



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA
AMBIENTAL – AGUA

EFFECTO DE PICOS DE CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS
SOBRE BIOMASA GRANULAR AEROBIA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
MAESTRA EN INGENIERÍA AMBIENTAL

PRESENTA:

SONIA GLORIA SANTIAGO CRUZ

DIRECTOR

DR. IVÁN MORENO ANDRADE
Instituto de Ingeniería

MÉXICO, D. F. SEPTIEMBRE, 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Contenido

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	2
ÍNDICE DE FIGURAS	3
ÍNDICE DE TABLAS	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT	7
1. INTRODUCCIÓN.....	9
2. MARCO TEÓRICO	12
2.1 Contaminación del agua	12
2.2 Tratamiento biológico de aguas residuales	13
2.2.1 Proceso biológico por medio de lodos activados	14
2.2.2 Reactores discontinuos secuenciales (SBR).....	15
2.2.3 Formación de gránulos en reactores SBR	17
2.2.4 Factores que afectan la formación y estabilidad de los gránulos aerobios.....	20
2.2.5 Formación de gránulos aerobios en agua residual.....	23
2.2.5 Biodegradación de aguas residuales inhibitorias por medio de biomasa granular en reactores SBR.....	27
3. OBJETIVOS	30
Objetivo general	30
Objetivos particulares.....	30
4. METODOLOGÍA	31
4.1 Estrategia experimental	31
4.2 Reactor discontinuo secuencial (SBR).....	31
4.3 Arranque del reactor.....	32
4.4 Aclimatación y formación de biomasa granular.....	35
4.5 Variaciones de picos de concentración de compuestos fenólicos	35
4.6 Métodos analíticos	36
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	38
5.1 Granulación de la biomasa a partir de un agua residual municipal.....	38
5.2 Biodegradación utilizando agua residual municipal	39
5.3 Efecto de compuestos fenólicos (F, 4CF, 2,4 DCF y 2,4,6 TCF)	44
5.4 Operación del reactor durante los picos de concentración de compuestos fenólicos	44
5.5 Seguimiento de remoción de compuestos fenólicos y materia orgánica.....	50
6. CONCLUSIONES.....	60
7. REFERENCIAS	62
8. Lista de artículos en memorias de congreso derivadas de este trabajo de investigación.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

SBR	Reactor discontinuo secuencial
SBRG	Reactor discontinuo secuencial granular
AGSMBR	Biorreactor de membrana con lodo granular aerobio
MBR	Biorreactor de membrana
F	Fenol
4 CF	4-clorofenol
2,4 DCF	2,4-diclorofenol
2,4,6 TCF	2,4,6-triclorofenol
DQO	Demanda química de oxígeno
DBO ₅	Demanda biológica de oxígeno
N-NO ₃	Nitrato
N-NO ₂	Nitrito
N-NH ₄	Nitrógeno amoniacal
P-PO ³⁻ ₄	Fósforo
EPS	Sustancias exopoliméricas
IVL	Índice volumétrico de lodo
VS	Velocidad de sedimentación
q	Velocidad específica de degradación del sustrato
SST	Sólidos suspendidos totales
SSV	Sólidos suspendidos volátiles
TRH	Tiempo de retención hidráulica
GAO	Organismos acumuladores de glucógeno
PAO	Organismos acumuladores de fósforo
TN	Nitrógeno total
F/M	Relación alimento/Microorganismo



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1	Representación de las etapas de un reactor SBR.	16
Figura 2.2	Mecanismo propuesto de granulación después de la puesta en marcha de un SBR con un corto tiempo de sedimentación (Beun <i>et al.</i> , 1999).	18
Figura 2.3	Desarrollo de gránulos mediante ciliados.	19
Figura 2.4	Biomasa granular reportada por Zhang <i>et al.</i> ; (2011).	24
Figura 2.5	Biomasa granular formada con una baja relación de F/M. (Liu <i>et al.</i> , 2011).	26
Figura 4.1	Reactor SBR.	32
Figura 4.2	Toma del inóculo proveniente de la planta de tratamientos de agua residual municipal.	33
Figura 4.3	Toma de la muestra de agua residual en la entrada de la planta de tratamientos de agua residual.	34
Figura 5.1	Variaciones de carga orgánica en el agua residual municipal.	38
Figura 5.2	Porcentaje de remoción de materia orgánica, nitrógeno amoniacal y fósforo.	39
Figura 5.3	El IVL durante la operación del reactor SBR.	40
Figura 5.4	Los SST y SSV durante la operación del reactor SBR.	41
Figura 5.5	Biomasa granular cultivada en agua residual, con diámetro promedio de 0.4mm.	42
Figura 5.6	Tamaño de la biomasa.	43
Figura 5.7	Coefficiente de integridad a lo largo de la operación del reactor.	44
Figura 5.8	Porcentaje de remoción de nutrientes en cada pico de concentración de compuesto fenólico.	45
Figura 5.9	IVL y VS en el reactor durante cada pico de concentración del compuesto fenólico.	46
Figura 5.10	Coefficiente de integridad durante cada pico de concentración del compuesto fenólico.	47
Figura 5.11	Tamaño de gránulo (promedio, valores máximos y mínimos)	48
Figura 5.12	Biomasa granular expuesta a picos de concentración de compuestos fenólicos. Entre paréntesis se muestra el diámetro y el CI (mm-%, respectivamente).	49
Figura 5.13	Remoción de 25 mg/L de Fenol.	50
Figura 5.14	Remoción de 75 mg/L de Fenol	51
Figura 5.15	Remoción de materia orgánica.	51
Figura 5.16	Remoción de 250 mg/L de Fenol.	52
Figura 5.17	Remoción de materia orgánica.	53
Figura 5.18	Remoción de 30 mg 4 CF/L.	53
Figura 5.19	Remoción de materia orgánica.	54
Figura 5.20	Remoción de 25 mg 2,4 DCF/L.	55
Figura 5.21	Remoción de la materia orgánica.	55
Figura 5.22	Remoción de 40 mg 2,4,6 TCF/L.	57
Figura 5.23	Remoción de materia orgánica.	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1 Etapas establecidas en la operación del reactor SBR.	33
Tabla 4.2 Compuestos fenólicos.	35
Tabla 5.1 Caracterización del agua residual municipal.	38
Tabla 5.2 Picos de concentración de compuesto fenólicos sobre la biomasa granular.	58
Tabla 5.3 Picos de concentración de compuestos fenólicos sobre lodo activado.	58

RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el efecto de picos de concentración de compuestos fenólicos sobre biomasa granular aerobia formada en agua residual de origen municipal, utilizando un reactor discontinuo secuencial (Sequencing Batch Reactor, SBR) automatizado, con un volumen total de 7 L, un volumen útil de 6 L y un volumen de intercambio del 50%. En la operación del reactor se midió la eficiencia de remoción de la materia orgánica (como DQO), nitrógeno amoniacal, fósforo, la producción de nitratos y nitritos. Se midió por medio de microscopía óptica el tamaño de gránulo y por granulometría el coeficiente de integridad. Se midió el índice volumétrico de lodo (IVL) y la velocidad de sedimentación (VS) de la biomasa. La estrategia experimental utilizada consistió en dos etapas. En la primera etapa se realizó el arranque del biorreactor, inoculado con una concentración de sólidos suspendidos totales (SST) de 6800 mg/L y 6500 mg/L de sólidos suspendidos volátiles (SSV). El reactor se operó con los siguientes tiempos: llenado: 10 min, reacción: 300 min durante la granulación y 240 min durante el resto de la operación, sedimentación: 30 min durante la aclimatación y 3 min cuando se alcanzó la granulación; y vaciado: 5 min. Como sustrato se empleó agua residual cruda proveniente de la planta de tratamiento de agua residual del municipio de Santa Rosa Jaúregui, Qro. Una vez aclimatada la biomasa se redujo gradualmente el tiempo de sedimentación de 30 a 3 min con el objetivo de ejercer una presión de selección de los microorganismos para la formación de gránulos aerobios.

En la segunda etapa se estudió el comportamiento de la variación en la carga orgánica del agua residual municipal y se expuso la biomasa a picos de concentración de compuestos fenólicos (25 mg/L de fenol (F), 75 mg/L de F, 250 mg/L de F, 30 mg/L de 4 CF, 25 mg/L de 2,4 diclorofenol (2,4 DCF), 40 mg/L de 2,4,6 triclorofenol (2,4,6 TCF), así mismo se estudió la cinética de biodegradación de cada uno de los compuestos, realizando una comparación con un reactor de lodo activado inoculado con la misma cantidad de biomasa presente en el reactor con biomasa granular.

El reactor operó durante 222 días. Después de 55 días de cultivo en agua residual municipal se obtuvo biomasa granular con un diámetro promedio de 0.4mm y un coeficiente de integridad (CI) del 80%. El IVL disminuyó de 241 a 28 mL/gSSV y la VS aumentó de 0.21 a 6.3 m/h, debido a la granulación de la biomasa. La eficiencia de degradación durante la operación del reactor se mantuvo estable obteniendo un promedio de remoción de materia orgánica (como DQO), N-NH₄ y fósforo (como P-PO₄³⁻), de 82%, 94% y 36%, respectivamente.

En el ciclo de operación 915, se iniciaron los experimentos para determinar el efecto de la presencia puntual de picos de concentración de compuestos fenólicos en el influente. Se observó que el reactor con biomasa granular degradó concentraciones de 25 mg/L, 75 mg/L y 250 mg/L de F, alcanzando eficiencias en la degradación de los compuestos fenólicos y en la remoción de la materia orgánica mayores del 90% en todos los casos. Por otro lado, en el reactor de lodos activados se observó inhibición de la biomasa. Por ejemplo, durante la degradación de 75 y 250 mg F/L en el reactor de lodos activados, la remoción de fenol fue 54 y 17%, respectivamente.

En el caso del 2,4 DCF y el 2,4,6 TCF, la biomasa granular degradó los fenoles con eficiencias superiores al 90% a diferencia de los lodos activados, donde la remoción de fenoles fue del 32% y 11%, respectivamente. Se encontró que 40 mg/L de 2,4,6 TCF disgregó la integridad de la biomasa granular en un 75%, con ello disminuyó la velocidad de sedimentación de la biomasa, y se aumentó el tiempo de reacción hasta 110 h. Sin embargo, se degradó completamente el compuesto fenólico y el 85% de la materia orgánica presente en el reactor. En este estudio se demostró que la biomasa granular soporta concentraciones puntuales de compuestos fenólicos, incluso en el caso de los fenoles clorados, aún al existir una mayor pérdida de la integridad del gránulo.

Palabras clave: Gránulos aerobios, agua residual municipal, compuestos fenólicos, SBR.

ABSTRACT

In this work, the effect of concentration peaks on aerobic granular biomass formed in municipal wastewater source was studied using an automated sequencing batch reactor (SBR), with a total volume of 7 L and a working volume of 6 L and an exchange volume of 50%. During the reactor operation, the removal efficiency of the organic matter (as COD), ammonia nitrogen, phosphorus, and the production of nitrate and nitrite were evaluated. The granule diameter and the integrity coefficient (IC) of granules were measured using an optical microscope. The sludge volume index (SVI) and settling velocity (VS) of biomass were also evaluated. The experimental strategy was divided in two stages. In the first stage, it was studied the start-up of the bioreactor inoculated with a total suspended solids concentration (TSS) of 6800mg/L and 6500mg/L of volatile suspended solids (VSS). The reactor was operated using the following phases duration: filling: 10 min, reaction: 300 min for the granulation process and 240 min for the remainder operation, settling: 30 min during the acclimation and 3 min when the granulation was reached, and draw: 5 min. Raw wastewater coming from the wastewater treatment plant in the municipality of Santa Rosa Jaúregui, was used as a substrate. Once biomass was acclimated, the settling time was gradually reduced from 30 to 3 min in order to produce a selection pressure for forming aerobic granules.

In the second stage, the behavior of the variation of organic load in municipal wastewater was studied. Also, the exposition of granules to concentration peaks of phenolic compounds (25 mg/L of phenol (F), 75 mg/L F, 250 mg/L F, 30 mg/L of 4 CP, 25 mg/L of 2,4-dichlorophenol (2,4 DCP), 40 mg/L of 2,4,6-trichlorophenol (2,4,6 TCP) was evaluated. A comparison between the granular sludge reactor and an activated sludge reactor inoculated with the same amount of biomass was carried out in order to compare the kinetic degradation response in both reactors.

The reactor was operated during 222 days. After 55 days degrading municipal wastewater, granular biomass was obtained with an average diameter of 0.4mm and an integrity coefficient (CI) of 80%. The SVI decreased from 241 to 28 mL/gSSV and VS increased

from 0.21 to 6.3 m / h, due to the granulation biomass. The efficiency of degradation during reactor operation showed stable removal obtaining average removal of organic matter (as COD), NH₄-N and phosphorus of 82%, 94%, 36% respectively.

In the cycle 915 of operation, experiments were initiated to determine the effect of the presence of concentration peak of phenolic compounds in the influent. It was observed that the reactor with granular biomass degraded concentrations of 25 mg/L, 75 mg/L and 250 mg/L of F, achieving efficiencies higher than 90%, in both phenolic compounds degradation and the organic matter removal for all the cases. In other hand, biomass inhibition in the activated sludge reactor was observed. For example, during the 75 and 250 mg F/L degradation in the activated sludge reactor, the phenol removal was 54 and 17%, respectively.

In the case of 2,4 DCP and 2,4,6 TCP, the granular biomass could degrade phenols with efficiencies above 90% in contrast to the activated sludge reactor where the phenol removal was 32% and 11% respectively. We found that 40 mg/L of 2,4,6 TCP disintegrated the granular biomass, losing 75% of the granules integrity. In this case, slower settling velocity and an increased of reaction phase to 110 h were obtained. However, the phenolic compound and 85% of the organic matter present in the reactor were degraded. This study demonstrated that granular biomass can degrade concentrations peaks of phenolic compounds, even in the case of chlorinated phenols, despite higher loss of integrity of the granule.

Keywords: aerobic granules, municipal wastewater, phenolic compounds, SBR.

1. INTRODUCCIÓN

El agua es uno de los recursos no renovables de gran importancia para los seres vivos, sin embargo ha sido contaminada por las actividades humanas (crecimiento demográfico, desarrollo industrial y urbanización), a tal grado que ha llegado a ser nociva para la flora y la fauna acuática. El agua residual descargada en arroyos, ríos y lagos no es posible que sea depurada por el ambiente, debido a que contiene altas concentraciones de materia orgánica y en algunos casos compuestos tóxicos que no son posibles de remover por métodos biológicos. Las aguas residuales industriales en ciertos casos son descargadas al sistema de alcantarillado sin tratamiento previo, provocando que las personas, animales y la flora estén expuestos a compuestos tóxicos.

Recientemente se ha reportado el uso de procesos biológicos en reactores discontinuos secuenciales (SBR) para el tratamiento de aguas residuales industriales (Schewarzenbeck *et al.*, 2004; Arrojo *et al.*, 2004; Su y Yu, 2005). En estos reactores se han cultivado exitosamente biomasa granular aerobia la cual está definida como caso especial de desarrollo de biopelícula, los gránulos aerobios son considerados como agregados microbianos más densos que los lodos activados y forma externa esférica (Valera, 2006). La granulación aerobia puede ser definida como la aglomeración de células para formar una asociación multicelular estable bajo distintas condiciones (Valera, 2006). La definición de gránulo aerobio fue establecida en el *IWA-Workshop Aerobic Granular Sludge, Munich* (2004) como agregados de origen microbiano, que no coagulan bajo condiciones de fuerzas de estrés reducidas y que sedimentan significativamente más rápido que los flóculos de los lodos activados. Los lodos granulares consisten en agregados bacterianos mucho más densos que los lodos activos tradicionales por lo que se logra su separación del agua tratada de una forma mucho más rápida y sin necesidad de decantadores externos. Esto permite retener más biomasa en el sistema por lo que aumenta la capacidad del mismo, disminuyendo su área de implantación en torno a un 40%. Por otra parte, el empleo de esta tecnología conlleva a una reducción de un 30% de los lodos generados (Arrojo *et al.*, 2007).

Dado que el uso de sistemas con biomasa granular obtenida en condiciones aerobias/anóxicas es reciente, la mayor parte de los trabajos llevados a cabo hasta la fecha

son a escala laboratorio, aunque con ellos ya se ha probado la viabilidad del proceso con diversos tipos de efluentes sintéticos (Morgenroth *et al.*, 1997; Beun *et al.*, 1999; Beun *et al.*, 2002). Los gránulos aerobios se cultivan con éxito en reactores SBR, aunque se ha reportado su formación en reactores de flujo continuo, sin embargo la información acerca de su formación en sistemas continuos es muy limitada (Kishida *et al.*, 2010).

Se ha establecido que existen las siguientes condiciones favorables para la formación de los gránulos:

1. Aplicación de un régimen de abundancia/ayuno (Villaseñor *et al.*, 2001; Beun *et al.*, 2001).
2. Aplicación de tiempos cortos de sedimentación (Beun *et al.*, 2000).
3. Esfuerzo de corte elevado dentro del reactor durante la etapa de aeración (Beun *et al.*, 2000; Liu y Tay, 2002).

De Kreuk y van Loosdrecht (2004) reportaron la formación de biomasa granular estable en agua residual sintética en un reactor SBR aplicando un largo periodo de alimentación, en el cual el sustrato puede penetrar a todo el gránulo, utilizando una parte (alrededor del 40%) para el crecimiento y la otra parte para la acumulación de polihidroxibutirato (Beun *et al.*, 2002). Durante la granulación, existe la incorporación de microorganismos de lento crecimiento, tal como los acumuladores de fósforo (PAO) y los acumuladores de glucógeno (GAO), obteniendo biomasa granular estable.

Recientemente, se ha reportado el cultivo de gránulos aerobios en agua residual municipal. Al respecto, de Kreuk y van Loosdrecht, (2006) aplicaron una fase larga de alimentación, seguida de una etapa de aireación en el cultivo de gránulos aerobios en agua residual urbana, la estrategia de operación consistió en hacer uso de ciclos sucesivos de 3 horas: tiempo de alimentación: 60 min, tiempo de aireación 115 min y un corto tiempo de sedimentación entre: 6-15 min, la selección del tiempo de ciclo fue de acorde con los resultados positivos de Kreuk y van Loosdrecht (2004), se observó el crecimiento de biomasa granular en agua residual sobre estructuras filamentosas, obteniendo gránulos aerobios de un diámetro promedio de 1.1 mm. Su *et al.* (2012) reportaron un cultivo óptimo de gránulos aerobios en

agua residual alternando condiciones anaerobio/aerobio en un reactor SBR. El volumen del reactor fue de 85 L, en la puesta en marcha se inoculó con una alta concentración de sólidos suspendidos totales 20 g/L, aplicando un flujo de aire en el fondo del reactor de 50 L/min. Liu *et al.*, (2011), reportaron la puesta en marcha de un reactor granular SBR alimentado con agua residual municipal. La estrategia de arranque utilizada fue una combinación de un tiempo corto de sedimentación y una relación alta alimento/microorganismo.

La presencia de compuestos inhibitorios en el agua residual de origen doméstico, conlleva a la desestabilización de los procesos biológicos convencionales (siendo el más común el tratamiento por medio de lodos activados). Esto sucede cuando de manera esporádica existen descargas no controladas de aguas residuales industriales, provocando que compuestos inhibitorios para los microorganismos lleguen a una planta de tratamiento de aguas municipales. Por otro lado, se ha reportado que los gránulos aerobios son tolerantes a la presencia de compuestos tóxicos, incluyendo fenoles y clorofenoles (Khan *et al.*, 2011). Debido a lo anterior, en el presente trabajo se estudió la formación de biomasa granular cultivada en agua residual municipal y se determinó el efecto de la exposición de la biomasa granular a picos de concentración de compuestos fenólicos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Contaminación del agua

Toda comunidad genera residuos tanto líquidos como sólidos. La fracción líquida (agua residual) está constituida, esencialmente, por el agua de abastecimiento, después de haber sido contaminada por los diversos usos a la que ha sido sometida. Las fuentes de origen de las aguas residuales son las procedentes del uso urbano, industrial, desechos agrícolas y el agua pluvial. La contaminación del agua es la alteración de las propiedades físicas, químicas y biológicas, afectando directamente su calidad, la cual estará en función del uso que se desea dar. Dentro de los contaminantes físicos enmarcan a: los sólidos coloidales, suspendidos, disueltos, sabor, temperatura, olor, etc., los contaminantes biológicos son aquellos organismos capaces de provocar alguna enfermedad a los seres vivos, y dentro de los contaminantes químicos se encuentran sustancias tóxicas, compuestos radiactivos, drenados de minas, desechos solubilizados de la agricultura, etc. En general, se considera como “contaminante” al exceso de materia o energía (calor) que provoque daños a los humanos, animales, plantas y bienes, que perturben negativamente las actividades que normalmente se desarrollan cerca o dentro del agua (Jiménez, 2001). Al conocer la fuente de contaminación de las aguas residuales y consecuentemente las características físicas, químicas y biológicas que particularizan el agua residual se podrá realizar la correcta elección del tipo de tratamiento a utilizar.

Las descargas líquidas provenientes de la industria, en algunas ocasiones contienen muy poca agua (en algunos casos, por ejemplo, se vierten solventes). En la industria, el tratamiento del agua residual tiene dos objetivos: abatir en lo posible, la contaminación admisible en las plantas que tratan el agua del drenaje y cumplir con los estándares de calidad, que en México están dados por las condiciones particulares de descarga (Jiménez, 2001). Las descargas de aguas residuales industriales provenientes de la industria papelera, farmacéutica, desechos de plaguicidas y colorantes utilizan sustancias tóxicas como lo son los clorofenoles. Estas sustancias son nocivas para el ambiente por su escasa biodegradabilidad y alta toxicidad, por lo que el tratamiento previo a su descarga debe ser una prioridad.

