



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN
INGENIERÍA**

INSTITUTO DE INGENIERÍA

**INFLUENCIA DEL TIEMPO DE AIREACIÓN EN LA
FORMACIÓN DE GRÁNULOS AEROBIOS EN UN
REACTOR SECUENCIAL POR LOTES**

T E S I S

QUE PARA OBTENER POR EL GRADO DE
MAESTRIA EN INGENIERÍA
AMBIENTAL

PRESENTA:

DAVID ANTONIO MARTÍNEZ MORALES

TUTOR:

Dr. OSCAR GONZÁLEZ BARCELÓ

2010



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.

INTEGRANTES DEL JURADO

Presidente: Dra. Gabriela Eleonora Moeller Chávez

Secretario: Dr. Víctor Manuel Luna Pabello

Vocal: Dr. Oscar González Barceló

1er. Suplente: Dr. Germán Buitrón Méndez

2do. Suplente: Dr. Iván Moreno Andrade

Lugar donde se realizó la tesis:

Instituto de Ingeniería de la UNAM

Director de tesis

Dr. Oscar González Barceló

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Oscar González Barceló por dirigir este trabajo experimental. Gracias por su asesoría y apoyo académico para concluir esta maestría.

Al Dr. Simón González por la asesoría brindada para la elaboración de este documento. Mi reconocimiento a su gran calidad humana.

A mi comité tutorial y miembros del jurado, integrado por: Dra. Gabriela Eleonora Moeller Chávez, Dr. Víctor Manuel Luna Pabello, Dr. Germán Buitrón Méndez y Dr. Iván Moreno Andrade por el seguimiento y por sus valiosas aportaciones a este trabajo experimental.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y en conjunto al Instituto de Ingeniería por el apoyo brindado para la realización de este proyecto. Gracias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo brindado a través de la beca proporcionada.

DEDICATORIA

*Como muestra de cariño y agradecimiento a mis padres: **Estela Morales Hernández (†)** y **Antonio Martínez Martínez (†)**, por su ejemplo y sabiduría que han sabido conducir mi vida por el camino del bien.*

*A mi amada **Elda** por toda la confianza, apoyo, paciencia, comprensión y amor que me brinda día a día.*

*A mis hermanos: **Georgina** y **Arturo** que siempre están dispuestos apoyarme y regalarme palabras de aliento, de quien he aprendido a amar la vida y disfrutar aún con todas sus adversidades.*

*A mis compañeros inseparables en estos dos años porque sin su ayuda el proceso hubiera sido más largo, **Arnold** y **Fabián** por dedicarme tantas horas, por sus consejos de vida y obvio de trabajo, **Lucero** y **Circe** más que agradecido por darle sentido al laboratorio y a las materias.*

*A todas aquellas personas que he compartido mis días de maestría: **profesores, compañeros** y **amigos**, quienes hicieron de éste, un enriquecedor y hermoso viaje.*

David Antonio Martínez Morales

ÍNDICE

RESUMEN

1. JUSTIFICACIÓN.....	1
2. OBJETIVOS Y ALCANCES.....	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivo particular.....	3
2.3. Alcances.....	4
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1. Gránulos aerobios.....	5
3.1.1. Formación de lodo granular.....	7
3.1.2. Mecanismos de granulación.....	9
3.1.3. Factores que afectan la granulación aerobia.....	9
3.1.3.1. Composición del sustrato.....	9
3.1.3.2. Carga orgánica.....	10
3.1.3.3. Fuerzas hidrodinámicas.....	11
3.1.3.4. Tiempo de sedimentación.....	12
3.1.3.5. Tiempo de retención hidráulico.....	13
3.1.3.6. Inanición aerobia.....	14
3.1.3.7. Otros factores que afectan la sedimentación.....	15
3.2. Características de los gránulos aerobios.....	18
3.2.1. Morfología.....	18
3.2.2. Densidad e intensidad.....	18
3.2.3. Velocidad específica de utilización de oxígeno.....	18
3.2.4. Sedimentabilidad.....	19
3.2.5. Hidrofobosidad de la superficie celular.....	19
3.2.6. Estabilidad de almacenamiento.....	20
3.3. Estructura microbiana y diversidad.....	20

