0005,512520568548545,3		30.000	3	7	644	620	572	612
30.00049612860644705,330.0004,510540600560566,730.00051153675655661630.0005,512520568548545,3		30.000	3,5	8	636	688	548	624
30.0004,510540600560566,730.00051153675655661630.0005,512520568548545,3		30.000	4	9	612	860	644	705,3
30.000 5 11 536 756 556 616 30.000 5,5 12 520 568 548 545,3		30.000	4,5	10	540	600	560	566,7
30.000 5,5 12 520 568 548 545,3		30.000	5	11	536	756	556	616
		30.000	5,5	12	520	568	548	545,3

B.3 Resultados de biomasa adherida durante la maduración del biofilm

Concentración de Biomasa Adherida durante la formación del biofilm								
Día	Muestra	Método Chang [gr/L]	SST biomasa desprendida [gr/L]	Método Portadores Completos [gr/L]				
10	1	0,26	-	-				
13	1	1,95	-	-				
17	1	1,09	3,39	8,16				
19	1	0,96	6,09	9,83				
21	1	0,74	8,05	12,43				
24	1	5,72	6,61	7,88				
24	2	7,06	9,24	12,32				

Tabla 17: Medición de biomasa adherida durante la maduración del biofilm

B.4 Resultados de biomasa adherida a las distintas concentraciones de sales de mar

Biomasa Adherida a distintas concentraciones de sales de mar en gr/L de reactor								
ppm sales de mar	Muestra	SST biomasa desprendida [gr/L]	Método Portadores Completos [gr/L]	Método Chang [gr/L]				
1	Inicio 1	1,46	2,08	4,1202				
1	Inicio 2	2,02	2,31	3,6477				
1	Fin 1	1,87	2,43	3,23568				
1	Fin 2	4,49	5,55	5,17104				
10	Inicio 1	6,09	8,73	0,27594				
10	Inicio 2	7,42	16,98	2,268				
10	Fin 1	5,67	19,13	2,87658				
10	Fin 2	1,26	1,58	0,6993				
100	Inicio 1	3,87	5,00	3,90474				
100	Inicio 2	4,45	8,77	3,35286				
100	Fin 1	1,92	2,75	1,93536				
100	Fin 2	3,50	4,65	2,69892				
1.000	Inicio 1	4,87	9,36	4,99338				
1.000	Inicio 2	10,53	15,89	1,78038				
1.000	Fin 1	1,25	1,22	3,09204				
1.000	Fin 2	1,88	2,57	4,20336				
10.000	Inicio 1	0,86	16,66	3,1941				
10.000	Inicio 2	1,71	1,84	2,44188				
10.000	Fin 1	0,64	3,08	5,25798				
10.000	Fin 2	1,86	2,90	1,78038				
20.000	Inicio 1	4,42	4,84	3,2319				
20.000	Inicio 2	5,02	5,69	4,88754				
20.000	Fin 1	2,69	3,49	1,36836				
20.000	Fin 2	1,05	5,44	1,93914				
30.000	Inicio 1	2,36	2,87	2,97486				
30.000	Inicio 2	3,43	4,18	2,30958				
30.000	Fin 1	1,06	1,84	1,33056				
30.000	Fin 2	1,21	2,22	1,95048				

 Tabla 18: Medición de biomasa adherida a distintas concentraciones de sales de mar

B.5	Resultados	de	biomasa	adherida	luego	de	someter	los	portadores	а
	ultrasonid	lo								

Peso Biomasa adherida luego de utilizar ultrasonido							
ppm de sales de mar	Muestra	Peso residuos que queda luego del ultrasonido [mg]	Porcentaje de remoción de biomasa				
1	Inicio 1	0,02	100,00				
1	Inicio 2	0,66	99,82				
1	Fin 1	0	100,00				
1	Fin 2	0,2	99,95				
10	Inicio 1	0,06	99,98				
10	Inicio 2	0,04	99,99				
10	Fin 1	0,26	99,93				
10	Fin 2	0,12	99,97				
100	Inicio 1	0	100,00				
100	Inicio 2	0,02	99,99				
100	Fin 1	0	100,00				
100	Fin 2	0,24	99,94				
1.000	Inicio 1	0,02	99,99				
1.000	Inicio 2	0,04	99,99				
1.000	Fin 1	0	100,00				
1.000	Fin 2	0,02	99,99				
10.000	Inicio 1	0,2	99,95				
10.000	Inicio 2	0,04	99,99				
10.000	Fin 1	0,48	99,87				
10.000	Fin 2	0,04	99,99				
20.000	Inicio 1	0,08	99,98				
20.000	Inicio 2	0,22	99,92				
20.000	Fin 1	0,02	99,99				
20.000	Fin 2	0	100,00				
30.000	Inicio 1	0,02	99,99				
30.000	Inicio 2	0	100,00				
30.000	Fin 1	0,06	99,98				
30.000	Fin 2	0,02	99,99				