2.2 Tratamiento biológico de aguas residuales

Los principales objetivos del tratamiento biológico de aguas residuales son transformar los componentes disueltos o partículas biodegradables en productos finales menos complejos o incluso la mineralización de ellos, capturar o incorporar sólidos coloidales suspendidos o no sedimentables en un flóculo o en una biopelícula y, en algunos casos remover trazas de compuestos orgánicos (Metcalf y Eddy, 2003). El tipo de tratamiento para la remoción de contaminantes presentes en el agua residual estará en función de la fuente que le dio origen. La remoción de la materia orgánica en el agua residual, se lleva a cabo normalmente por tratamientos biológicos donde un consorcio de microorganismos la biodegradan, obteniendo energía de la materia orgánica, medida como DQO o DBO₅.

Los procesos biológicos pueden ser de cuatro tipos: aerobios, anaerobios, anóxicos y facultativos. Los procesos aerobios son los que requieren oxígeno disuelto; en cambio, en los anaerobios hay ausencia de este. Los anóxicos se llevan a cabo en presencia de oxígeno combinado a un elemento (NO_3^{1-} , SO_4^{2-} , etc) (Metcalf y Eddy, 2005). En los procesos facultativos existen poblaciones mixtas, además de que intervienen microorganismos denominados facultativos, que son indiferentes a la presencia o ausencia de oxígeno. El proceso anaerobio produce pocos lodos (células), mientras que el aerobio genera una cantidad aproximadamente cinco veces mayor (Metcalf y Eddy, 2005; Jiménez, 2001). En función de la forma en que se encuentre la biomasa, los procesos biológicos se clasifican en:

- **Sistemas con biomasa suspendida:** En estos sistemas los microorganismos se encuentran libres dentro del tanque. Son sistemas de tratamiento comunes, pero el mayor inconveniente es que, frecuentemente, tienen problemas de decantación, por ello los microorganismos se escapan con el efluente. El principal proceso de este tipo es el conocido como lodos activados.
- **Sistema con biomasa fija.** En estos sistemas los microorganismos se encuentran adheridos en un soporte. El volumen total del reactor es menor comparado con un sistema con biomasa suspendida, debido a que existe una mayor retención de

biomasa en el sistema. Algunos procesos de este tipo son los que utilizan filtros percoladores, biodiscos, biofiltros o lechos fluidificados.

2.2.1 Proceso biológico por medio de lodos activados

El tratamiento convencional de lodos activados es un proceso biológico que se fundamenta en poner en contacto el agua residual con una masa biológica preexistente en un tanque de aeración. Generalmente se aplica en aguas residuales provenientes de uso doméstico, de comercios, instituciones y agua pluvial. La materia orgánica presente en el agua es biodegradada por microorganismos presentes en los flóculos en sustancias más simples e inocuas para el ambiente. El influente es ingresado a un tratamiento primario que dependerá de la cantidad de sólidos presentes en el agua, generalmente consta de una remoción de sólidos grandes por medio de un sistema de rejillas, posteriormente el agua se hace pasar por un sistema de cribado reteniendo en esta etapa los sólidos de menor tamaño, por último se ingresa a un tratamiento que consta de un desarenador y un sedimentador primario. El tratamiento secundario es la base de la remoción de contaminantes orgánicos por medio de microorganismos, decantando el licor mezclado a un sedimentador secundario o clarificador, para la obtención de un efluente libre de sólidos sedimentables. En el tratamiento terciario se realiza una desinfección del efluente. Existen diferentes variantes en el proceso de lodos activados, como lo son la aireación extendida, de mezcla completa, de flujo pistón, mencionando las más empleadas en el país.

Las descargas de aguas residuales industriales contienen en su mayoría compuestos tóxicos específicos del proceso productivo, con una composición y flujo variado. El paro y lavado de maquinaria son algunos de los factores que influyen en su composición. La gran mayoría de las aguas residuales industriales se pueden tratar por medio de microorganismos. Sin embargo existen más de 70,000 compuestos químicos orgánicos sintéticos que son muy difíciles de biodegradar por procesos biológicos. En la mayoría de los casos, los compuestos orgánicos pueden ser biodegradados pero la degradación es muy lenta, y son requeridas condiciones ambientales muy específicas (pH, potencial redox, temperatura, etc.) (Moreno, 2006). En general los procesos continuos por lodos activados son empleados para realizar el

tratamiento de aguas residuales industriales (Eckenfelder, 1995). Sin embargo, debido a que las aguas industriales son muy variables en el flujo y concentración de compuestos inhibitorios, estos presentan bajas eficiencias de remoción. Para solventar este problema es más frecuente el uso de reactores discontinuos secuenciales (Wilderer *et al.*, 2001)

2.2.2 Reactores discontinuos secuenciales (SBR)

El proceso discontinuo secuencial utiliza un reactor de llenado y vaciado con mezcla completa, la etapa aireación (etapa de reacción) y la clarificación ocurren en el mismo tanque. Todo sistema SBR tiene 5 etapas en común: llenado, reacción, sedimentación, vaciado y tiempo muerto. La duración de cada una de las fases se determina por las características del agua residual a tratar y los requerimientos de depuración del efluente (Wilderer *et al.*, 2001). Estos ciclos de funcionamiento deben ser lo más frecuente posible, siempre que cada fase se lleve a cabo según los requerimientos de depuración. A continuación se describe cada una de las etapas de un reactor SBR (figura 2.1):

Llenado. El sustrato (agua residual) es adicionado al reactor. El proceso de llenado típico permite que el nivel del líquido en el reactor sea del 75% de su capacidad (Metcalf y Eddy, 2003). Durante el llenado, el reactor puede ser mezclado únicamente o mezclado y aireado para promover el contacto biológico con el influente de agua residual.

Reacción. En este periodo, la biomasa consume el sustrato bajo condiciones controladas, como los son: pH, temperatura, concentración de oxígeno disuelto, tiempo de reacción.

- El tiempo de reacción es un factor que afecta la eficiencia del proceso si este no es el adecuado. Si es muy corto no se remueven los contaminantes orgánicos (eficiencias bajas) y si es demasiado largo pueden presentarse periodos de ayuno que disminuyen la actividad de los microorganismos (Buitrón y Moreno, 2004).
- El pH es un factor importante, es clave en el crecimiento de los microorganismos en las plantas de tratamiento de aguas residuales, ya que la mayoría no pueden tolerar

niveles por encima de 9.5 o por debajo de 4. Por lo general el pH óptimo para el crecimiento de las bacterias de un reactor aerobio se encuentra entre 6.5 y 7.5 (Metcalf y Eddy, 2003).

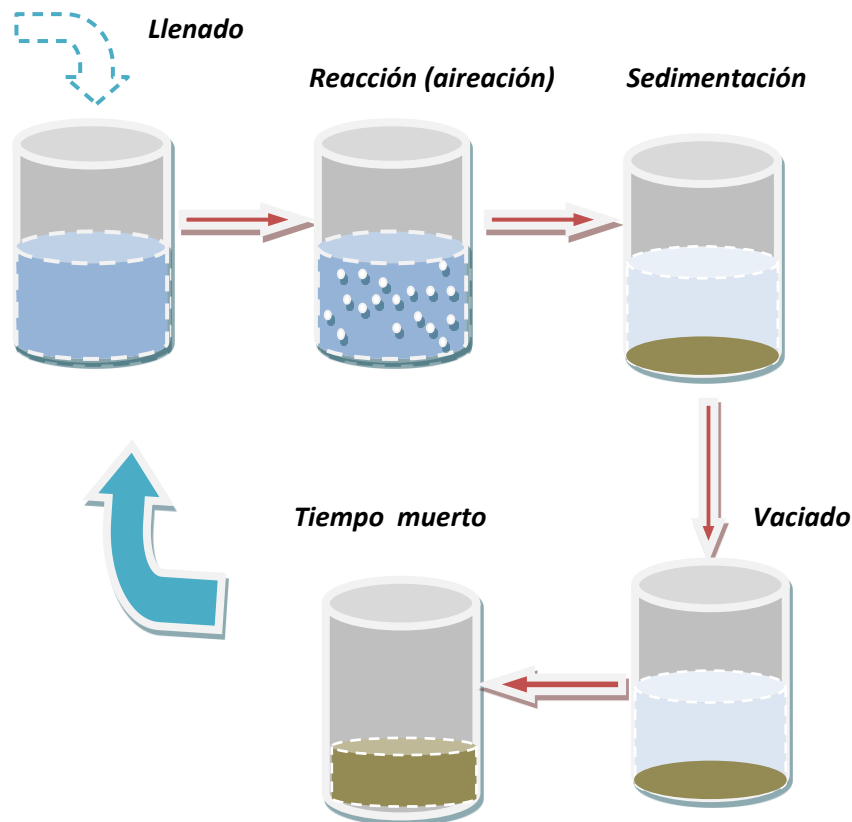


Figura 2.1 Representación de las etapas de un reactor SBR.

- Concentración de oxígeno disuelto. Los microorganismos aerobios son aquellos que realizan sus funciones de crecimiento en ambientes con más del 21% de oxígeno disuelto en relación a la saturación (Madigan *et al.*, 1997). Se ha demostrado que el oxígeno disuelto es el principal factor limitante para la actividad metabólica de biomasa suspendida (gránulos aerobios) en un reactor SBR (Li y Liu, 2005).
- La temperatura determina la velocidad de reacción biológica. La temperatura no solo influye en las actividades metabólicas de la población microbiana, sino también tiene profundo efecto sobre factores tales como la velocidad de transferencia de gases (por ejemplo el coeficiente de transferencia del oxígeno dentro del reactor), y las

características de sedimentación de la biomasa (Metcalf y Eddy, 2003). Las bacterias aerobias usadas en los procesos por lodos activados tienen una temperatura óptima de degradación entre 20 y 25 °C.

Sedimentación. Los sólidos son separados del agua tratada. En esta etapa el tanque se encuentra en reposo, de tal manera que por diferencia de densidad de la biomasa se sedimenta y se obtiene un líquido sobrenadante.

Vaciado. En esta etapa el efluente clarificado es removido, el biorreactor solo queda con biomasa y un remanente de agua. El porcentaje de líquido drenado es conocido como volumen de intercambio.

Tiempo muerto. Este periodo es usado en sistemas multitanque, adecuando el tiempo necesario en que un reactor completa la fase de llenado para comenzar el vaciado en otra unidad. Esta fase en algunos casos puede ser omitida (Metcalf y Eddy, 2003).

2.2.3 Formación de gránulos en reactores SBR

La granulación es un proceso de inmovilización celular, involucra acciones biológicas, físicas y químicas. Los gránulos se forman por la autoinmovilización de densos paquetes de microorganismos. Estos microorganismos juegan diferentes funciones al momento de la degradación de la materia orgánica, compuestos químicos, y de nutrientes como nitrógeno y fósforo (Tay *et al.*, 2009).

El lodo granular se caracteriza porque es: de compacta estructura, tiene una amplia variedad de especies microbianas, posee excelente capacidad de sedimentación, alta retención de biomasa, habilidad para resistir altas cargas orgánicas y tolerancia a la toxicidad (Morgenroth *et al.*, 1997; Beun *et al.*, 1999; Tay *et al.*, 2001a; Yang *et al.*, 2003; Liu y Tay, 2004; Adav *et al.*, 2007). Se han realizado estudios para proponer el mecanismo de formación de los gránulos aerobios. Beun *et al.*, (1999), basados en observaciones

microscópicas, proponen un mecanismo para la formación de gránulos en un reactor aerobio sin la presencia de algún material de soporte, este mecanismo es esquematizado en la figura 2.2

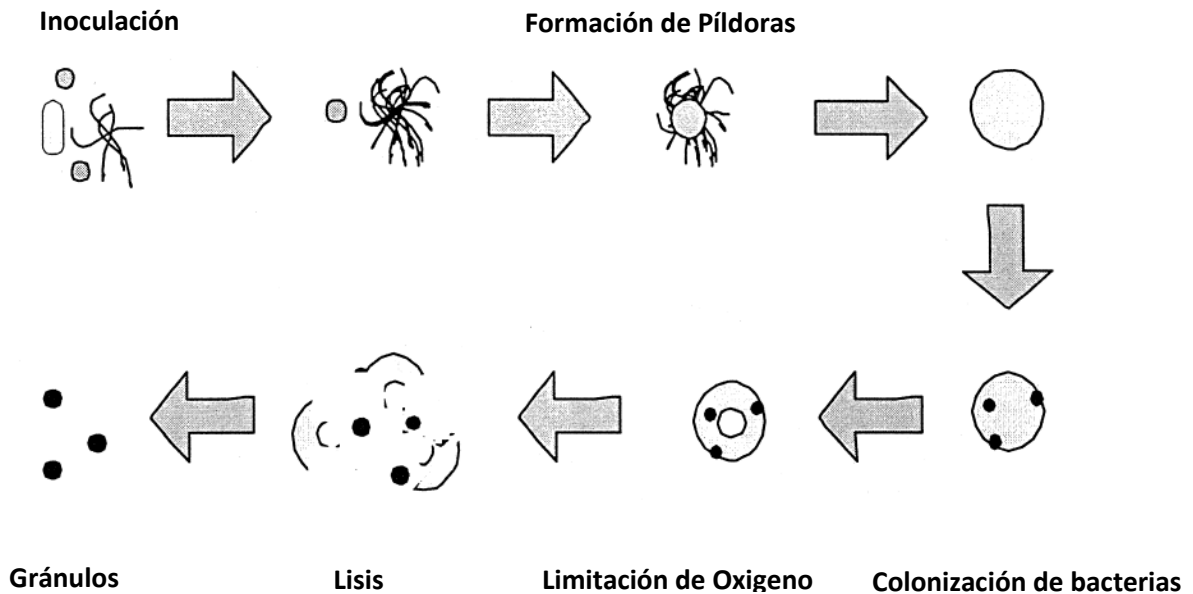


Figura 2.2 Mecanismo propuesto de granulación después de la puesta en marcha de un SBR con un corto tiempo de sedimentación (Beun *et al.*, 1999).

Estos autores estudiaron el efecto de diferentes condiciones de operación de un reactor discontinuo secuencial, para la formación de gránulos aerobios. El tiempo de sedimentación fue el principal parámetro de selección de biomasa con buena sedimentación. Encontraron que un corto tiempo de TRH y la aplicación de altas fuerzas de corte favorecen el proceso de granulación. En la puesta en marcha del reactor SBR, la biomasa consistía principalmente en píldoras en forma de micelas filamentosas. Las píldoras crecieron hasta un diámetro de 5-6 mm, después se lisaron, probablemente por el oxígeno limitante en la parte interior. Las píldoras micelares parecen funcionar como una matriz inmovilizada en la cual las bacterias pueden crecer en colonias. Cuando estas se rompen debido a la lisis, las colonias bacterianas son liberadas y se dispersan en forma de gránulos (Beun *et al.*, 1999). Weber *et al.*, (2007) estudiaron la estructura y formación de diferentes tipos de gránulos aerobios, siguieron el proceso mediante microscopio óptico y por microscopio electrónico de barrido (SEM sus

siglas en inglés). Este análisis reveló la importancia de la interacción entre protozoarios y bacterias durante la granulación aerobia, la cual se dividió en 3 fases:

- **Fase 1:** Los protozoos ciliados se asentaron sobre los flóculos y después de unos días formaron colonias, la superficie de los flóculos fue cubierta por varios cientos de células ciliadas.
- **Fase 2.** Se observaron flóculos condensados y un enorme crecimiento de células ciliadas. Formación de bastones o “columna vertebral” para el desarrollo de los gránulos, ya que son utilizados por las bacterias como sustrato de fijación y crecimiento.
- **Fase 3.** Los zooides (cuerpos celulares) de los ciliados fueron cubiertos por bacterias en una biopelícula en expansión. El que ocurra la granulación por ciliados u hongos dependerá de la abundancia de los mismos. El tamaño, la compactación, la sedimentabilidad y la composición microbiana de los gránulos, dependerá del tipo de agua residual y la operación del reactor.

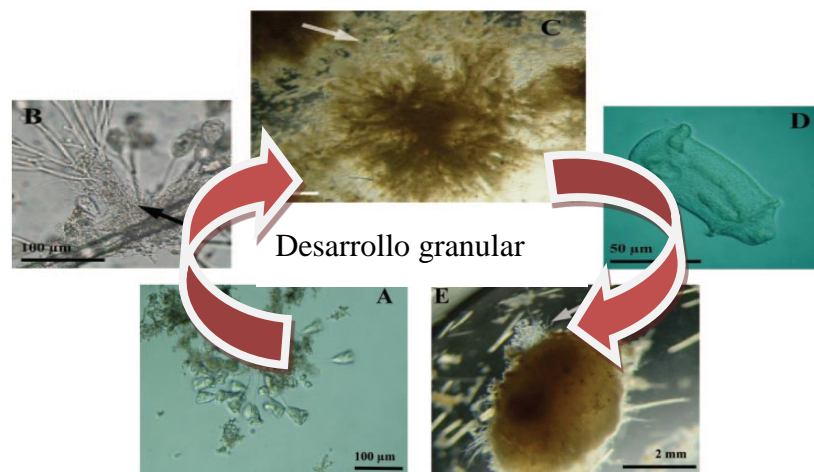


Figura 2.3 Desarrollo de gránulos mediante ciliados.

A) Fase 1, formación de flóculos. Ciliados sedimentados junto con otros organismos y partículas. B). Crecimiento de ciliados (p. ej. *Epistylis sp.*) las flechas indican el inicio de la colonización por bacterias. C) Fase 2, crecimiento del gránulo y desarrollo de la zona

central. La flecha marca zooides translucidos de la colonia de ciliados y los restos celulares de los ciliados actúan como “columna vertebral”. D) Fase 3. Gránulo “maduro”. Gránulos compactos se han formado, los cuales pueden servir como sustrato de fijación para ciliados. E) Asentamiento de colonias de ciliados en la superficie del gránulo. Modificado de Weber *et al.*, 2007.

Liu y Tay (2002) proponen las posibles fuerzas que influyen en la formación de gránulos aerobios:

- Contacto microbio a microbio por fuerzas hidrodinámicas, difusión, gravedad y/o fuerzas termodinámicas.
- Atracción inicial para la formación de agregados por métodos físicoquímicos (Van der Waals, cargas positivas, fuerzas termodinámicas), químicas (enlaces iónicos, puente entre partículas) o bioquímicos (unión de la membrana celular, atracción de receptores celulares, superficie deshidratación celular).
- Fuerzas microbianas para la formación de agregados, un agrupamiento por medio de un pegamento biológico celular y secreción de sustancias poliméricas extracelulares (EPS por sus siglas en ingles).
- Fuerzas de corte hidrodinámico para la estabilización de la estructura tridimensional de los gránulos.

Los gránulos aerobios se cultivan con éxito en reactores SBR, aunque se ha reportado su formación en reactores de flujo continuo. No obstante la información acerca de su formación en sistemas continuos es muy limitada (Kishida *et al.*; 2010).

2.2.4 Factores que afectan la formación y estabilidad de los gránulos aerobios

La granulación aerobia es afectada por parámetros operacionales, tales como: el inóculo, la composición del sustrato, la carga orgánica, el diseño del reactor, el tiempo de sedimentación, y la relación de intercambio e intensidad de aireación (Tay *et al.*, 2008). Los gránulos aerobios han sido cultivados en varios tipos de sustratos: glucosa, acetato, fenol, almidón, etanol, melaza, sacarosa y otros componentes de agua sintética (Liu y Tay, 2004;

Tay *et al.*, 2002; Tay *et al.*, 2004; Zheng *et al.*, 2005, Adav *et al.*, 2007). La positiva divalencia y trivalencia iónica, de los cationes Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} y Fe^{3+} podrían enlazar la carga negativa celular para formar núcleos microbianos (Mahoney *et al.*, 1987). Jiang *et al.* (2003) demostraron que la adición de iones Ca^{2+} aceleran la granulación aerobia. Los gránulos fueron formados en 16 días cuando se agregó en el alimento 100 mg Ca^{2+} /L mientras que se requirió de 32 días para la formación de gránulos sin la adición de Ca^{2+} . El pH del medio afecta significativamente la rapidez de crecimiento microbiano. El crecimiento de hongos se propicia a bajo pH y puede contribuir al inicio de la granulación (McSwain *et al.*, 2004; Beun *et al.*, 1999; Williams y de los Reyes, 2006). Yang *et al.*, (2008) nota que la granulación aerobia a pH 4.0 en la presencia de hongos produce gránulos del tamaño de 7 mm, mientras que a pH 8.0 cuando la granulación fue controlada por bacterias la granulación tiene un tamaño de 4.8 mm. Hailei *et al.*, (2006) reportaron que una alcalinidad de pH (alrededor de 7.5) es necesaria para propiciar la granulación aerobia. El efecto de la temperatura en la alimentación y durante la operación del reactor SBR, también influye en la estabilidad de los gránulos hasta cierto grado. Hailei *et al.*, (2006) reportó que la influencia de la temperatura sobre biogranulación no es muy significativa en el rango de 29-38°C pero demasiado alta (41°C) o demasiada baja (26°C) puede conducir a un decremento en biomasa. Song *et al.*, (2009) reportaron que 30°C es la temperatura óptima para la obtención de gránulos maduros.