3.3.1. Estructura microbiana.....	20
3.3.2. Diversidad microbiana.....	21
4. METODOLOGÍA.....	26
4.1. Unidad experimental.....	26
4.2. Composición del agua sintética.....	28
4.3. Condiciones de operación del reactor.....	29
4.4. Etapas de experimentación.....	32
4.4.1. Arranque y estabilización del reactor.....	32
4.4.1.1. Inoculación.....	32
4.4.1.2. Muestreo y análisis.....	33
4.4.2. Segunda etapa.....	35
4.4.2.1. Muestreo y análisis.....	35
4.5. Parámetros cinéticos.....	35
5. RESULTADOS.....	39
5.1. Comportamiento de los sólidos suspendidos totales.....	40
5.2. Demanda química de oxígeno disuelto (DQOs).....	44
5.3. Remoción de nitrógeno.....	51
5.4. Remoción de fósforo como ortofosfatos (P-PO ₄ ⁻³).....	54
5.5. Comportamiento del pH.....	56
5.6. Perfiles de DQO y amonio en el ciclo de 12 h y 6 h.....	57
5.7. Formación del gránulo.....	66
6. CONCLUSIONES.....	75
7. BIBLIOGRAFÍA.....	79

LISTA DE TABLAS

4.1 Composición del agua residual sintética.....	29
4.2. Tiempo de duración de las fases en los ciclos de 12 y 6 horas (2 y 4 ciclos/d, respectivamente).....	30
4.3. Operación hidráulica de los reactores.....	31
4.4. Técnicas analíticas.....	34
4.5. Plan de muestreo durante la segunda etapa de experimentación.....	35
5.1. Concentraciones de DQO en influente y efluente durante los dos ciclos.....	46

LISTA DE FIGURAS

3.1. Principio de operación de los reactores biológicos de operación discontinua.....	7
3.2. Microestructura de gránulos aerobios alimentados con glucosa (a) y acetato (b).....	10
3.3. Ilustración del efecto de las sustancias poliméricas extracelulares en formación y crecimiento de gránulos aerobios (Li <i>et al.</i> , 2006b).....	12
3.4. Etapas de desarrollo de gránulos (Weber <i>et al.</i> , 2007). A) Formación de flóculos, B) Crecimiento de gránulo C) Gránulo maduro.....	22
3.5. Ciliados muertos de los gránulos de un reactor discontinuo alimentado con agua de una cervecería (Weber <i>et al.</i> , 2007).....	24
3.6. Gránulo maduro de un reactor discontinuo alimentado con agua residual sintética (Weber <i>et al.</i> , 2007). El gránulo es esférico y consiste de bacterias y sustancias poliméricas extracelulares.....	24
4.1 Unidad experimental.....	27
4.2. Inoculación del reactor.....	33
5.1. Comportamiento de los SST en las dos corridas experimentales.....	41
5.2 Comportamiento del IVL en las dos corridas experimentales.....	42
5.3. Comportamiento de SST en el efluente del reactor.....	44
5.4. Comportamiento de la DQOs del influente y efluente del reactor SBR con gránulos aerobios en los corridas de 12 y 6 horas.....	46
5.5. Comportamiento de la remoción de DQO con respecto a la carga orgánica.....	48
5.6. Comportamiento de la tasa de remoción de DQO con respecto a la carga orgánica. Ciclo de 12 h (a) y ciclo de 6 h (b).....	50
5.7. Comportamiento de N-NH ₄ en el influente y efluente del reactor SBR en ambos ciclos.....	52
5.8. Comportamiento de la remoción de amonio en los dos ciclos.....	53
5.9. Comportamiento de P-PO ₄ ⁻³ en el influente y efluente del reactor SBR con gránulos aerobios en los dos ciclos.....	54