El periodo de aeración en un SBR consiste de 2 fases: una fase de degradación en la cual el sustrato es consumido, seguida por una fase en la cual el sustrato no está disponible (ayuno). Un largo periodo de ayuno debilita la estabilidad granular (Wang *et al.*, 2005). Wang *et al.* (2006); reportaron la influencia de un corto tiempo de ayuno sobre biomasa granular. En este estudio se cultivaron gránulos aerobios en un reactor SBR escala piloto. El reactor se operó con un tiempo de ciclo de 4 horas: llenado (5 min), sedimentación (1 min), vaciado (5 min), aeración (229 min) y un flujo de aire de 3 L/min., se utilizó como influente agua residual sintética, se manejó una relación DQO:N:P de: 0:5:1,100:0:1,100:5:0 y 100:5:1:0, respectivamente, para cada ayuno de: carbono, nitrógeno, fósforo y potasio. Se reportó la reducción del contenido de EPS del 53% y 65% en el ayuno de carbono y potasio, respectivamente, indicando que bajo ausencia de carbono y potasio, los gránulos aerobios

prefieren metabolizar EPS para proveer energía y mantener las funciones de las células vivas. La velocidad de consumo de oxígeno (SOUR) es comúnmente utilizada para describir la actividad microbiana. El crecimiento de los gránulos aerobios fue afectado en los ayunos de carbono, nitrógeno y potasio, debido a que son elementos esenciales que participan activamente en el metabolismo energético de las células. Para la aplicación de tecnología granular a gran escala, es importante establecer las condiciones de formación de los gránulos. Hasta ahora la importancia de las siguientes condiciones a escala laboratorio han sido descritas en literatura:

- Aplicación de un régimen de abundancia/ayuno (Villaseñor *et al.*, 2001; Beun *et al.*, 2001).
- Aplicación de tiempos cortos de sedimentación (Beun *et al.*, 2000).
- Esfuerzo de corte elevado dentro del reactor durante la etapa de aeración (Beun *et al.*, 2000; Liu y Tay, 2002).

Tay *et al.* (2001); Liu y Tay (2002, 2004) encontraron que los gránulos aerobios pueden ser formados a valores superiores de un flujo aire de 1.2 cm/s. Liu y Tay (2004) obtuvieron gránulos compactos y de forma esférica regular, utilizando una alta fuerza de corte, alrededor de 2.5 cm/s. Liu *et al.* (2003) correlacionan la superficie celular hidrofóbica y la formación de gránulos heterótrofos y nitrificantes. La hidrofobicidad de los gránulos fue dos veces mayor que la de un flóculo convencional. La superficie hidrofóbica aumenta al incrementar la fuerza de corte (Liu *et al.*, 2003).

En el caso del tiempo sedimentación, se ha observado que un corto tiempo, propicia la selección de la biomasa con una alta velocidad de sedimentación, reteniendo únicamente la biomasa granular (Qin *et al.*, 2004). Las EPS son productos metabólicos acumulados sobre la superficie de las células bacterianas, las cuales pueden alterar ciertas características físico-químicas de la superficie celular tales como la carga, hidrofobicidad y otras propiedades (Adav *et al.*, 2008). Estas sustancias son cruciales en la construcción y en el mantenimiento de la integridad estructural de los gránulos aerobios a través de la cohesión y la adhesión de células microbianas. (Morgan *et al.*, 1990; Lopes *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2006; Hwang *et al.*,

2006). Los microorganismos expuestos a altas fuerzas de corte se adhieren secretando EPS para resistir el daño por fuerzas del ambiente (Trinet et al., 1991).

Adav *et al.* (2007) mostraron los efectos de la intensidad de aireación en la formación de los gránulos y contenido de EPS en tres reactores SBR. Identificando que los EPS están constituidos por proteínas, polisacáridos, ácidos húmicos y lípidos. El experimento consistió en aplicar una velocidad de aeración de 1L/min, 3L/min y 2L/min respectivamente, obteniendo que la fuerza de corte hidrodinámico intermedia acelera la formación de gránulos y se realiza una sobreproducción de proteínas en el centro del gránulo.

2.2.5 Formación de gránulos aerobios en agua residual

Recientemente se ha reportado el cultivo de lodo granular en agua residual municipal en reactores SBR, utilizando un pulso de alimentación anaerobio sin presencia de un sistema de agitación, seguida de una etapa aerobia de Kreuk y van Loosdrecht, (2004,2006).

Bensheng Su *et al.* (2012) reportaron un óptimo cultivo de gránulos aerobios en agua residual alternando condiciones anaerobio/aerobio en un reactor SBR. El volumen del reactor fue de 85 L, en la puesta en marcha se inoculó con una alta concentración de sólidos suspendidos totales 20 g/L, aplicando un flujo de aire en el fondo del reactor de 50 L/min. La estrategia de operación consistió: etapa de llenado y vaciado de 10 a 5 minutos, la etapa anaerobia, aerobia y tiempo de sedimentación fueron cambiando gradualmente acorde a la longitud del ciclo. Se obtuvieron gránulos estables después de 45 días de operación, se obtuvieron remociones del 92% de la DQO, 81% del nitrógeno total y 85% de fósforo total.

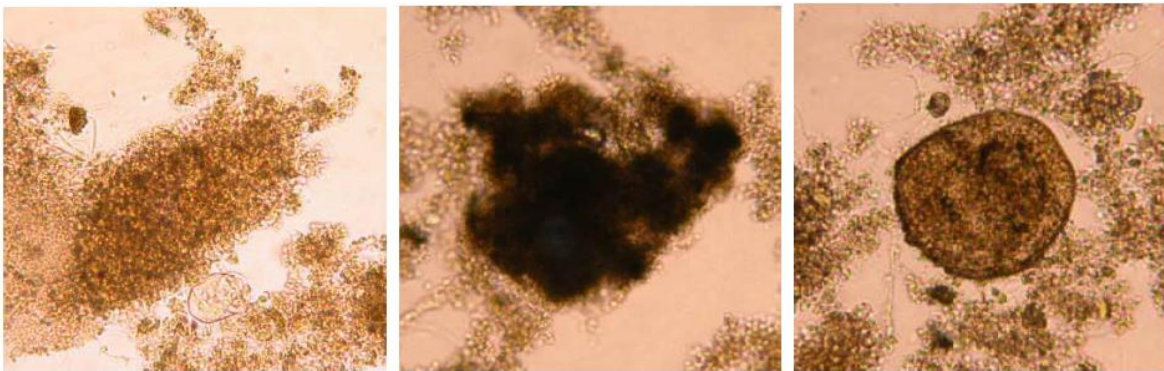
De Kreuk *et al.*, 2006 estudiaron la granulación utilizando como influente agua residual doméstica. Después de 36 días de la puesta en marcha del reactor SBR, se obtuvo biomasa granular de un diámetro promedio de 1.1 mm., y un IVL de 38 mL/g SST. En la operación del reactor se disminuyó el tiempo de ciclo de 3 horas a 2 horas, aumentando la concentración de DQO en el influente (300 mg/L-400 mg/L). Observaron que el proceso de granulación se favorecía al aumentar la concentración de DQO en el reactor. Encontraron que el aumento de la DQO en el influente es un factor crítico para la formación de biomasa

granular. Zhang *et al.*, (2011) reportaron las características de un biorreactor de membrana con lodo granular aerobio para el tratamiento de agua residual doméstica. Se cultivó lodo granular en agua residual, controlando factores como son: el estrés hidrodinámico y el tiempo de retención hidráulico.

Las principales ideas de este estudio fueron:

- a) Investigar el efecto del tiempo de retención hidráulica y la fuerza de corte hidráulico sobre el cultivo de lodo granular aerobio.
- b) Comparar la eficiencia de remoción de DQO, N-NH₄ y TN, de un AGSMBR (Bioreactor de membrana con lodo granular aerobio) y un MBR (Bioreactor de membrana)
- c) Investigar las características del ensuciamiento de la membrana en el AGSMBR, analizando el flux de la membrana.

El cultivo de lodo granular se llevó a cabo en un reactor SBR, la formación de los gránulos aerobios consistió en tres etapas: 1) puesta en marcha, 2) etapa de adaptación, 3) etapa de formación. En las dos primeras fases se requirió una baja concentración de lodo (1.7 g/L) y un largo tiempo de aireación (6 h), en la tercera fase se manejó un corto tiempo de sedimentación (10-15 min), en la figura. 2.4 se muestran la formación de biomasa granular.



a) Puesta en marcha (1 a 5 días) b) Adaptación (6 a 15 días) c) Formación (16 a 60 días)

Figura 2.4 Biomasa granular reportada por Zhang *et al.*, (2011)

Los resultados mostraron una operación estable, alcanzando eficiencias de remoción mayores al 80% de DQO y N-NH₄ en ambos reactores. Se obtuvo una eficiencia de remoción del TN en el AGSMBR y MBR del 80% y 35%, respectivamente. En el lodo granular coexisten zonas anóxicas y anaerobias, lo que favorece la existencia de bacterias: oxidantes de amonio, oxidantes de nitrito y desnitrificantes. Por lo tanto un sistema AGSMBR funciona de forma simultánea en la nitrificación y desnitrificación.

El reactor AGSMBR fue monitoreado 40 días con el objetivo de conocer la variación de la presión transmembranal y el flux de la membrana, en este periodo de tiempo, observaron el aumento de la presión transmembranal (5.0 kPa–25 kPa) mientras que el flux de la membrana disminuyó (30 m³/m²·h – 8 m³/m²·h). Observaron que las partículas coloidales y la materia orgánica disuelta son las principales causas de la disminución del flux de la membrana y el aumento de la presión transmembranal.

Liu *et al.*, (2011), reportaron el avance de la puesta en marcha de un reactor granular SBR alimentado con agua residual municipal. La estrategia operacional utilizada fue una combinación de un corto tiempo de sedimentación (2 min-10 min) y una relación alimento/microorganismo (F/M) de 3-4.6 g DQO/g SSV·d. Encontraron que únicamente 17 días fueron necesarios para formar lodo granular, en comparación con un periodo de tiempo de 400 días (Liu *et al.*, 2010). Después de 50 días de operación, la remoción de DQO y N-NH₄ alcanzaron un 80% y 90%, respectivamente. El reactor operó un tiempo de 260 días, la muestra de agua residual con la que se alimentó el reactor se recolectó de una planta de tratamiento, la composición fue 40% agua residual doméstica y 60% agua residual industrial, el rango de la DQO soluble y el N-NH₄ en el influente fue de 360 mg/L a 1832 mg/L, con un valor promedio de 1000 mg/L. En la figura. 2.5 se muestra la biomasa granular obtenida.

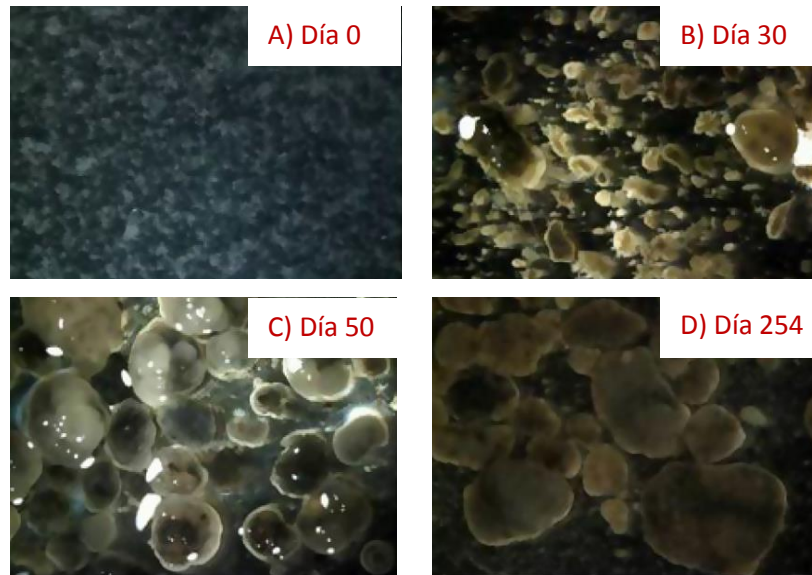


Figura 2.5 Biomasa granular formada con una baja relación de F/M: A) inoculo día 0, B) gránulos día 30, C) gránulos día 50, D) gránulos día 254. Liu *et al.*, (2011).

En este estudio se utilizó un corto tiempo de sedimentación y una alta relación F/M para obtener biomasa granular aerobia. El tamaño del lodo no tuvo cambio significativo en los primeros 13 días de operación, incrementándose de 90 a 145 μm , tamaño que es comparable con el lodo activado, de los 13 a los 17 días se obtuvo biomasa granular estable de 141 a 386 μm . Posteriormente la biomasa aumentó su tamaño hasta 1976 μm .

Su *et al.* (2005); reportaron las características y la formación de gránulos aerobios con agua residual doméstica en un reactor discontinuo secuencial, utilizando una etapa alternativa anaerobio/aerobio. En este estudio se pusieron en marcha dos reactores discontinuos secuenciales, con una alta concentración de lodo (R1, 12.3g/L) y una baja concentración de lodo (R2, 4 g/L). Un gran número de pequeñas partículas aparecieron el día 8 en el R1, documentando la formación de biomasa granular a los 60 días de operación, obteniendo partículas de un diámetro promedio de 750 μm . en contraste con el R2, en este se reporta biomasa agregada floclulenta. Su *et al.* (2005), observaron que una alta concentración de lodo favorece la formación de biomasa granular.

2.2.5 Biodegradación de aguas residuales inhibitorias por medio de biomasa granular en reactores SBR.

La aplicación de procesos biológicos para la remoción de xenobióticos es una prometedora alternativa para los procesos convencionales químico-físicos (stripping y adsorción) (Tomei *et al.*, 2008). Generalmente las técnicas de biorremediación son una mejor alternativa a los métodos fisicoquímicos, los últimos mencionados tienen un tratamiento de alto costo y posibilidades de causar una contaminación secundaria (Chan *et al.*, 2010). Algunas bacterias Gram-negativas (*Pseudomonas*, *Flavobacterium* y *Alcaligenes* spp., etc) y Gram-positivas (*Rhodococcus* y *Bacillus* spp., etc) son usadas para la biorremediación de componentes aromáticos especialmente fenoles y clorofenoles (Larkin *et al.*, 2006).

Los problemas inhibitorios asociados con altas concentraciones de compuestos fenólicos pueden resolverse por estrategias tales como la inmovilización de la biomasa (gránulos aerobios). El primer paso para la biodegradación de sustancias tóxicas es la aclimatación de los microorganismos. Este es un proceso inducido que depende fuertemente sobre la presencia o ausencia de componentes inhibitorios en el medio. Si un compuesto tóxico se encuentra presente todo el tiempo, entonces la capacidad de degradación de los microorganismos incrementa, a diferencia de una prolongada fase de ayuno de la sustancia tóxica, donde la capacidad de degradación disminuye. Altas concentraciones puntuales de compuestos inhibitorios son comúnmente encontradas en los influentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales industriales. Los incrementos repentinos de concentración de compuestos inhibitorios, se originan de operaciones industriales intermitentes, como lo es, el lavado o paro de maquinaria. Para hacer frente a estos problemas un tanque de igualación sería incluido y el volumen del reactor sería lo suficientemente grande para la dilución de componentes tóxicos (Buitrón y Moreno, 2010). Con el uso de reactores discontinuos secuenciales (SBR) los problemas antes mencionados pueden ser evitados. El lodo aerobio granular cultivado en reactores SBR muestra resultados prometedores en la degradación de compuestos fenólicos.

Adav *et al.* (2007) reportaron la biodegradación del fenol por medio de gránulos aerobios en reactores SBR, La biomasa granular aerobia formada en agua residual sintética alcanzo

degradar concentraciones entre 50-1000 mg fenol/L. Una cepa fue aislada de los gránulos aerobios cultivados, identificada como *Candida tropicalis*. La cual posee un alto potencial de degradación y una alta tolerancia al fenol. Ling Ho (2009) demuestra la biodegradación de fenol usando *Corynebacterium* sp. con una concentración 500-2500 mg/L.

Ho *et al.*, (2010) reportaron la degradación de altas concentraciones de fenol 5,000 mg/L en agua sintética, utilizando lodo granular, debido a que a concentraciones superiores a 3000 mg/L el lodo activado es inhibido, el rango de concentración fue de 500-5000 mg/L manteniendo la operación en un pH de 7 y temperatura de 30°C, reportaron la completa remoción de 5000 mg/L de fenol en 20h.

Carucci *et al.* (2009) reportaron la biodegradación del 4 CF en un reactor SBR con membrana, utilizando acetato como cosustrato en agua residual sintética, el rango de alimentación fue de 0-50 mg/L con una carga máxima de 0.20 kg/m³·d, el experimento fue dividido en fases de acuerdo a su dosificación de 4 CF, fase A cultivo de los gránulos aerobios (0 mg/L), teniendo únicamente como fuente de carbono acetato de sodio, fase B se dosificó en el influente una concentración de 50 mg/L de 4 CF, se obtuvo una eficiencia de remoción del 32% y se reportó la formación de un metabolito: 5-cloro-2-hidroximucónico semialdehído, en la fase C se removió completamente el 4 CF en el reactor y se dosificó 30 mg/L de 4 CF, en la fase D los gránulos presentaron una buena aclimatación del 4 CF, dosificando en el influente 50 mg/L, removiendo el 4 CF y el Acetato de Sodio en un rango del 99-100% en 30 días.

En otro estudio, Carucci *et al.* (2008) demostraron la degradación de 4 CF y 2,4,6 TCF en un reactor SBR conteniendo agua sintética y acetato de sodio como cosustrato. El reactor se operó a 20°C y en ciclos de 3 horas, con un flujo de intercambio volumétrico del 50%, se dividió por fases referenciadas en la dosificación del 4 CF y 2,4,6 TCF, el experimento consistió en 2 etapas, en la primera de ellas se aclimataron los gránulos con 4 CF, para su posterior dosificación de 2,4,6 TCF, la degradación 2,4,6 TCF se observó durante una larga fase de alimentación anaerobia, con la formación de 4 CF como producto intermedio, la completa remoción del TCF se llevó a cabo en la fase aerobia.

Khan *et al.* (2002) demostraron la biodegradación del 2,4 DCF por medio de gránulos aerobios en un reactor SBR, con una remoción del 96%-94%, encontrando que la velocidad de biodegradación es directamente proporcional a la concentración del sustrato. Khan *et al.* (2011) presentaron el estudio realizado en la biodegradación, toxicidad y cinética de 2,4,6 TCF, con diferentes cosustratos, acetato de sodio y glucosa, los reactores fueron operados con tres diferentes tiempos de retención hidráulica: 48, 24 y 16 h, y un porcentaje de volumen de intercambio del 50%, obteniendo una remoción del 2,4,6 TCF del 97% de R1 (cosustrato glucosa) y 95% de R2 (cosustrato acetato de sodio), los estudios espectrales mostraron que la ruta metabólica se producía 3,5 diclorocatecol como producto intermedio. Chen *et al.* (2009) mostraron el estudio sobre la biodegradación del pentaclorofenol por medio de gránulos aerobios, Yi *et al.*, (2006) realizaron un estudio demostrando la biodegradación del nitrofenol por medio de gránulos aerobios siendo estos cultivados en un reactor SBR.

3. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de picos de concentraciones puntuales de compuestos fenólicos sobre biomasa granular aerobia formada en un reactor discontinuo secuencial degradando agua residual municipal.

Objetivos particulares

- Formación de gránulos aerobios por medio de la inoculación de lodos activados en agua residual municipal en un reactor discontinuo secuencial.
- Evaluar el efecto de las variaciones de carga orgánica presentes en el agua residual municipal en la operación de un reactor SBR para la formación de biomasa granular.
- Determinar el efecto de picos de concentraciones puntuales de compuestos fenólicos sobre la biomasa granular, evaluando la actividad microbiana y el tamaño de gránulo.
- Conocer la estabilidad del proceso y la integridad de los gránulos aerobios en la operación del biorreactor a largo plazo.

4. METODOLOGÍA

4.1 Estrategia experimental

El desarrollo experimental se dividió en 2 etapas. La primera etapa consistió en el arranque del biorreactor, la formación de biomasa granular y la operación a largo plazo durante la degradación de agua residual municipal. En la segunda etapa se determinó el efecto de la presencia de compuestos fenólicos durante un ciclo de operación del reactor. La biomasa granular fue sometida a picos de concentraciones puntuales de compuestos fenólicos: fenol (25 mg/L, 75 mg/L y 250 mg/L), 4-clorofenol (4 CF, 25 mg/L) o 2,4-diclorofenol (2,4 DCF, 25 mg/L). Entre cada pico de concentración se otorgó un lapso de tiempo, hasta que el reactor operara de manera estable. Al mismo tiempo se inoculó un reactor con lodo activado, colocando la misma cantidad de biomasa que en el reactor granular. En este reactor también se evaluó la concentración puntual del compuesto fenólico.

4.2 Reactor discontinuo secuencial (SBR)

Se utilizó un reactor SBR de 7L (diámetro interno 4.7 cm, altura 1 m, diámetro 5.7 cm), con volumen útil de 6 L. El biorreactor tenía una chaqueta de 1 cm de grosor, para mantener la temperatura a 20°C dentro del reactor por medio de la recirculación de agua. Los flujos de entrada del agua residual y salida de agua tratada se realizaron mediante el uso de bombas peristálticas (Masterflex, 200 rpm). El oxígeno disuelto fue medido en línea por el medidor de la marca ENDRESS + HAUSER, la medición de aire inyectado se realizó por medio del medidor de flujo másico de aire de la marca AALBORG modelo GFC-17. En la figura 4.1 se muestra el reactor utilizado durante la etapa de experimentación.

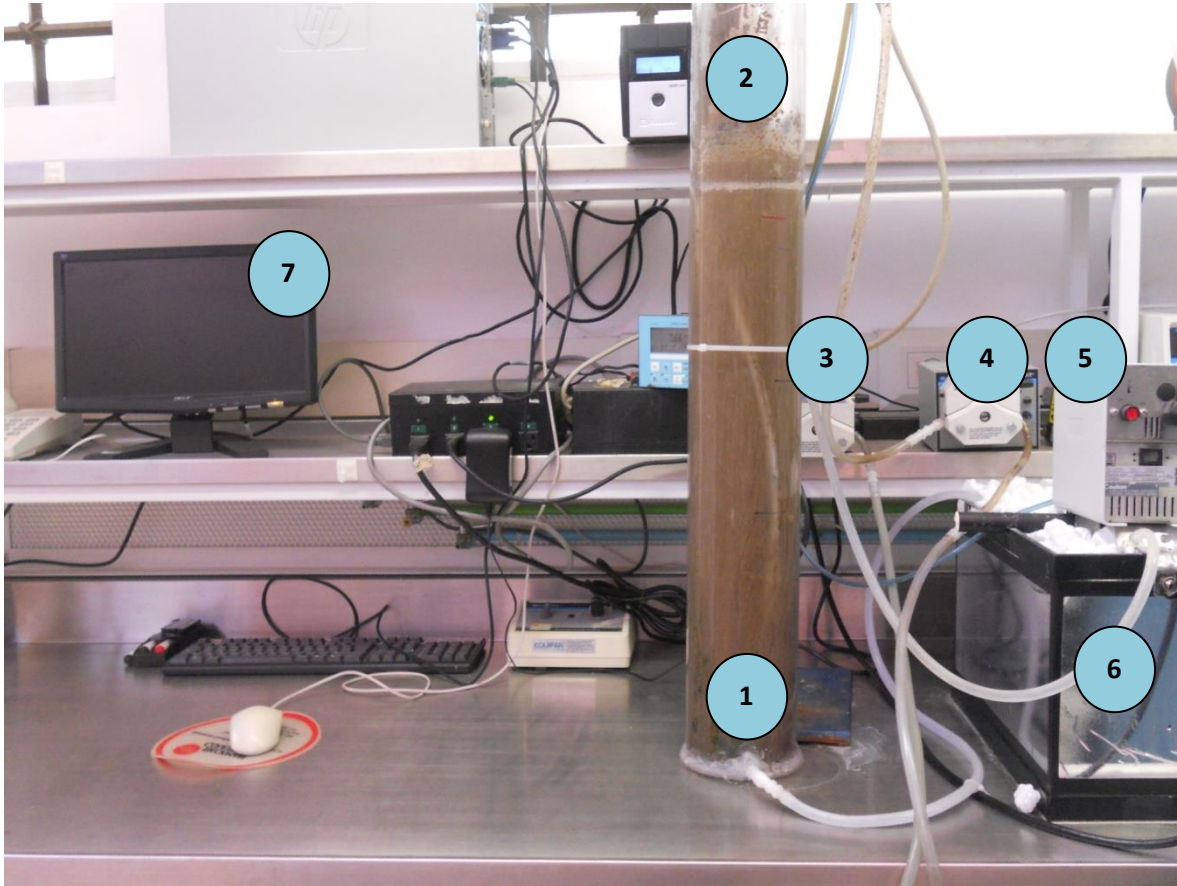


Figura 4.1 Reactor SBR automatizado: reactor (1), sensor y transmisor de oxígeno disuelto y temperatura (2), bomba de llenado (3), bomba de vaciado (4), flujo de aire (5), calentador (6), sistema de control del biorreactor (7).

4.3 Arranque del reactor

El biorreactor se inoculó con lodo activado proveniente de una planta de tratamiento de aguas residuales municipales con una concentración de sólidos suspendidos totales (SST) de 6810 mg/L y 6516 mg/L de sólidos suspendidos volátiles (SSV), los tiempos de cada etapa establecida en el reactor SBR se muestran en la tabla 4.1, en la figura 4.2 se ilustra la toma del inóculo de la planta de tratamiento, ubicada en el poblado de Santa Rosa Jaúregui, Querétaro.

Tabla 4.1 Etapas establecidas en la operación del reactor SBR

Etapas	Tiempo
Llenado	10 min
Aireación	300 - 240 min
Sedimentación	30 – 3 min
Vaciado	5 min
Volumen de intercambio	50%
Tiempo total del ciclo	355 – 250 min



Figura 4.2 Toma del inóculo proveniente de la planta de tratamientos de agua residual municipal.

Como sustrato se empleó agua residual municipal proveniente de la planta de tratamientos de aguas residuales del municipio de Santa Rosa Jaúregui. Se caracterizó el influente determinando los siguientes parámetros: demanda química de oxígeno (DQO), fósforo total (como ortofosfatos, $P-PO_4^{3-}$), nitrógeno amoniacal ($N-NH_4$), SST y pH. La toma de la muestra del influente se muestra en la figura 4.3.



Figura 4.3 Toma de la muestra de agua residual en la entrada de la planta de tratamientos de agua residual municipal.

4.4 Aclimatación y formación de biomasa granular

La aclimatación de los microorganismos se llevó a cabo por medio de la estrategia de tiempos variables y eficiencias fijas. Una vez adaptada la biomasa se reduce gradualmente el tiempo de sedimentación de 30 a 3 min. con el objetivo de ejercer una presión de selección en los microorganismos para la formación de gránulos aerobios. El tamaño del gránulo se determinó por medio del análisis por microscopía (Leica DM 500). La adquisición de imágenes se realizó por medio de la cámara Leica ICC50 (Leica Microsystems). La medición de las imágenes se realizó utilizando el software Axiovision 4.8 (Carl Zeiss).

4.5 Variaciones de picos de concentración de compuestos fenólicos

La biomasa granular fue sometida a concentraciones puntuales de compuestos fenólicos, en la tabla 4.2 se muestra la concentración de cada compuesto utilizado. Entre cada pico de concentración se dio un lapso de tiempo hasta que el reactor operara de manera estable (se obtuvieron valores constantes de: CI, IVL y VS). Al mismo tiempo se inoculó un reactor con lodo activado, colocando la misma cantidad de biomasa en ambos reactores. En el reactor de lodo activado también se evaluó la concentración puntual del compuesto fenólico.

Tabla 4.2 Compuestos fenólicos

Compuesto	Concentración
Fenol	25 mg/L
	75 mg/L
	250 mg/L
4 CF	30 mg/L
2,4 DCF	25 mg/L
2,4,6 TCF	40 mg/L

Se siguió la cinética de degradación del F, 4 CF, 2,4 DCF, 2,4,6 TCF, se realizó una comparación en ambos reactores, evaluando la eficiencia de degradación del compuesto fenólico y la materia orgánica.

4.6 Métodos analíticos

Técnica de fenoles totales: Para la medición de compuestos fenólicos presentes en el reactor se utilizó la técnica colorimétrica usando 4-aminoantipirina (APHA, 1992). La muestra fue preservada adicionando 20 μL de una solución de ácido fosfórico (1:20), disminuyendo con ello el pH. Los compuestos fenólicos reaccionan con la 4-aminoantipirina a un pH de 7.9 ± 0.1 en presencia de un medio alcalino para formar un complejo de color que va del amarillo al naranja, la absorbancia es determinada en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 500 nm.

Demanda química de oxígeno (DQO): Las muestras se filtraron con filtros de microfibras de vidrio (glass microfibre) GFA (Whatman, diámetro de poro de 2.5 μm). Posteriormente fueron procesadas de acuerdo con las técnicas de HACH, Micrométodo para determinación de DQO (1500 ppm high range y 150 ppm low range).

Nitrógeno amoniacal: La muestra se tomó directamente de la alimentación y se analizó de acuerdo a la metodología HACH por el método Nessler (N-NH_4 de 0 a 2.50mg/L).

Nitrato alto rango (N- NO_3 -HR): La muestra se filtró con filtros de microfibras de vidrio (glass microfibre) GFA (Whatman, diámetro de poro de 2.5 μm) y se analizó de acuerdo a la metodología HACH, utilizando como reactivo NitraVer V para la determinación de nitrato de alto rango por el método de reducción de Cadmio (0-30mg/L de N- NO_3).

Nitrito de alto rango (N- NO_2 -HR): La muestra se filtró con filtros de microfibras de vidrio (glass microfibre) GFA (Whatman, diámetro de poro de 2.5 μm) y se analizó de acuerdo a la metodología HACH, utilizando como reactivo NitraVer 2 para la determinación de nitrito de alto rango (0-30mg/L de N- NO_2).

Sólidos Suspendidos Volátiles y Sólidos Suspendidos Totales (SSV y SST): Los sólidos suspendidos volátiles y totales (SSV y SST) se determinaron de acuerdo a APHA (1992) por métodos gravimétricos.

Índice Volumétrico de Lodos (IVL): El IVL es una prueba que evalúa la capacidad de sedimentación o compactación del lodo. El índice volumétrico de lodos; se define como el volumen que ocupa un gramo de sólidos en suspensión del licor mezclado (SST), expresado en peso seco, después de sedimentar durante 30 min en una probeta graduada de 1000 mL, sus unidades son en mL/g SST (Ramalho, 1996). El IVL se determinó de acuerdo a Standard Methods (1992).

Velocidad de Sedimentación (VS): Indica la velocidad con la que sedimenta un lodo, expresado como m/h. La velocidad de sedimentación se determinó de acuerdo a APHA (1992). Para obtener el valor de VS se emplearon los datos obtenidos del IVL con la fórmula siguiente:

$$VS = \left(\frac{m}{At} \right) (0.6)$$

Velocidad de Sedimentación

Donde m es la pendiente máxima obtenida en el experimento de IVL (cm^3/min), At es el área transversal de la probeta (cm^2) obtenida por $\pi \times r^2$, 0.6 es el factor de conversión de tiempo y volumen (conversión de min a h y cm a m, 60 min/1 h y 1 m/100 cm).

Coefficiente de integridad de los gránulos: Se determinó con base en la técnica descrita por Grangrekar et al. (1996). Se tomó 25 ml de una muestra simple de lodo y se diluyó 10 veces, la muestra se llevó a un volumen de 150 mL, posteriormente se colocó en un agitador de plataforma a 200 rpm durante 5 minutos, después de este periodo de tiempo la muestra se agitó y se colocó en una probeta, se obtuvo el peso seco de lodo granular sedimentado en un tiempo de 1 minuto, el peso se expresó en porcentaje.

Respirometría: Con el fin de conocer la evolución de la actividad respirométrica, se midió la tasa específica de consumo de oxígeno (TECO) por medio de un reactor de 160 mL al cual se agregaron 10 mL de los microorganismos del SBR.

Una solución saturada de oxígeno con nutrientes y sustrato se añadió y se realizó un monitoreo de la cantidad de oxígeno disuelto en el reactor durante 15 minutos. La TECO se determinó por medio de una pendiente obtenida al graficar la concentración de oxígeno en función del tiempo y se dividió por la concentración de SSV.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Granulación de la biomasa a partir de un agua residual municipal

Se muestreó agua residual de la entrada de la planta de tratamiento municipal para alimentar el reactor (un lote de 40 L, dos veces por semana). El agua residual se mantuvo a una temperatura de 3°C hasta su alimentación al reactor. Se caracterizó la DQO, nitrógeno amoniacal, fósforo, SST y pH, obteniendo los datos que se presentan en la tabla 5.1.

Tabla 5.1 Caracterización del agua residual municipal

Parámetros	Intervalo	Promedio ± D.S.
DQO (mg/L)	790 - 1500	1242 ± 200
Fósforo (mg/L)	7.2 - 18.2	13.8 ± 3.5
NH ₄ -N (mg/L)	31.5 - 52.5	42.2 ± 0.1
pH	7.3 - 7.7	7.4 ± 0.2
SST (mg/L)	180 - 360	303 ± 0.1

En la Figura 5.1 se muestran las variaciones de carga orgánica del agua residual durante la operación del reactor SBR. La línea punteada muestra la carga orgánica de 2 kg/m³·d, se ha reportado que utilizando agua residual como sustrato, la carga orgánica es un parámetro crítico (De Kreuk *et al.*, 2006), cargas mayores o iguales a 2 kg/m³·d en este tipo de influente, favorecen el proceso de granulación (Tay *et al.*, 2004).

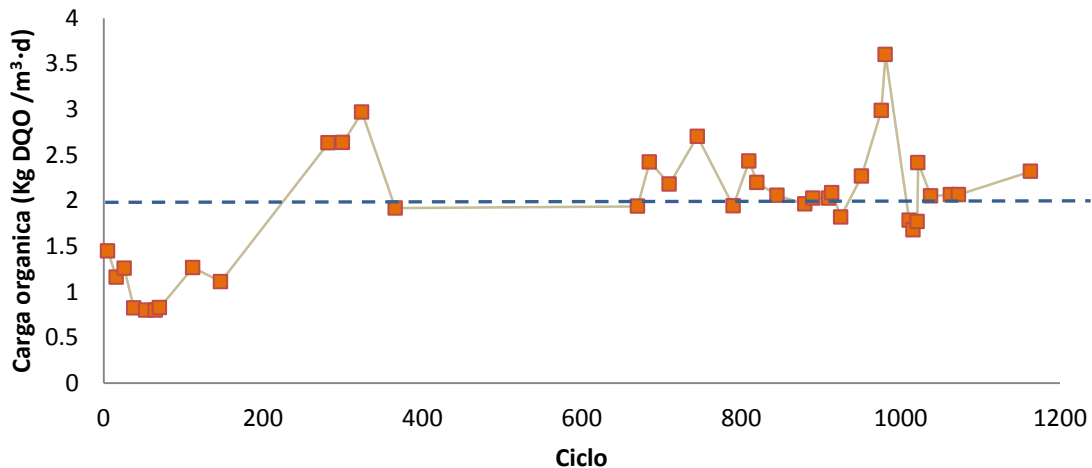


Figura 5.1 Variaciones de carga orgánica.

5.2 Biodegradación utilizando agua residual municipal

En la figura 5.2 se muestran las eficiencias de remoción de materia orgánica (como DQO), N-NH₄ y fósforo. El reactor SBR operó un total de 215 días (1178 ciclos). Durante los ciclos 38-70 se observó una disminución en la remoción de materia orgánica, hasta en un 69%, esto se atribuye a un decremento de la carga orgánica (0.8 kg DQO/m³·d). En general la eficiencia de degradación durante la operación del reactor se mantuvo estable, obteniendo un promedio de remoción de DQO, N-NH₄ y fósforo, de 82%, 94% y 36%, respectivamente. Estos valores se pueden comparar con los reportados por Ni *et al.*, (2009); documentaron la formación de biomasa granular aerobia en agua residual municipal, con una baja concentración de materia orgánica (95-200 mg DQO/L), la remoción de materia orgánica y nitrógeno amoniacal varió entre 85-95% y 90-99%, respectivamente. de Kreuk y Loosdrecht (2006) observaron la degradación de agua residual municipal por medio de gránulos aerobios cultivados en agua residual municipal, obteniendo un 11% de remoción de nitrógeno y 0.11 mg de fósforo liberado por cada mg de DQO alimentado. La remoción de la DQO fue del 49% debido a que en este estudio solo se buscó la formación de gránulos y no la optimización de la remoción de nutrientes y/o materia orgánica.

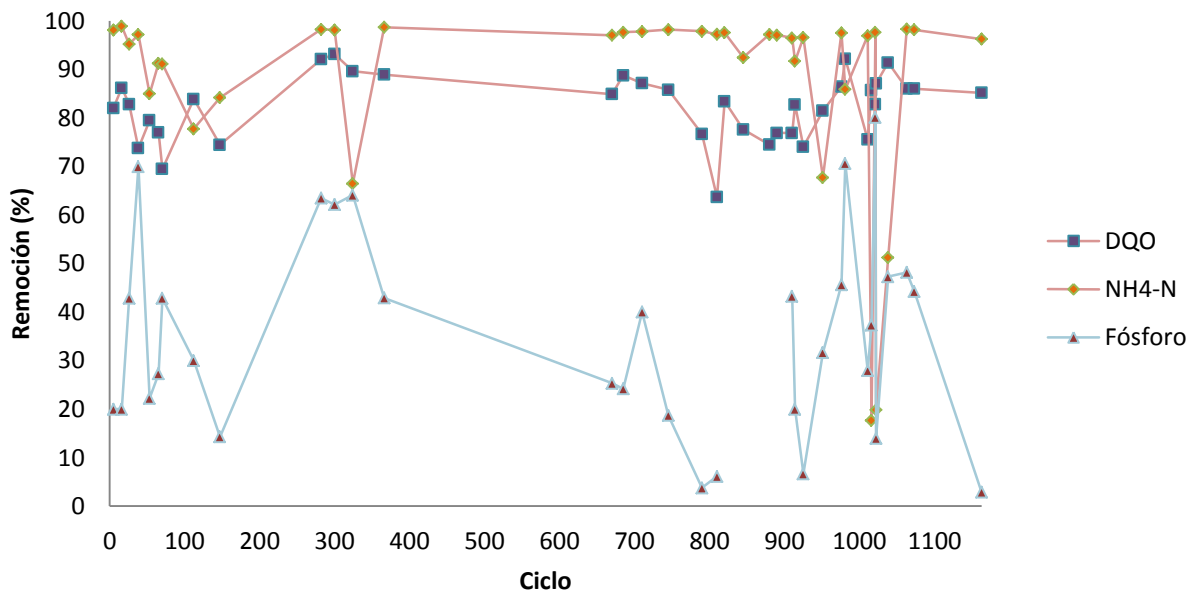


Figura 5.2 Porcentaje de remoción de materia orgánica, nitrógeno amoniacal y fósforo.

En la figura 5.3 se muestra el comportamiento del IVL y la VS. Durante la operación del reactor el IVL disminuyó de 241 a 28 mL/g SST. Estos valores concuerdan con los valores reportados por de Kreuk y Loosdrecht (2004); obtuvieron un IVL de 38 mL/g SST para la biomasa granular utilizando agua residual doméstica. Así mismo, Su *et al.*,(2012) estudiaron la obtención de biomasa granular utilizando agua residual municipal, obteniendo un IVL de 20 a 35 mL/g SST.

La velocidad de sedimentación de la biomasa suspendida determina la eficiencia de separación sólido-líquido. La velocidad de sedimentación aumentó de 0.21 m/h a 6.36 m/h debido a la formación de biomasa granular, mejorando la separación de biomasa-efluente en el sistema. Una velocidad de sedimentación alta aumenta la capacidad de retención de biomasa en el reactor y subsecuentemente mejora la capacidad de degradación orgánica (Tay *et al.*, 2008). En figura 5.4 se muestra los SST y SSV durante la operación del reactor. El promedio de los SST y SSV presentes en el reactor fue de 2781 mg/L y 2325 mg/L, respectivamente.

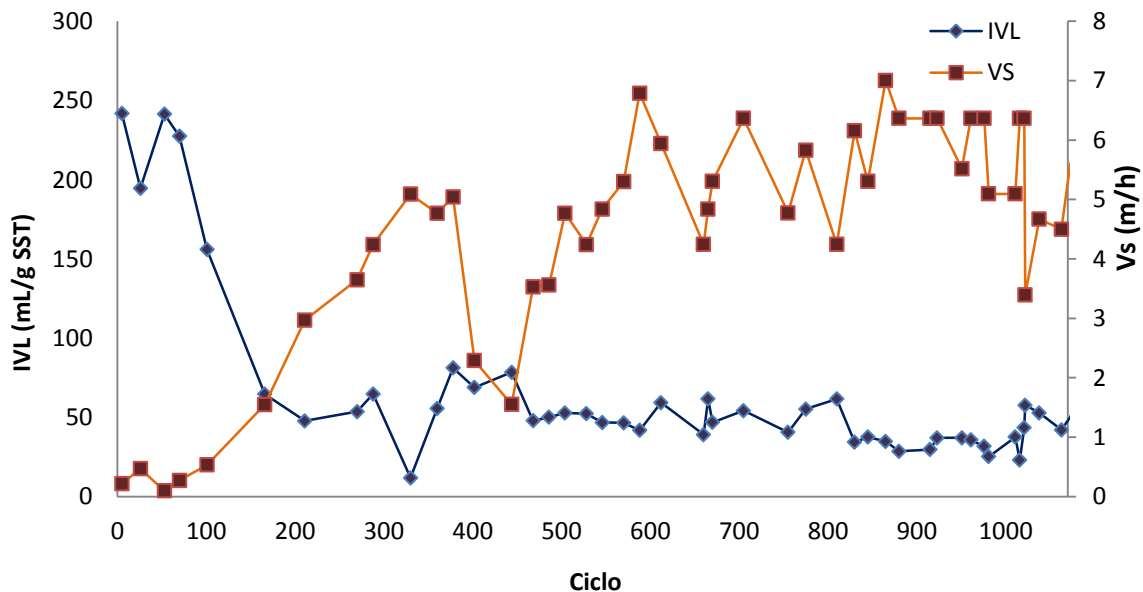


Figura 5.3 El IVL y VS durante la operación del reactor SBR.

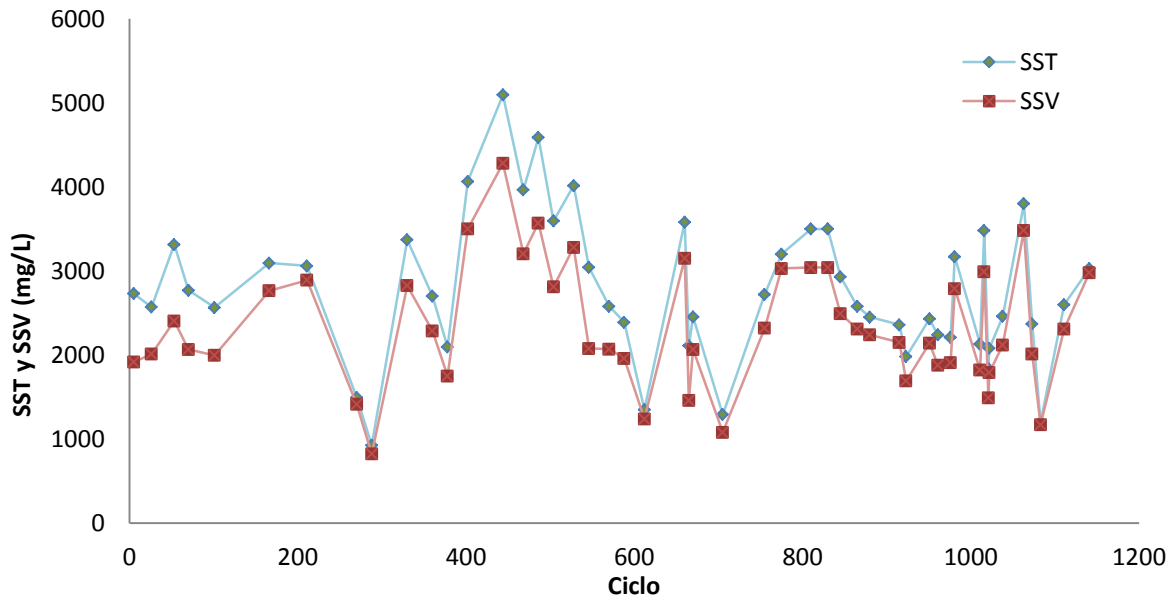


Figura 5.4 Los SST y SSV durante la operación del reactor SBR.

Después de 55 días (330 ciclos) de cultivo en agua residual municipal se obtuvo biomasa granular de 0.40 ± 0.01 mm de diámetro, con un coeficiente de integridad del 79%. Ni *et al.*, (2009) reportaron la obtención de predominante biomasa granular (aprox. 85%) en agua residual municipal, en 300 días de operación de un reactor SBR. En la figura 5.5 se muestra la biomasa granular obtenida en agua residual municipal. Después de 24 días (144 ciclos) de operación, se observó pequeños gránulos con un diámetro promedio de 0.19 mm (figura 5.5B), posteriormente el diámetro promedio incremento lentamente (figura 5.5C y figura 5.5D), en el día 146 (ciclo 730) los gránulos aerobios tenían un diámetro alrededor de 0.4 mm (figura 5.5E), después los gránulos mantuvieron su crecimiento con un diámetro que variaba entre 0.2 mm-0.4 mm (figura 5.5F). Se observó que aplicando cargas orgánicas mayores a $2 \text{ kg DQO/m}^3 \cdot \text{d}$ es posible que se lleve a cabo la granulación. Tal como lo muestran los estudio de Tay *et al.*, (2004) y de Kreuk *et al.*, (2006) reportaron que la cantidad de carga orgánica es un factor crítico para la formación de biomasa granular para este tipo de influente (figura 5.1).

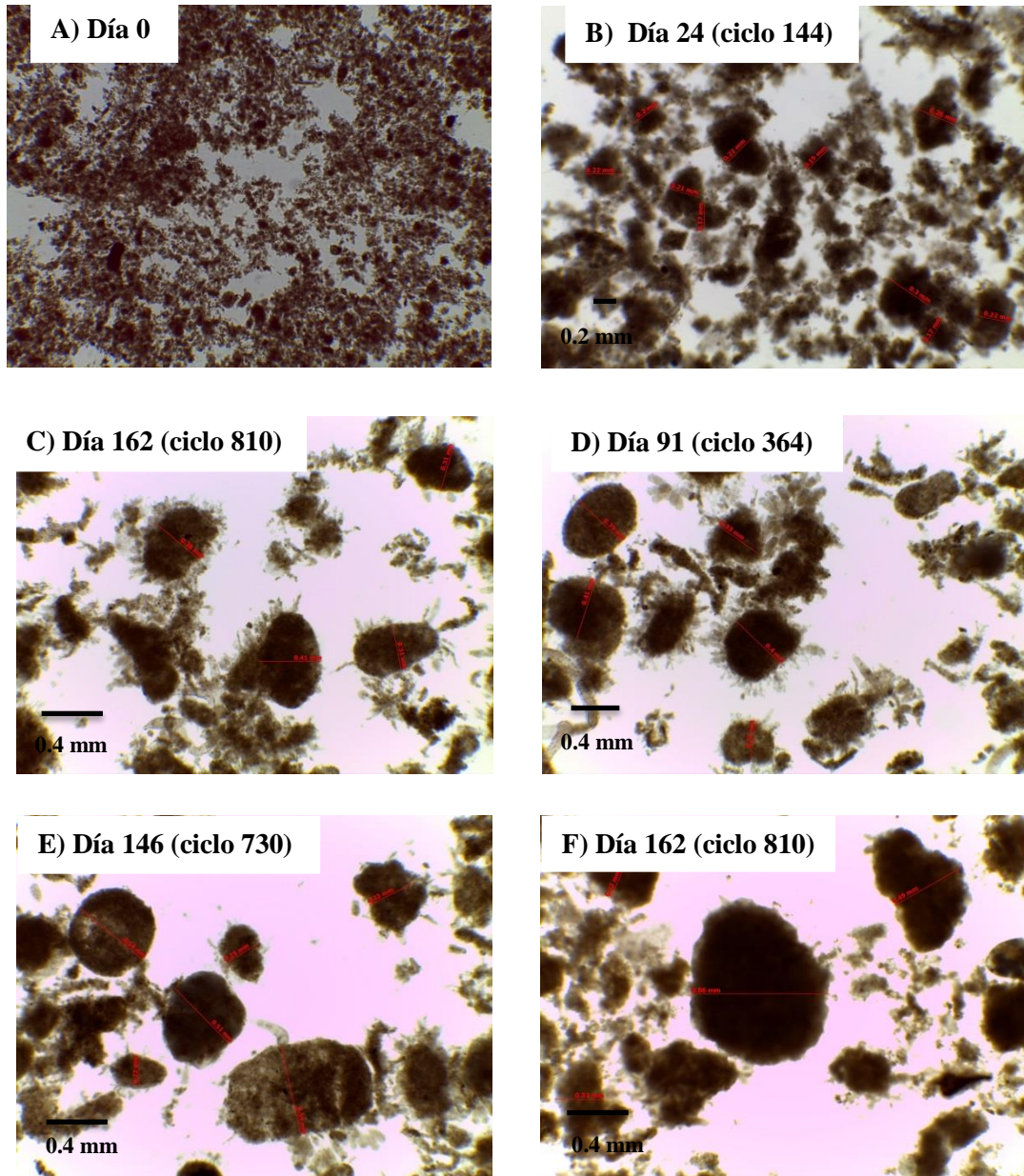


Figura 5.5 Biomasa granular cultivada en agua residual: A) inoculo, B) Biomasa en el día 24, C) biomasa en el día 162, D) biomasa en el día 91, E) biomasa en el día 146, F) biomasa en el día 162.

El tamaño de los gránulos obtenidos en el reactor es comparable con los gránulos aerobios cultivados en agua residual municipal obtenidos por Liu *et al.*, (2010) donde se reporta un diámetro promedio de 200 μ m. Por otra parte, Ni *et al.*, (2009) reportaron la obtención de biomasa granular utilizando una baja concentración de materia orgánica de agua residual (200 mg DQO/L) obteniendo un tamaño promedio de gránulo de 0.212 mm. Se ha reportado

biomasa granular de mayor tamaño. Su *et al.*,(2012) reportaron la obtención de biomasa granular después de 60 días de cultivo en agua residual doméstica, con un diámetro promedio de 0.75 mm, utilizando una etapa anaerobia para promover la formación de biomasa granular. El tamaño de biomasa granular tuvo variaciones a lo largo del proceso, debido a las variaciones de materia orgánica presentes en el agua residual. En la figura 5.6 se presenta el tamaño de la biomasa (promedio, valores mínimos y máximos).

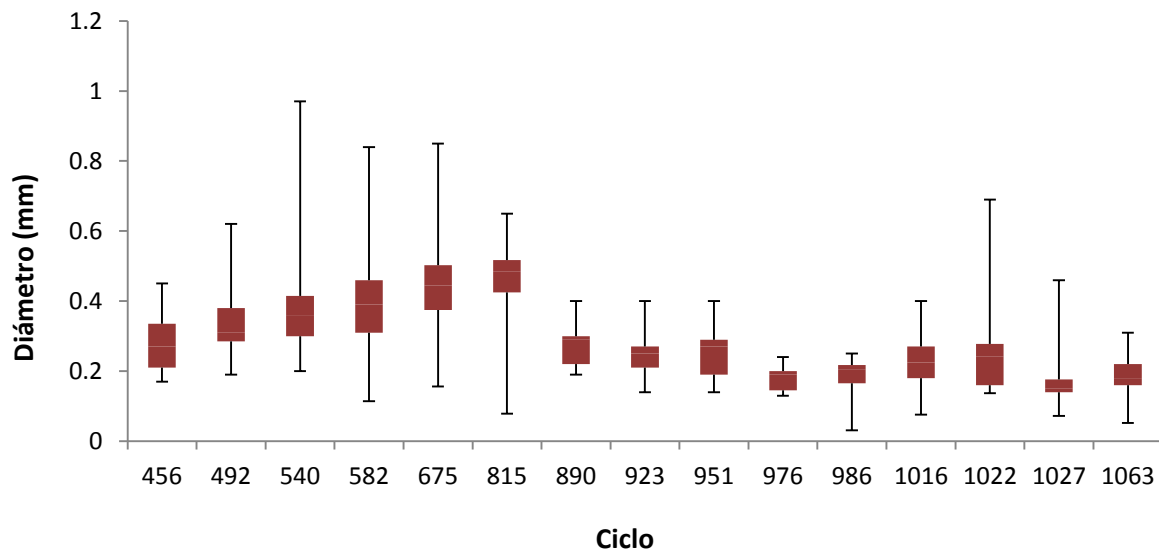


Figura 5.6 Tamaño de la biomasa (promedio, la barra muestra los valores mínimos y máximos)

En la figura 5.7 se muestra la gráfica del coeficiente de integridad durante la operación del biorreactor. Después de someter una muestra de lodo granular a un estrés mecánico, el porcentaje de agregación de biomasa se expresa como coeficiente de integridad (Ghangrekar *et al.*, 1996). Durante la puesta en marcha del reactor SBR se observó un aumento en el coeficiente de integridad del ciclo 70 al 378, debido a la formación de lodo granular, alcanzando un CI del 79%. La variación del CI durante la estabilización del reactor se debió a la variación de carga orgánica (figura 5.1), en esta etapa se alcanzó un CI del 86%. Los resultados muestran la relación entre lodo activado y biomasa granular de acuerdo al CI evaluado.

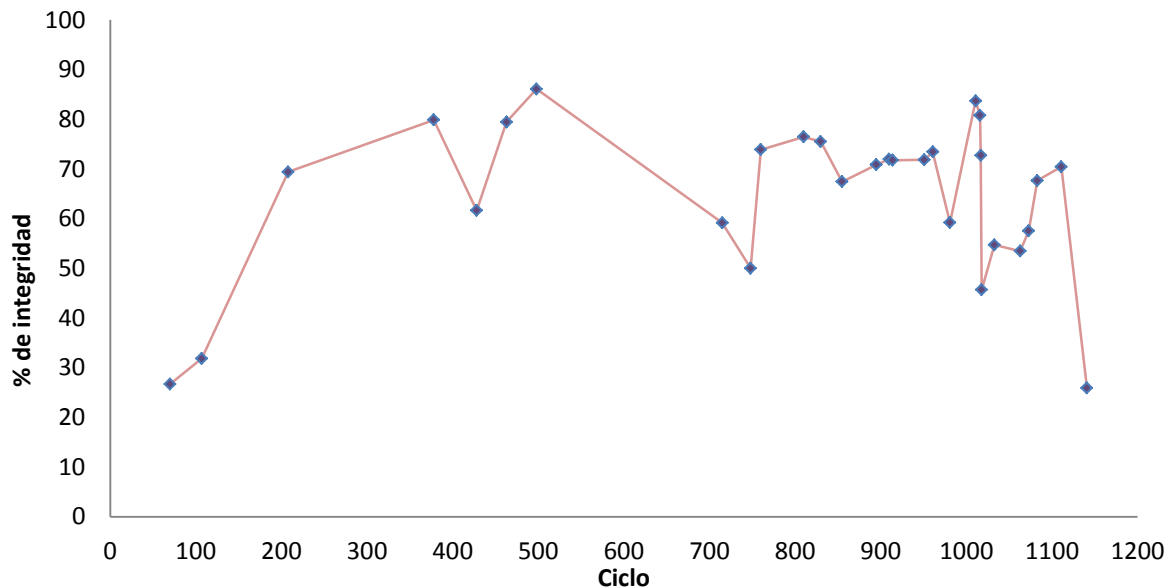


Figura 5.7 Porcentaje de integridad a lo largo de la operación del reactor.

5.3 Efecto de compuestos fenólicos (F, 4CF, 2,4 DCF y 2,4,6 TCF)

Después del ciclo de operación 915, se iniciaron los experimentos para determinar el efecto de la presencia de picos de concentración de compuestos fenólicos, con el objetivo de conocer el comportamiento de biomasa granular en comparación con un proceso de lodos activados. En la tabla 4.2 (capítulo de metodología) se muestra el compuesto y la concentración utilizada.

5.4 Operación del reactor durante los picos de concentración de compuestos fenólicos

En la figura 5.8 se presentan las eficiencias de remoción de los nutrientes presentes en el agua residual durante cada pico de concentración del compuesto fenólico. Las líneas punteadas muestran el ciclo de exposición de la biomasa al pico de concentración. La remoción de materia orgánica, durante la adición de los picos de concentración alcanzó valores superiores al 80%. En este estudio se demostró que concentraciones de 25 mg F/L no afectan la actividad nitrificante de los gránulos aerobios cultivados en agua residual municipal, alcanzando eficiencias de remoción de $N-NH_4$ del 91%. Sin embargo a

concentraciones de 75 mg F/L se obtuvieron eficiencias de remoción de N-NH₄ del 67%. Liu *et al.*, (2005) reportaron la influencia de fenol sobre la actividad nitrificante de gránulos aerobios cultivados en agua residual sintética, documentando que concentraciones de 15 mg F/L o superiores causan cierta pérdida de actividad de bacterias nitrificantes. Se observó en los compuesto fenólicos clorados una mayor inhibición de la actividad nitrificante. En la adición de 30 mg 4 CF/L y 25 mg 2,4 DCF/L, la remoción de nitrógeno amoniacal se redujo hasta un 17% y 19%, respectivamente. La agregación de biomasa probablemente puede proteger a las bacterias nitrificantes y a las bacterias acumuladoras de fósforo de los efectos negativos de los compuestos tóxicos (Liu *et al.*, 2005).

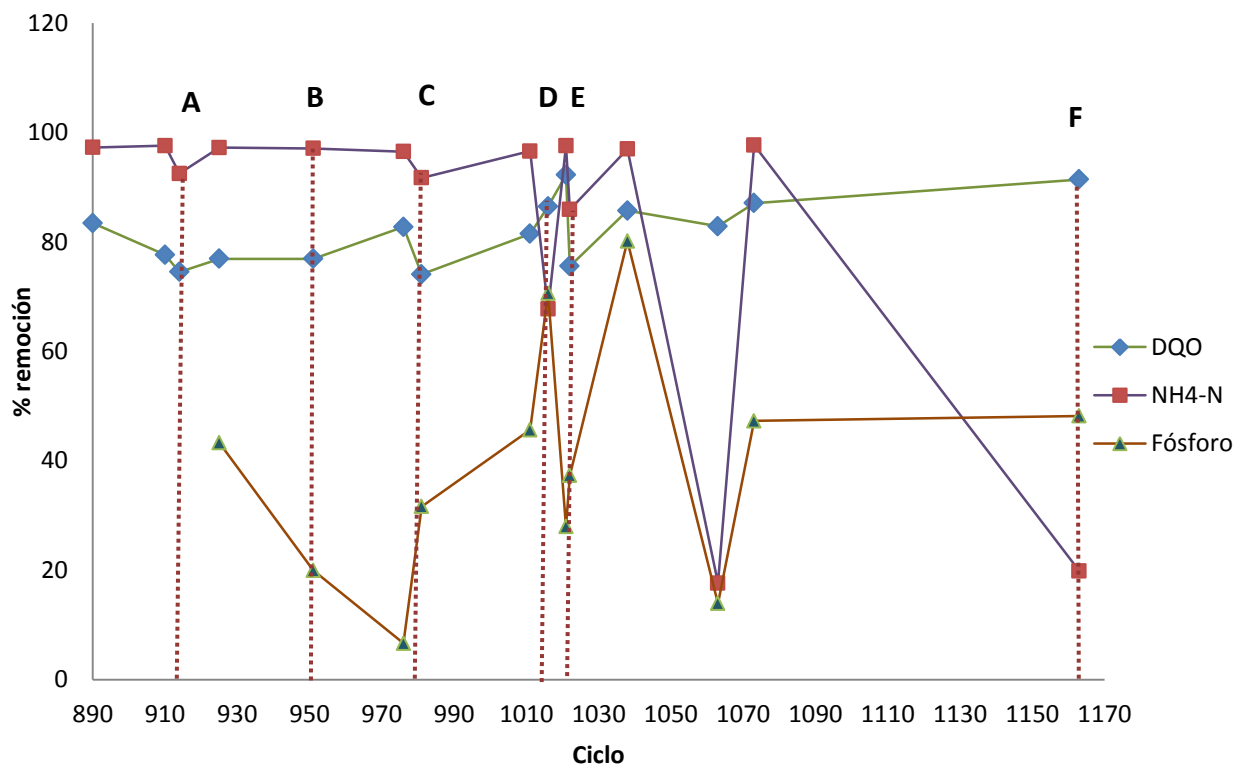


Figura 5.8 Porcentaje de remoción de nutrientes en cada pico de concentración de compuesto fenólico. (A) 25 mg F/L, (B) 75 mgF/L, (C) 250 mg F/L, (D) 30 mg 4 CF/L, (E) 25 mg 2,4, DCF/L, (F) 40 mg 2,4,6 TCF/L.

En la figura 5.9 se muestra el comportamiento del IVL y la velocidad de sedimentación. En la adición de 25, 75 y 250 mg F/L se obtuvieron valores de IVL de 29, 37 y 25 mL/g SST. Se observó que durante la adición de F el IVL se mantuvo estable. La velocidad de sedimentación en los picos de concentración de 75 mg F/L y 250 mgF/L se redujo a 5.51 y

5.03 m/h, respectivamente. En el caso de los compuestos fenólicos clorados se observó un mayor efecto inhibitorio. En la adición de 30 mg 4 CF/L, 25 mg 2,4 DCF/L y 40 mg 2,4,6 TCF/L se obtuvieron valores de IVL de 22, 57 y 79 mL/g SST, respectivamente. Ante el efecto inhibitorio de los compuestos fenólicos clorados se observó la pérdida de integridad de los gránulos aerobios y el aumento de biomasa floculenta. La VS fue un parámetro clave para conocer el tiempo de sedimentación de los gránulos aerobios. Demostrando que valores de 30 mg 4CF/L no afectan la integridad del gránulo (6.36 m/h), en el caso de 25 mg 2,4 DCF/L y 40 mg 2,4,6 TCF/L se obtuvieron valores de 3.39 y 1.91 m/h.

En la figura 5.10 se muestra el comportamiento del coeficiente de integridad durante la adición de cada pico de concentración del compuesto fenólico. En la adición de 25 mg F/L y 75 mg F/L, se mantuvo la integridad de la biomasa en un 71%. En el pico de concentración de 250 mg F/L disminuyó el CI en un 59%. La mayor pérdida de integridad de los gránulos aerobios se observó en la adición de 25 mg 2,4 DCF/L. y 40 mg 2,4,6 TCF/L, disminuyendo el CI en un 45% y 25%, respectivamente.

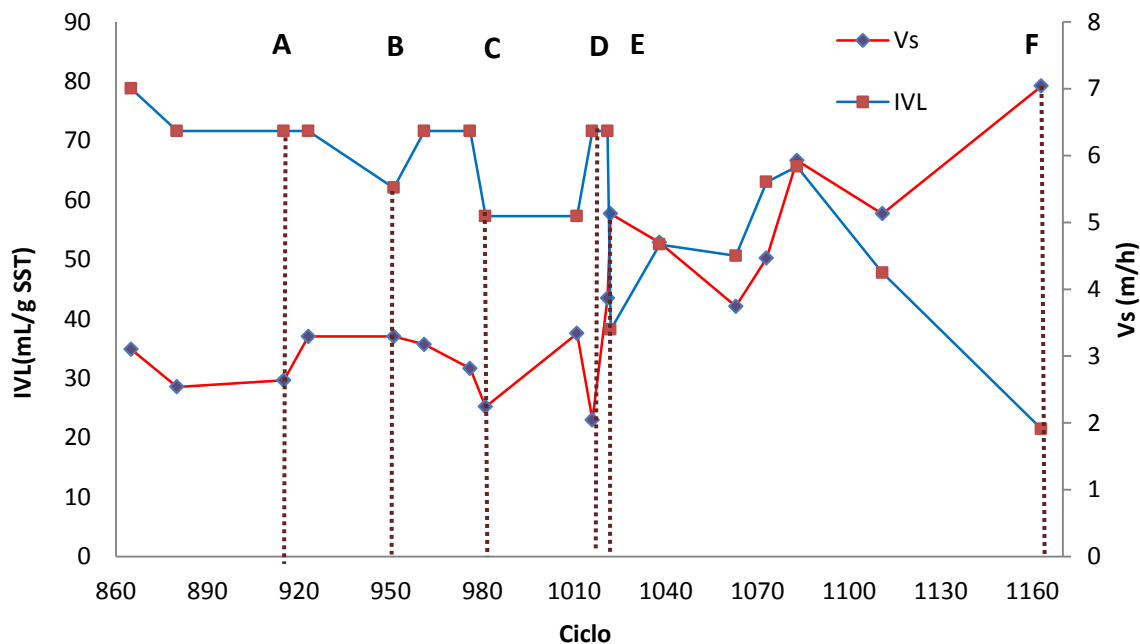


Figura 5.9 IVL y VS en el reactor durante cada pico de concentración del compuesto fenólico. (A) 25 mg F/L, (B) 75 mg F/L, (C) 250 mg F/L, (D) 30 mg 4 CF/L, (E) 25 mg 2,4, DCF/L, (F) 40 mg 2,4,6 TCF/L.

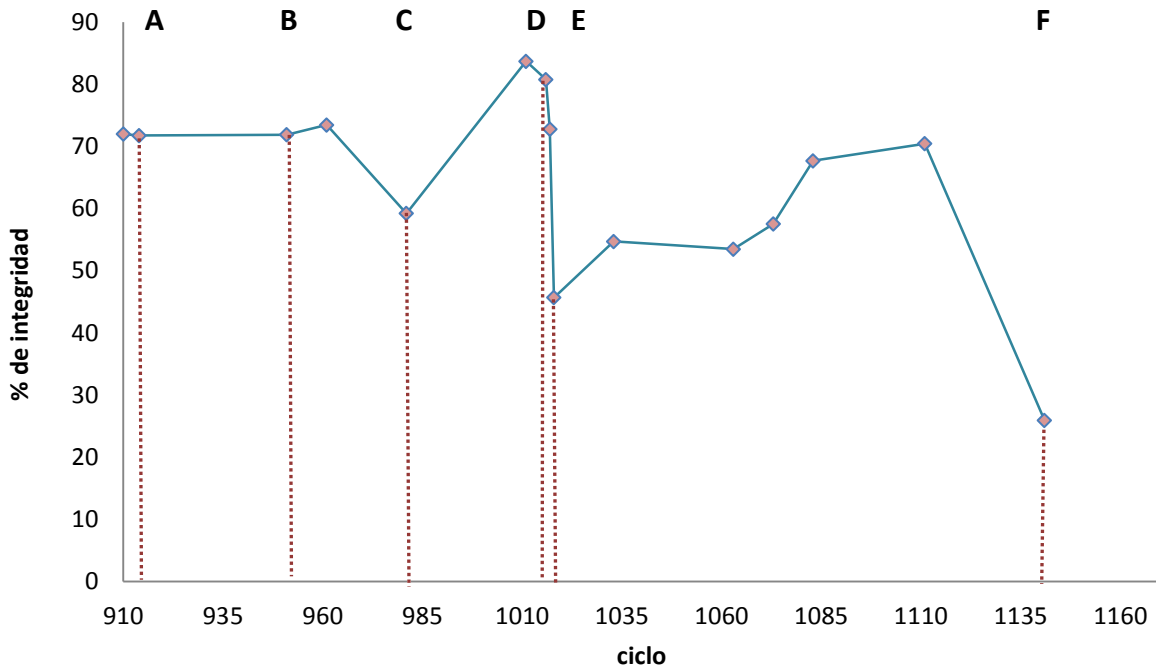


Figura 5.10 Coeficiente de integridad durante cada pico de concentración del compuesto fenólico. (A) 25 mg F/L, (B) 75 mg F/L, (C) 250 mg F/L, (D) 30 mg 4 CF/L, (E) 25 mg 2,4 DCF/L, (F) 40 mg 2,4,6 TCF/L.

La biomasa granular demostró soportar concentraciones puntuales de compuestos fenólicos. La disgregación de la biomasa se observó en menor o mayor medida en cada adición del compuesto fenólico, siendo mayor en el 2,4 TCF. En la figura 5.11 se muestra el tamaño de la biomasa granular, durante cada pico de concentración del compuesto fenólico. De manera particular, en el ciclo 895 se observó una disminución del tamaño del gránulo (0.26 mm), atribuido a dos factores que influyeron en la disgregación puntual de la biomasa; la descalibración del medidor de flujo de aire, con lo cual el suministro de aire disminuyó en un 20% durante una semana y un desajuste en las bombas peristálticas de alimentación y de salida debido al cambio de mangueras. El pico de 40 mg 2,4,6 TCF/L provocó que el CI de la biomasa granular se redujera en un 75%, el diámetro disminuyó a 0.17 mm.

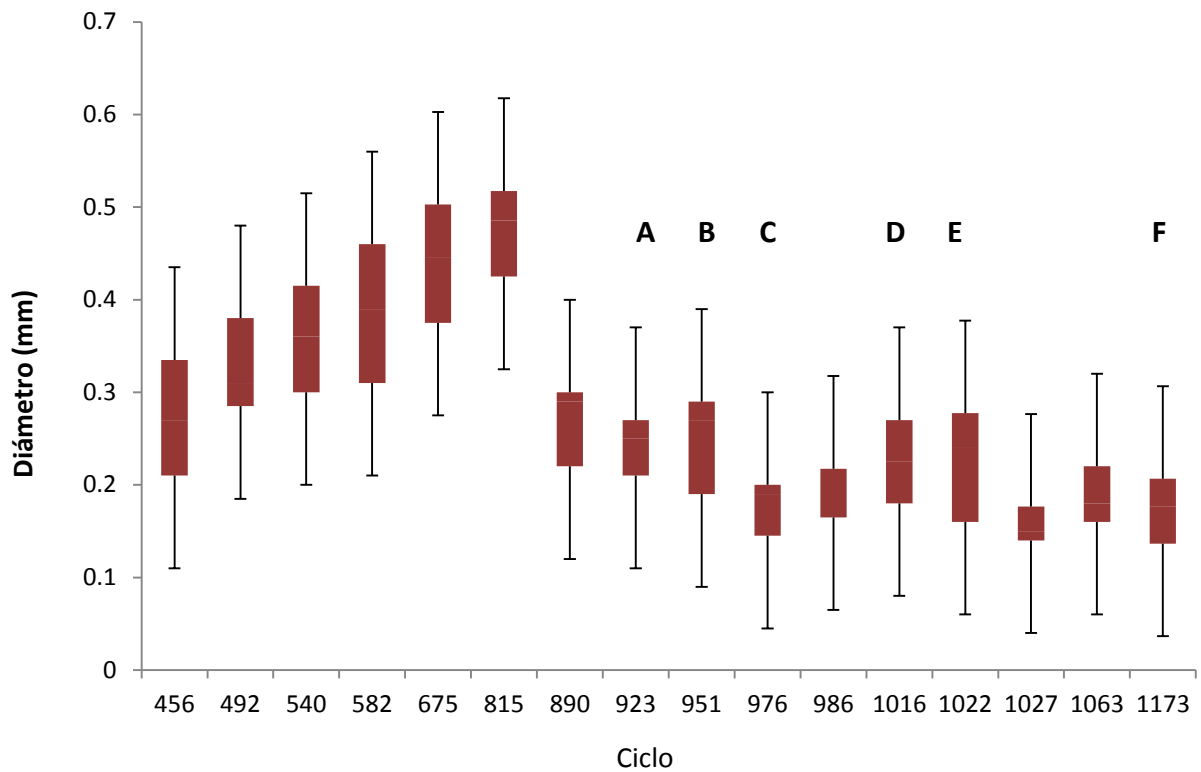


Figura 5.11 Tamaño de gránulo (promedio, la barra muestra los valores máximos y mínimos). (A) 25 mg F/L, (B) 75 mg F/L, (C) 250 mg F/L, (D) 30 mg 4 CF/L, (E) 25 mg 2,4, DCF/L, (F) 40 mg 2,4,6 TCF/L.

En la figura 5.12 se muestran las imágenes de lodo granular, se obtuvo una eficiencia de remoción del 90% del compuesto fenólico y una remoción de materia orgánica del 85%. Se observó que a medida que aumenta el número de sustituyentes Cl en el anillo fenólico, aumenta el efecto de disgregación del gránulo.

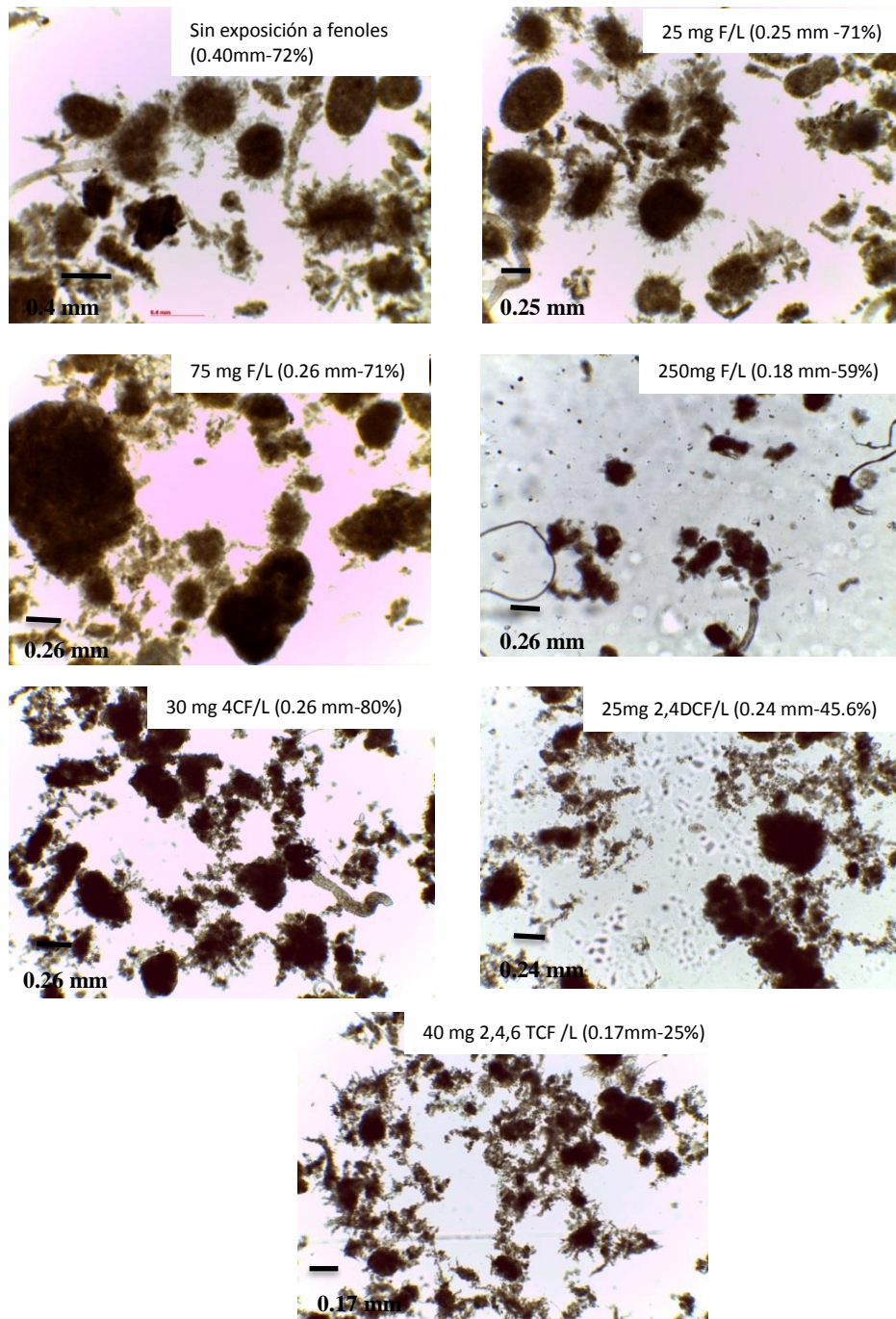


Figura 5.12 Biomasa granular expuesta a picos de concentración de compuestos fenólicos. Entre paréntesis se muestra el diámetro y el CI (mm-%, respectivamente).

5.5 Seguimiento de remoción de compuestos fenólicos y materia orgánica.

Se siguió la remoción de los compuestos fenólicos en cada pico de concentración en el reactor con biomasa granular, comparando la remoción de compuestos fenólicos con el reactor de lodos activados (obtenida de la planta de Sta. Rosa Jaúregui, Qro.), con el fin de determinar el efecto del pico de concentración en ambas biomasas (lodos activados y granular). La figura 5.13 muestra el seguimiento de remoción de 25 mg F/L. Se observó que en los primeros 90 min de reacción se removió el 95% de fenol en el reactor de biomasa granular, obteniendo en 4 horas una eficiencia de remoción del 98% de fenol. En el reactor de lodos activados se obtuvo una eficiencia del 66%. La tasa específica de degradación (q) fue mayor en el reactor de biomasa granular (15.3 mg F/g SSV·h), en comparación con el reactor de lodos activados (4.05 mg F/g SSV·h). Buitrón y González, (1996) reportaron la degradación de 25 mg F/L de una mezcla de compuestos fenólicos, por medio de lodos activados en un tiempo de 10 horas. Liu *et al.*(2005) reportaron el efecto inhibitorio de concentraciones puntuales de F, documentaron la degradación de 20 mg F/L por medio de gránulos aerobios sin previa exposición, cultivados en agua residual sintética, el tiempo de reacción fue de 8 h.

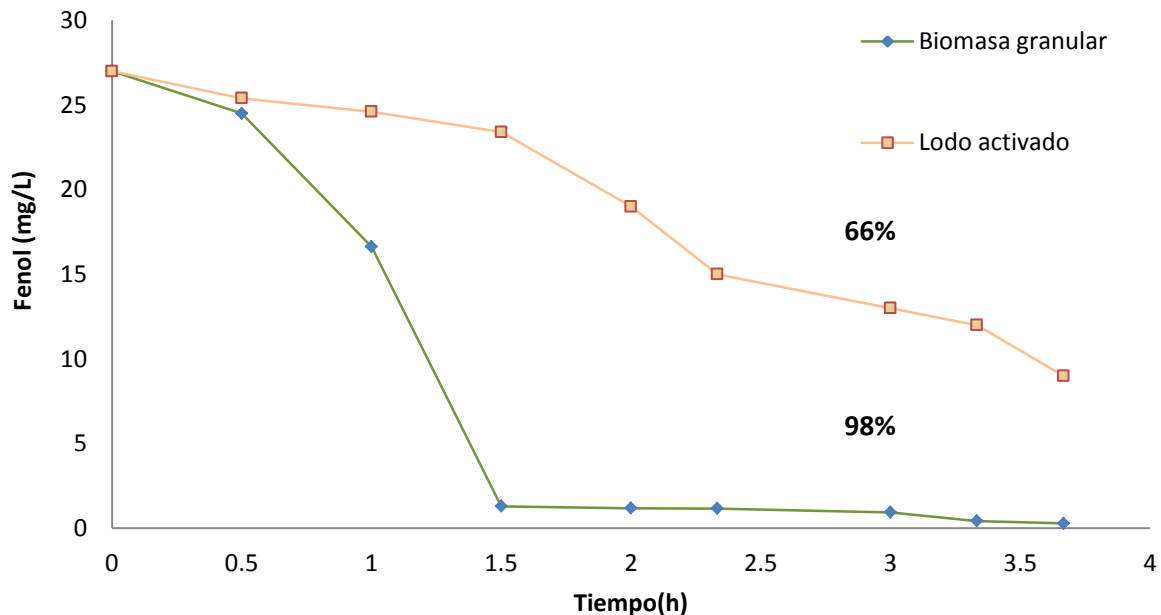


Figura 5.13 Remoción de 25 mg/L de fenol

En la figura 5.14 se muestra el seguimiento de remoción de 75 mg F/L. En el reactor de biomasa granular se obtuvo una eficiencia del 99%, en un tiempo de 4 h y una q de 16.7 mg F/g SSV·h. En el reactor de lodos activados se alcanzó una eficiencia del 54% y una q de 8.3 mg F/g SSV· h. En la figura 5.15 se muestra el seguimiento de remoción de la materia orgánica presente en ambos reactores, se obtuvo una remoción del 39% en el reactor de lodos activados, en el reactor con biomasa granular se alcanzó una remoción de materia orgánica del 81%.

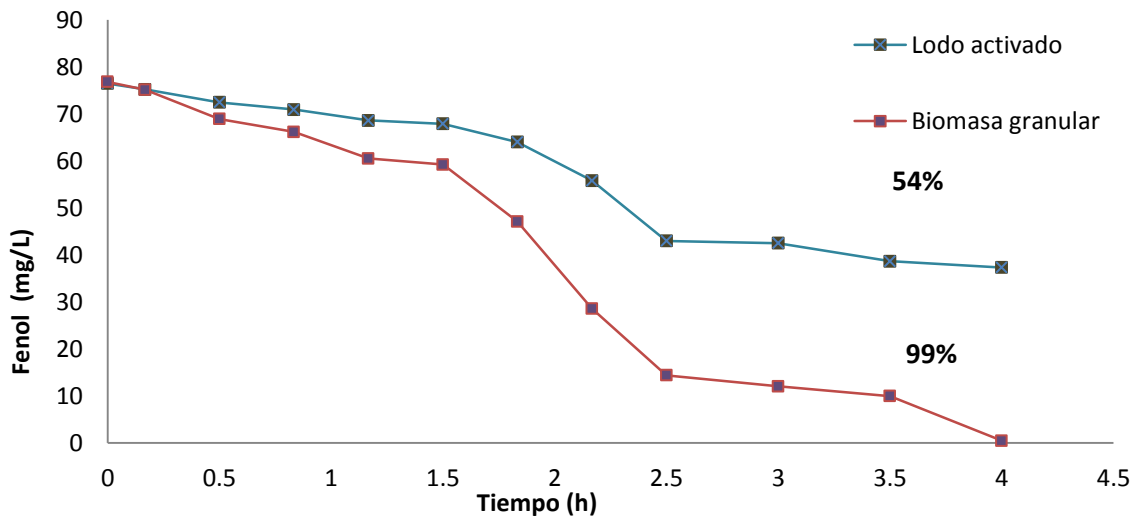


Figura 5.14 Remoción de 75 mg/L de fenol

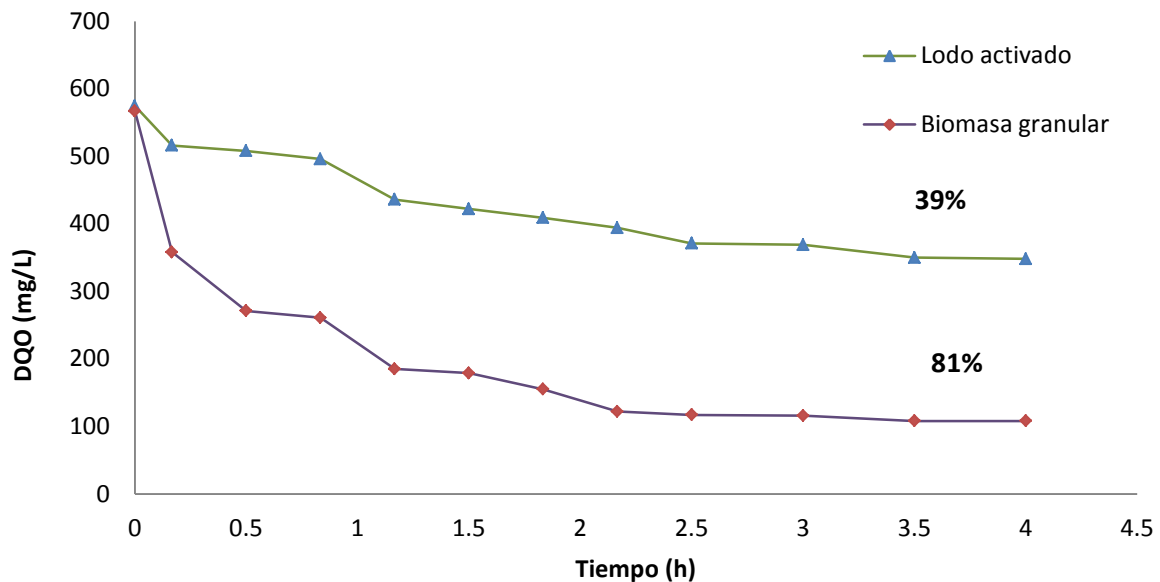


Figura 5.15 Remoción de materia orgánica.

En la figura 5.16 se presenta la remoción de 250 mg/L de F. Se obtuvo una eficiencia de remoción en el reactor de lodos activados del 17% y una q de 5.3 mg F/ g SSV·h. En el reactor de biomasa granular la remoción de F fue del 99%, la q obtenida fue de 9.1 mg F/g SSV ·h. y el tiempo de reacción fue de 8 h. Se observó que el aumento de la concentración de F, elevó la inactividad de los microorganismos aerobios, amortiguando este efecto con el aumento del tiempo de reacción. Si el aumento es lento y adecuadamente controlado se puede adaptar el proceso a concentraciones sorprendentemente elevadas de sustancias tóxicas (Fernández et al., 2002).

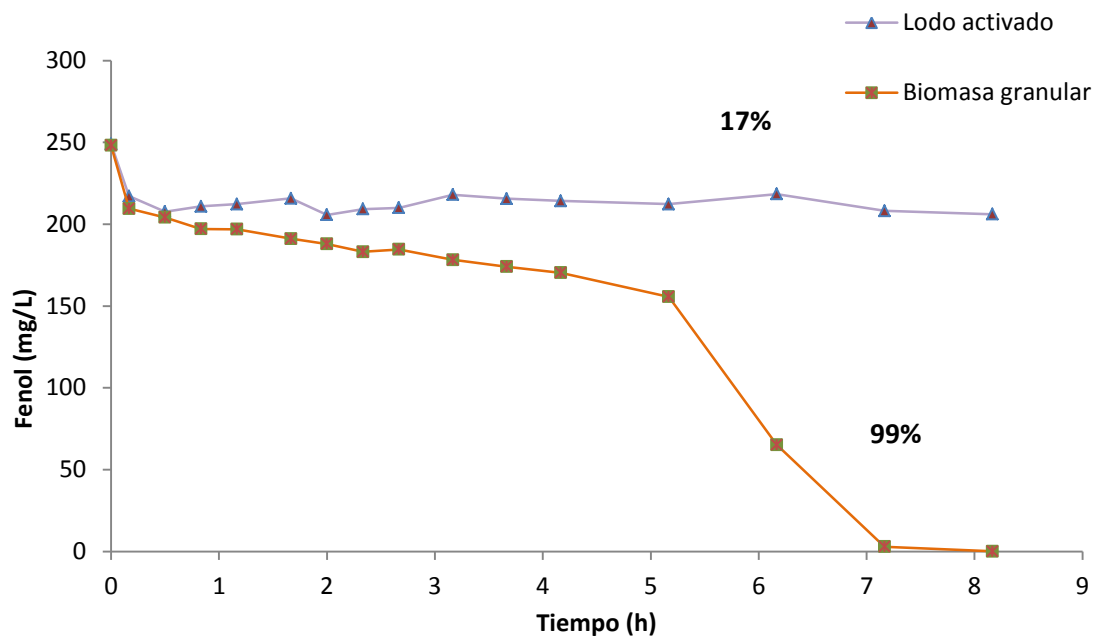


Figura 5.16 Remoción de 250 mg fenol/L

En la figura 5.17 se muestra el seguimiento de remoción de la materia orgánica en el reactor de lodos activados y en el reactor de biomasa granular. La materia orgánica fue removida en el reactor de biomasa granular, alcanzando una eficiencia de remoción del 99% y en el reactor de lodos activados fue del 70%.

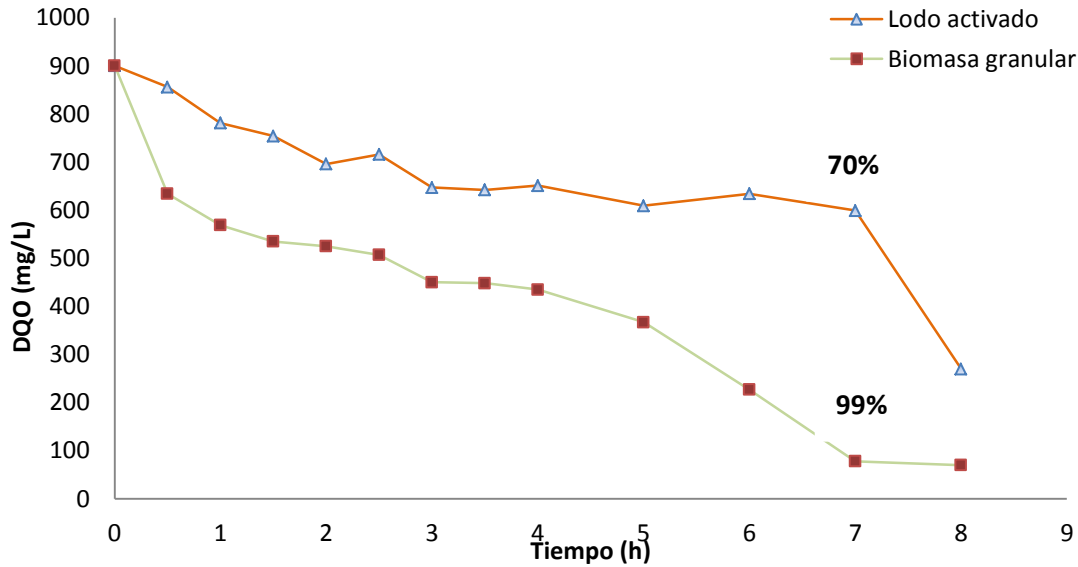


Figura 5.17 Remoción de la materia orgánica.

En la figura 5.18 se muestra el seguimiento de remoción de 30 mg/L de 4CF en lodo activado y biomasa granular, alcanzando porcentajes de remoción del compuesto fenólico del 28% y 96%, respectivamente. Los valores de q obtenidas en el reactor de biomasa granular y lodos activados durante la remoción del compuesto fenólico fueron de 2.15 y 0.64 mg 4 CF/g SSV·h, respectivamente. En la figura 5.19 se muestra el seguimiento de la remoción de materia orgánica en el reactor de lodo activado y el reactor de biomasa granular, obteniendo porcentajes de remoción del 59% y 87%, respectivamente.

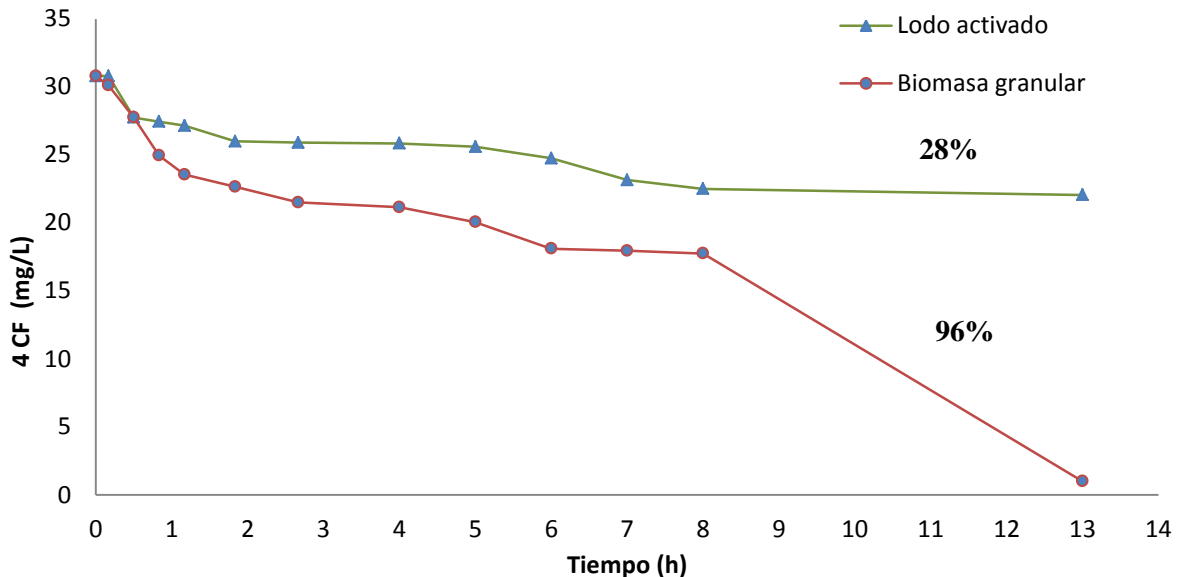


Figura 5.18 Remoción de 30 mg 4 CF/L

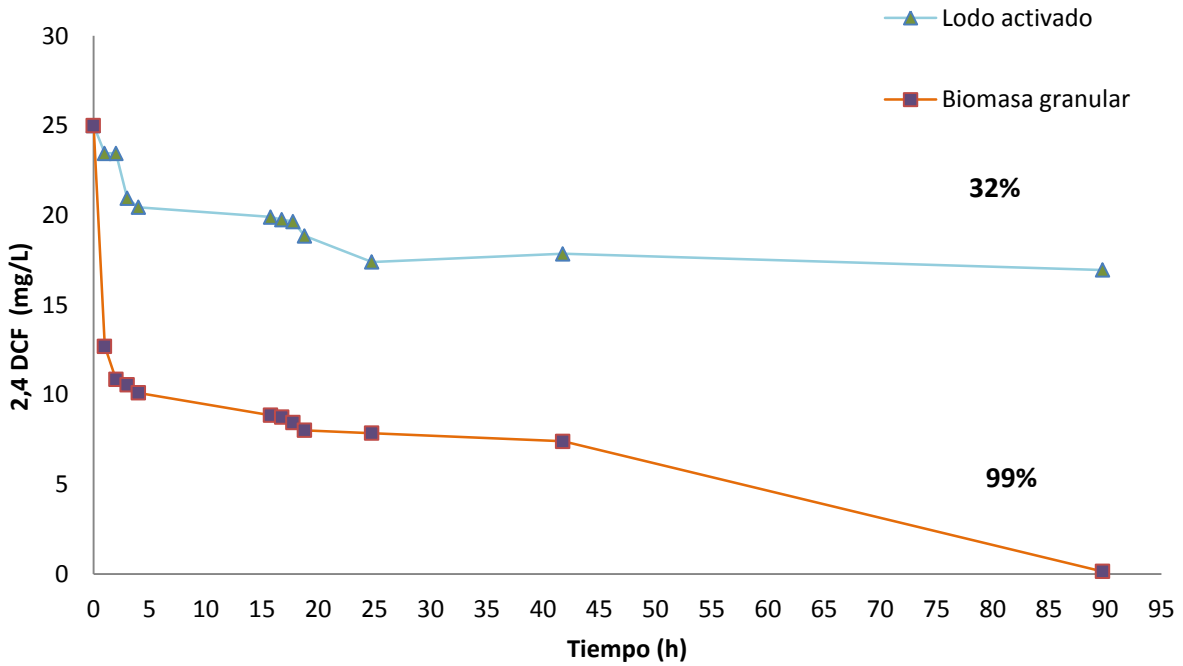


Figura 5.20 Remoción de 25 mg 2,4 DCF/L

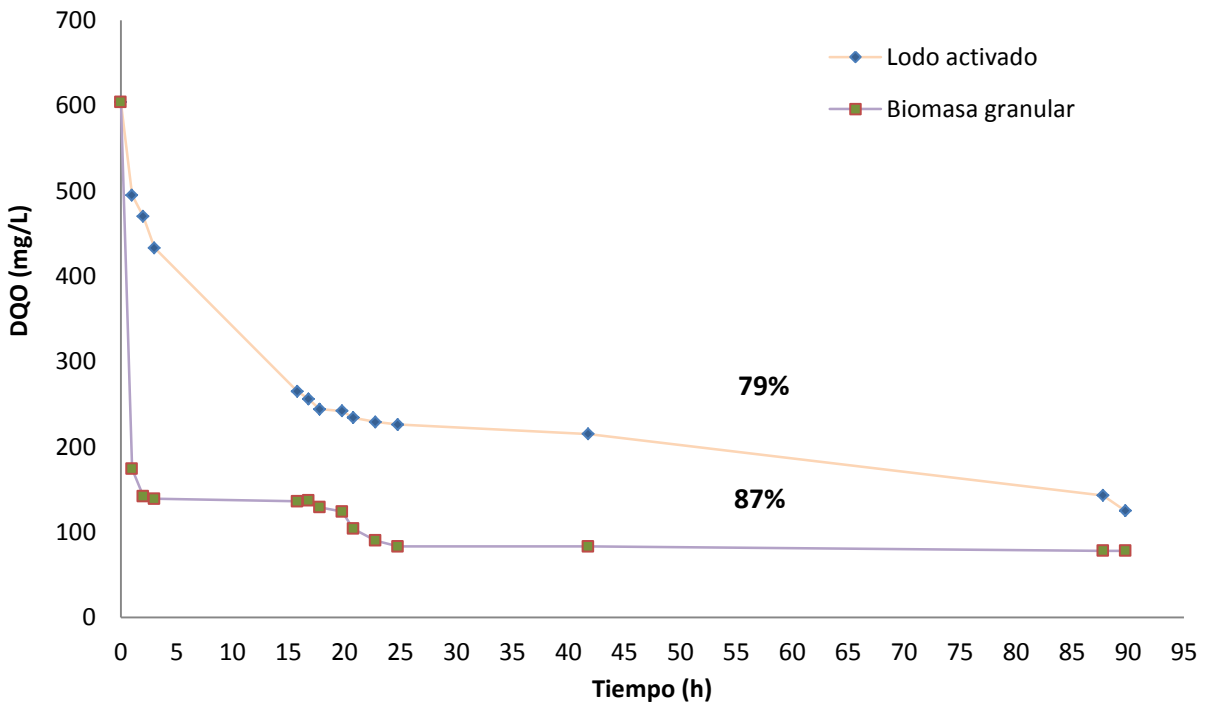


Figura 5.21 Remoción de la materia orgánica

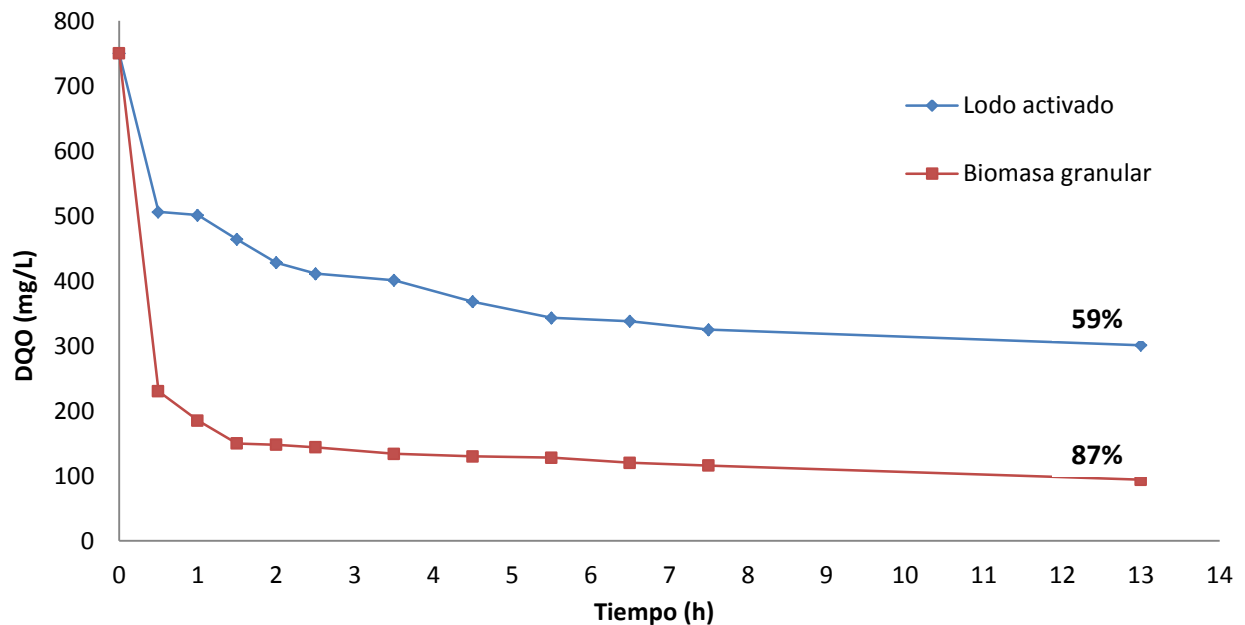


Figura 5.19 Remoción de la materia orgánica

Buitrón y González, (1996) reportaron la degradación de 25 mg 4CF/L de una mezcla de compuesto fenólicos, por medio de lodos activados previamente aclimatados en un tiempo de 20 horas. Moreno-Andrade y Buitrón, 2004, reportaron la actividad microbiana durante la fase de aclimatación de un sistema SBR en la degradación de 4CF, degradando una concentración de 50 mg/L de 4 CF por medio de lodos activados reportando un tiempo de reacción en el primer ciclo de aclimatación de 40 h. En el estudio realizado el tiempo de reacción para la remoción de 4 CF > 99% fue de 13 h.

En la figura 5.20 se muestra la remoción de 25 mg 2,4 DCF/L, obteniendo una eficiencia de remoción de 2,4 DCF en el reactor de lodo activado del 32%, y en el reactor de biomasa granular del 99%, se obtuvo valores de q de 0.08 y 0.26 mg 2,4 DCF/g SSV·h, respectivamente, el tiempo de reacción fue de 89 horas. En la figura 5.21 se muestra la remoción de la materia orgánica presente en el reactor de biomasa granular y el reactor con lodos activados. La materia orgánica se degradó en el reactor con biomasa granular, alcanzando un porcentaje de remoción del 87% y en el reactor con lodos activados del 79%.

Kargi *et al.*, (2005), reportaron un tratamiento biológico de agua residual sintética conteniendo 2,4 DCF en una unidad de lodo activado. La concentración del compuesto fenólico varió entre 25 mg/L y 250 mg/L, de un cultivo de lodo activado previamente aclimatado con 50 mg 2,4 DCF / L, el 2,4 DCF fue removido completamente. En la adición de 25 mg/L de 2,4 DCF, la DQO se removió un 95%, en un tiempo de retención hidráulica de 25 h.

En el estudio realizado se muestra el efecto inhibitorio de 2,4 DCF sobre biomasa granular sin aclimatar, aumentado el tiempo de reacción a 89 h, atribuyendo un efecto mayor en la disgregación del gránulo, el diámetro de gránulo disminuyó a 0.24 mm. Si la sustancia tóxica se encuentra todo el tiempo presente en la alimentación del reactor (aclimatación) la velocidad específica de degradación es mayor, a comparación donde la sustancia inhibitoria se encuentra de forma intermitente, el efecto de concentraciones puntuales de compuestos tóxicos en el influente se ve reflejado en el tiempo de reacción, alterando la cinética de remoción de la materia orgánica (Fernandez *et al.*, 2002). Khan *et al.*, (2002) reportaron la degradación de 20 mg 2,4 DCF/L en agua residual sintética, por medio de gránulos aerobios previamente aclimatados, la q obtenida fue de 6.54 mg 2,4 DCF/mg SSV·h en un tiempo de reacción de 4 h.

Se realizó el seguimiento de la remoción del 2,4,6 TCF en el reactor de biomasa granular y en el reactor de lodos activados. En la figura 5.22 se presenta el seguimiento de remoción y en la figura 5.23 la remoción de materia orgánica. Después de un tiempo de reacción de 110 h, se obtuvo una eficiencia de degradación del 2,4,6 TCF en el lodo activado y biomasa granular del 11% y 90%, respectivamente. La materia orgánica se degradó en el reactor con biomasa granular, alcanzando un porcentaje de remoción del 85% y en el lodo activado del 75%. La q obtenida en el reactor de biomasa granular y de lodos activados fue de 0.33 y 0.04 mg 2,4,6 TCF/g SSV·h. Moreno y Buitrón, 1996, reportan la biodegradación de una mezcla de compuestos fenólicos por medio de lodos activados previamente aclimatados con una mezcla de compuestos fenólicos, reportando la degradación del 2,4,6 TCF en un tiempo de 23 h.

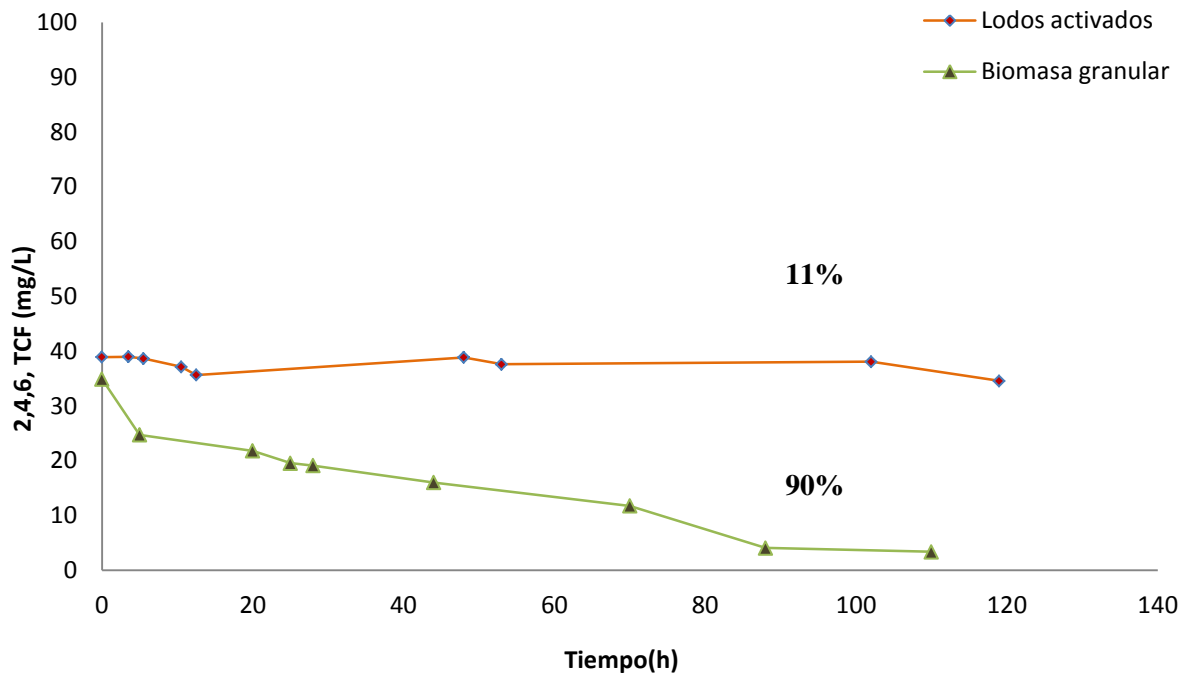


Figura 5.22 Remoción de 40 mg 2,4,6 TCF/L

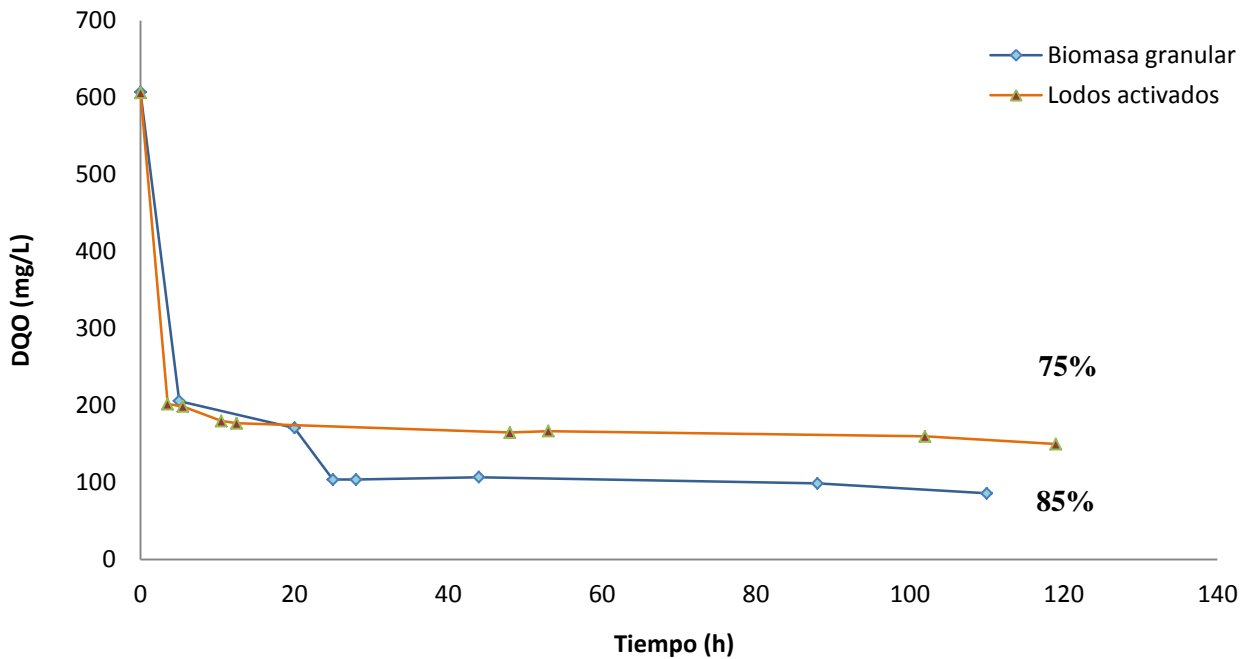


Figura 5.23 Remoción de la materia orgánica

Es posible observar que para todos los compuestos evaluados, el reactor granular degradó eficientemente los compuestos fenólicos, a diferencia del reactor de lodos activados, donde existió inhibición de la biomasa y no se completó la degradación de los compuestos fenólicos. La tabla 5.2 se presenta los resultados de la biomasa granular a la exposición de los diferentes picos de compuestos fenólicos y en la tabla 5.3 se muestra los resultados de la exposición de compuestos fenólicos sobre los lodos activados. Se observó que el reactor de biomasa granular no presentó efecto inhibitorio en la degradación de fenol y en la remoción de la materia orgánica (DQO), solo existió una disminución entre el 8 y 20% del CI. La tasa específica de degradación (q) del fenol se redujo en un 50% al aumentar la concentración de fenol de 75 a 250 mg/L. En el caso de los lodos activados, la eficiencia de remoción de fenol fue de 66, 51 y 17% para 25, 75 y 250 mg fenol/L, respectivamente.

Tabla 5.2 Picos de concentración de compuesto fenólicos sobre la biomasa granular.

Concentración	q, (mg/gSSV/h)	Eficiencia de remoción del compuesto(%)	Eficiencia DQO (%)	IVL (mL/gSSV)	Vs (m/h)	CI (%)	Diámetro gránulo (mm)
F, 25 mg/L	15.3 ± 0.2	98	82	29.6	6.3	71.7	0.25±0.06
F, 75 mg/L	16.7 ± 4.2	99	81	37.0	5.5	71.8	0.26±0.06
F, 250 mg/L	9.1 ± 1.0	99	86	25.2	5.1	59.2	0.18±0.03
4CF, 30 mg/L	2.15 ± 0.1	96	97	22.9	6.4	80.7	0.26±0.07
2,4DCF, 25 mg/L	0.26 ± 0.04	99	97	57.6	3.4	45.6	0.24±0.13
2,4,6TCF,40mg/L	0.33 ± 0.09	90	85	79.2	1.9	25.9	0.17±0.05

Tabla 5.3 Picos de concentración de compuestos fenólicos sobre lodo activado

Concentración	q(mg/gSSV·h)	Eficiencia de remoción del compuesto (%)	Remoción de materia orgánica (%)
25 mg/L de F	4.0± 1.24	66	70
75 mg/L de F	8.3± 4.24	51	39
250 mg/L de F	5.3±1.49	17	70
30 mg/L de 4 CF	0.64±1.05	28	60
25 mg/L de 2,4 DCF	0.08±0.33	32	79
40 mg/L de 2,4,6 TCF	0.04±0.12	11	75

En el caso del 4CF, el 2,4DCF y 2,4,6 TCF la biomasa granular degradó los compuestos fenólicos con eficiencias superiores al 90% a diferencia de los lodos activados donde la remoción del compuesto fenólico fue del 28%, 32% y 11%, respectivamente. El diámetro del gránulo se mantuvo constante, sin embargo el coeficiente de integridad se redujo en un

54% y 75% en el caso del 2,4 DCF y 2,4,6 TCF, esto fue debido al efecto inhibitorio de los compuestos fenólicos clorados, propiciando una pérdida de compactación en el gránulo, aumentado el IVL en 57.6 y 79.2 mL/g SST respectivamente, con ello disminuyó la VS hasta 3.3 y 1.9m/h. La tasa específica de degradación se redujo en un 90% en los compuestos fenólicos clorados en comparativa con la tasa de degradación de 25 mg/L de F. En todos los compuestos se alcanzaron eficiencias de remoción de material orgánico mayores al 85%. En el caso del 2,4 DCF la remoción de nitrógeno amoniacal disminuyó hasta un 19%, la remoción de fósforo disminuyó hasta un 13%. El efecto inhibitorio del 2,4,6 TCF fue notorio en la remoción de fósforo, disminuyendo la eficiencia de remoción en un 2.86%, la eficiencia de remoción de nitrógeno amoniacal no se vio afectada.

Se encontró que 40 mg/L de 2,4,6 TCF disgregó la integridad de la biomasa granular en un 75%, con ello disminuyó la velocidad de sedimentación de la biomasa, y se aumentó el tiempo de reacción hasta 110 h. Sin embargo, se degradó completamente el compuesto fenólico y el 85% de la materia orgánica presente en el reactor.

6. CONCLUSIONES

Se obtuvo biomasa granular aerobia a los 55 días de cultivo en agua residual municipal con un diámetro promedio de 0.4 mm en un reactor discontinuo secuencial. Los gránulos aerobios presentaron una excelente sedimentabilidad (VS, 7m/h) y compactación (CI, 86%). Se observó que cargas orgánicas mayores o iguales a 2 kg DQO/m³/d proporcionan condiciones favorables para obtener la granulación.

El reactor presentó, durante la operación a largo plazo (más de 1000 ciclos), eficiencias de remoción de DQO, NH₄-N y fósforo, de 82%, 94% y 36%, respectivamente. Se demostró que los gránulos aerobios soportan concentraciones puntuales de compuestos fenólicos, obteniendo eficiencias de degradación mayores al 98% en cada cinética de degradación del compuesto.

En el caso de los fenoles clorados, fue mayor la pérdida de la integridad del gránulo, disminuyendo el coeficiente de integridad hasta un 75%. Sin embargo, se obtuvieron eficiencias de degradación de los clorofenoles superiores al 90% y se mantuvo la eficiencia de remoción de la materia orgánica. Los resultados del reactor de lodos activados, en la remoción de fenoles fueron del 32% y 11%, respectivamente. La asociación de los microorganismos en gránulos incrementa la capacidad de la comunidad microbiana para soportar la presencia puntual de compuestos tóxicos durante la degradación de agua residual municipal.

RECOMENDACIONES

Una de las perspectivas que se desprenden del presente trabajo es el estudio de la formación de biomasa granular en agua residual realizando un cambio en la estrategia operacional, por ejemplo, se propone alternar una etapa anóxica/aerobia y/o disminuir el tiempo de sedimentación para el lavado de biomasa floculenta.

Debido a las variaciones observadas en el estudio realizado, se recomienda que para estudios de laboratorio, realizar la toma de la muestra de agua residual en horas pico en época de secas, con ello se desea promover una mayor producción de exopolímeros, favoreciendo con esto la formación y el aumento de tamaño de biomasa granular aerobia.

Otra propuesta es el conducir un estudio que valide la hipótesis de que a mayor tamaño de agregación de biomasa, existirá una mayor resistencia a compuestos tóxicos.

7. REFERENCIAS

- Adav S. S., Chen M. Y., Lee D. J. y Ren N. Q. (2007). Degradation of phenol by aerobic granules and isolated yeast *Candida tropicalis*. *Biotechnol Bioeng.* 96(5) 844-852.
- Adav S. S., Lee J., Show K. y Tay J. (2008). Aerobic granular sludge: Recent advances *Biotechnol. Adv.* 26, 411-423.
- APHA. (2005). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation. 21th ed., *Port city press. Baltimore, Maryland.*
- Arrojo B., Mosquera-Corral A., Garrido J.M. y Mendez R. (2004). Aerobic granulation with industrial wastewater in sequencing batch reactor. *Water Res.* 38, 3389-3399.
- Beun J. J. Hendriks A. y Van Loosdrecht M.C.M., (1999). Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Water Res.* 33(10) 2283-2290.
- Buitrón G. y Moreno I. (2010), Biodegradation kinetics of mixture of phenols in a sequencing batch moving bed biofilm. *J. Chem Technol Biotechnol.* 86, 669-674.
- Carucci A., Milia G. y Piredda M. (2008). Acetate-fed aerobic granular sludge for the degradation of chlorinated phenols. *Water Sci Technol.* 309-315.
- Chen C. Y., Chen D., Peng C. L. Fu Y. S. y Zhan Y. H. (2009). The microorganism community of pentachlorophenol (PCP)-degrading coupled granules. *Water Sci Technol.* 59, 987-994.
- de Kreuk K.M. (2006). Aerobic Granular Sludge Scaling up a new technology. Tesis Doctoral, Universidad Tecnica de Delft. Julianalaan, 26 de Junio de 2006.
- Eckenfelder W.W., Musterman J.L. (1995). Activated Sludge treatment of industrial wastewater. 1 ed., Technomic Publishing Co. Inc. Lancaster, Pennsylvania. pp.281.
- Fernández V.G., Vázquez B.E., Martínez P.P. (2002). Inhibidores de proceso anaerobio: compuestos utilizados en la porcicultura. *Ingeniería revista académica.* 6, 67-71.
- Flores T. y Ramírez A. (2001). Química Orgánica (1ª Ed.). *Editorial Esfinge.* Naucalpan, Edo. de México.
- Ghangrekar M.M., Asolekar R.S., Ranganthan R. K., y Joshi G.(1996). Experience with UASB reactor start-up under different operating conditions. *Water Sci Technol.* 34(5) 421-428.
- Hailei W., Guangli Y., Guosheng y Feng P. (2005). A new way to cultivate aerobic granules in the process of papermaking wastewater treatment. *Biochem Eng. J.* 28, 99-103.

- Hernández F. R. L. (2008). Oxidación en fase húmeda de 2-clorofenol con catalizadores CuO/TiO₂-Al₂O₃ para disminuir clorofenoles en aguas residuales. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del estado de Hidalgo. Pachuca de Soto, Hidalgo, 2008.
- Ho K.L., Lin B., Chen Y.Y. y Lee D.J. (2009). Biodegradation of phenol using *Corynebacterium* sp. DJ1 aerobic granules. *Bioresource Technol.* 100, 5051-5055.
- Ho L., Chen Y., Lin B. y Lee J. (2010). Degrading high-strength phenol using aerobic granular sludge. *Appl. Microbiol Biotechnol.* 85, 2009-2015.
- Hwang K.J., You S. F. y Don T. M. (2006). Disruption kinetics of bacterial cells during purification of poly-beta-hydroxyalkanoate using ultrasonication. *Chin. Inst. Chem. Eng.* 37, 209-216.
- Jiang H. L., Tay J. H., Liu Y. y Tay S. T. L. (2009). Ca²⁺ augmentation for enhancement of aerobically grown microbial granules in sludge blanket reactors. *Biotechnol.Lett.* 25, 95-99.
- Jiang H.L., Tay J.H. y Tay S.T.L. (2004). Changes in structure, activity and metabolism of aerobic granules as a microbial response to high phenol loading. *Microbiol. Biotechnol.* 63, 602-608.
- Jiménez B. E. (2001). La contaminación ambiental en México (1^a reimpresión). *Editorial Limusa*, México.
- Khan Z. M., Khan F. y Sabir S., (2002). Aerobic granular treatment of 2,4-dichlorophenol. *Can J Chem Eng.* 89, 914-920.
- Khan Z. M., Mondal K. P., Sabir S. y Tare V. (2011). Degradation pathway, toxicity and kinetics of 2,4,6 trichlorophenol with different co-substrate by aerobic granules in SBR. *Bioresource Technol.* 102, 7016-7021.
- Kishida N., Kono A., Yamashita Y. y Tsuneda S. (2010). Formation of Aerobic Granular Sludge in a continuous-flow reactor – control strategy for the selection of well-settling granular sludge. *J. Water Environ Technol.* 3, 251-258.
- Li Y. y Liu Y. (2005). Diffusion of substrate and oxygen in aerobic granule. *J. Biochem. Eng.* 27, 45-52.
- Liu y Tay J. H. (2004). State of the art of biogranulation technology for wastewater treatment. *Biotechnol Adv.* 22, 533-63.
- Liu Y. y Tay J. H. (2002). The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Res.* 36, 1653-1665.

- Liu Y., Yang S. F., Liu Q. S. y Tay J. H. (2003). The role of cell hydrophobicity in the formation of aerobic granules. *Curr Microbiol.* 46, 270-274.
- Lopes F. A., Viera M. J. y Melo L. F. (2000). Chemical composition and activity of a biofilm during the start-up of an airlift reactor. *Water Sci Technol.* 41, 105-111.
- Madigan M., Martinko J. y Parker J. (1997). Brock. Biology of microorganisms (8 Ed.), Editorial *Prentice Hall*. New Jersey.
- Mahoney E. M., Varangu L. K., Cairns W.L., Kosaric N. y Murray R.G.E. (1987). The effect of calcium on microbial aggregation during UASB reactor start up. *Water Sci Technol.* 19, 249-260.
- McMurry, J (2000). Química Orgánica (5^a Ed.). Editorial *McGraw-Hill*. México D.F.
- McSwain B. S., Irvine R. L. y Wilderer P. A. (2004). The effect of intermittent feeding on aerobic granule structure. *Water Sci Technol.* 49, 19-25.
- Metcalf & Eddy (2003). Wasterwater Engineering Treatment and Reuse (4 Ed.). Editorial *Mcgraw Hill*, New York, Estados Unidos.
- Moreno G. y Buitrón G. (2004). Influence of the origin of the inoculum and the acclimatization strategy on the degradation of 4-Chlorophenol. *Bioresource Technol.* 94(2), 215-218.
- Moreno I. (2006). Biodegradación óptima de compuestos fenólicos en un reactor discontinuo secuencial. Tesis doctoral. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F., 2006.
- Morgan J. W., Foster C. F. y Evison L. M. (1990). A comparative study of the nature of biopolymers extracted from anaerobic and activated sludges. *Water Res.* 6, 743-750.
- Morgenroth E., Sherden T., Van Loosdrecht M. C. M., Heijnen J.J. y Wilderer P. A. (1997) Aerobic granular sludge in a sequencing batch reactor. *Water Res.* 31, 3191-4.
- Morrison R. T. y Boyd R. N. (1990). Química Orgánica (5 Ed). Editorial *Pearson*. México D.F.
- Navarro V. F. (1997). Calibración multivariante para la determinación de clorofenoles contaminantes prioritarios mediante espectrofotometría de diodos integrados y FIA. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 1997.
- Qin L, Liu Y. y Tay J. H.(2004b). Effect of settling time on aerobic granulation in sequencing batch reactor. *Biochem Eng.* 21, 47-52.

- Qin L. Tay J. H. y Liu Y. (2004a). Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. *Process Biochem.* 39, 579-584.
- Ramallo R. S. (1996). Tratamiento de aguas residuales. *Editorial. Reverté S.A.* Barcelona, España.
- Rosenberg M., Gutnick D. y Rosenberg E. (1980). Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. *FEMS Microbiol. Lett.* 9, 29-33.
- Santruckova H. y Safarik I. (1992), Direct determination of total soil carbohydrate content. *Plant and Soil.* 143, 109-114.
- Schwarzenberck N., Erley R., MC Swain B.S., Wilderer P.A. y Irvine R.L. (2004). Treatment of malting wastewater in a granular sludge sequencing batch reactor (SBR). *Acta Hydroch Hydrob.* 32, 16-24.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, NOM-127-SSA1-1994. Salud ambiental, agua para uso y consumo humano límites permisibles de calidad y tratamientos que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación. Publicado el 22 de noviembre del 2000.
- Silva V. E. M., (2000). Preconcentración selectiva de fenoles contaminantes prioritarios y determinación por espectrofotometría ultravioleta-visible, cromatografía líquida de alta eficacia y cromatografía de gases/espectrometría de masas. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, 2000.
- Song Z., Ren N., Zhang K. y Tong L. J. Influence of temperature on the characteristics of aerobic granulation in sequencing batch airlift reactors. *Environ. Sci.* 21, 273-278.
- Su K. Z. y Yu H. Q., (2005). Formation and characterization of aerobic granules in a sequencing batch reactor treating soybean-processing wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 39, 2818-2827.
- Sunil S., Adav, Lee D. y Lai J. Y. Effects of aeration intensity on formation of phenol-fed aerobic granules and extracellular polymeric substances. *Environ. Biotechnol.* 77, 175-182.
- Tay J. H., Liu Q. S. y Liu Y. (2001). Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. *Appl Microbiol.* 91, 168-75.
- Tay J. H., Liu Q. S. y Liu Y. (2001). The effect of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 227-233.

- Trinet F, Heim R., Amar D., Chang H. T. y Rittmann B. E. (1991). Study of biofilm and fluidization of bioparticles in a three-phase fluidized-bed reactor. *Water Sci Technol.* 23, 1347-1354.
- Valera D. V. (2006). Obtención de un consorcio microbiano granular para la biodegradación de fenol en un reactor discontinuo de alimentación secuencia. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Pachuca de Soto, Hidalgo, 2006.
- Wang F., Yang F., Zhang X. W., Liu y Zhang H. y Zhou J. (2005). Effects of cycle time on properties of aerobic granules in sequencing batch airlift reactors. *World Microbiol Biotechnol.* 21, 1379-1384.
- Wang Z. W., Li Y., Zhou J. Q. y Liu Y. (2006). The influence of short-term starvation on aerobic granules. *Process Biochem.* 41, 2373-2378.
- Wang Z., Li Y., Zhou J. y Liu Y., (2006). The influence of short-term starvation on aerobic granules. *Process Biochem.* 41, 2373-2378
- Wilderer P. A., Irvine R. L. y Goronszy M.C. (2001). Sequencing batch reactor technology. *Sci. and Technol.* report No 10, IWA Publishing, London. 76 pp.
- Williams D. C. y de los Reyes I.I.I. (2006). Microbial community structure of activated sludge during aerobic granulation in an annular gap bioreactor. *Water Sci Technol.* 54, 139-146.
- Wu S. T., Huang C. C., Yu S. T. y Too J. R. (2006). Effects of nitrogen and phosphorus on poly-beta-hydroxyalkanoate production by *Ralstonia eutropha*. *Chin Inst Chem Eng.* 37, 501-508.
- Yang S.F., Liu Q. S., Tay J. H. y Liu Y. (2004). Growth kinetics of aerobic granules developed in sequencing batch reactors. *Lett Appl Microbiol.* 38, 106-112.
- Yang S.F., Liu Y. y Tay J.H. (2003). A novel granular sludge sequencing batch reactor for removal of organic and nitrogen from wastewater. *Biotechnol.* 106, 77-86.
- Yi S., Zhuang W., Wu B., Tay T. S. y Tay J. (2006). Biodegradation of p-nitrophenol by aerobic granules in a sequencing batch reactor. *Environ Sci Technol.* 40, 2396-2401.

8. Lista de artículos en memorias de congreso derivadas de este trabajo de investigación

- Santiago S.G., Moreno Andrade I. (2013). Efecto de picos de concentración de compuestos fenólicos sobre biomasa granular aerobia. IWA Mexico Young Water Professionals Conference 2013, 24-26/04/2013. San Luis Potosí, SLP.
- Santiago S.G., Moreno Andrade I. (2011). Biodegradación de un agua residual inhibitoria conteniendo una mezcla de fenoles por medio de un reactor discontinuo secuencial. Segundo congreso de alumnos de posgrado de la UNAM. 18-20/05/2011. Ciudad Universitaria, México D.F.
- Santiago S.G., Moreno Andrade I. (2013). Use of aerobic granular sludge to avoid the effect of punctual concentration peaks of toxic compounds in municipal wastewater degradation. 3rd IWA Development Congress and Exhibition, 14-17/10/2013. Nairobi, Kenia.