5.10. Remociones de $P-PO_4^{-3}$	56
5.11 Comportamiento del pH a lo largo de la experimentación.....	57
5.12. Perfil de DQO realizado en el ciclo de 12 horas.....	58
5.13. Perfil de DQO realizado en el ciclo de 6 horas.....	60
5.14. Perfil de temperatura realizado en el ciclo de 6 horas.....	62
5.15. Perfil de $N-NH_4$ realizado en el ciclo de 12 horas.....	63
5.16 Perfil de oxígeno disuelto realizado en el ciclo de 12 horas.....	64
5.17. Perfil de $N-NH_4$ realizado en el ciclo de 6 horas.....	65
5.18. Perfil de oxígeno disuelto realizado en el ciclo de 6 horas.....	65
5.19 Formación del gránulo aerobio durante el primer ciclo (a) lodos activados con gránulos anaerobios, (b) obtención del floculo (c) crecimiento de gránulo y (d) gránulo aerobio.....	67
5.20 Gránulo aerobio obtenido en el ciclo de 12 horas.....	69
5.21 Gránulo aerobio obtenido en el ciclo de 6 horas.....	70
5.22 Estructura bacteriana observada el día 75 en el reactor	71
5.23 Superficie granular observado en un gránulo extraído del reactor, el día 75.....	72
5.24 Microcolonias bacterianas observadas en un gránulo del día 75.....	73
5.25 Microorganismos filamentosos de un gránulo del día 75.....	73
5.26 Morfología general del gránulo del día 75.....	74

ABREVIATURAS

CO	Carga orgánica (kgDQO/kgSST-d)
DQO	Demanda química de oxígeno (mg/L)
DQO _s	Demanda química de oxígeno soluble (mg/L)
DQO _{max}	Demanda química de oxígeno máxima (mg/L)
DQO _{min}	Demanda química de oxígeno mínima (mg/L)
DQO _{prom}	Demanda química de oxígeno promedio (mg/L)
pH	Potencial de hidrógeno
SST	Sólidos suspendidos totales (mg/L)
IVL	Índice volumétrico de lodos (ml/gSST)
N-NH ₄ ⁺	Nitrógeno de ión amonio (mg/L)
P-PO ₄ ⁻³	Fósforo de ortofosfatos (mg/L)
OD	Oxígeno disuelto (mg/L)
TRH	Tiempo de retención hidráulico (h)
TRC	Tiempo de retención celular (día)
SBR	Reactor Secuencial Bactch
PHB	Poli-β-hidroxibutirato
SOUR	Velocidad específica de utilización de oxígeno
Q	Gasto (m ³ /día)
X	Concentración de microorganismos en el licor mezclado (mgSST/L)
So	Concentración de sustrato inicial (mgDQO/L)
n	Número de ciclos en el reactor por día
T _{ciclo}	Tiempo del ciclo (min)
T _{llenado}	Tiempo de llenado (min)
T _{aireado}	Tiempo de aireación (min)
T _{sedimentación}	Tiempo de sedimentación (min)
T _{vaciado}	Tiempo de vaciado (min)
V _t	Volumen total de reacción (L)
V _f	Volumen de recambio (L)
μ _{obs}	Velocidad de crecimiento específica de la biomasa
y _{obs}	Producción de la biomasa (mgSSV/mgDQO)
q _{obs}	Velocidad específica de remoción de sustrato (gDQO/gSSV·d)

RESUMEN

La presente investigación “Influencia del tiempo de aireación en la formación de gránulos aerobios en un reactor secuencial por lotes” tiene como meta principal la formación de gránulos aerobios y evaluar el efecto del tiempo de aireación en su formación. Los gránulos aerobios se aplican en el tratamiento biológico de aguas residuales municipales e industriales, incluyendo la remoción biológica de nutrientes (nitrógeno y fósforo).

Los gránulos aerobios consisten en agregados bacterianos mucho más compactos que los lodos activados tradicionales por lo que se logra la separación del agua tratada de una forma mucho más rápida. Esto permite retener más biomasa en el sistema por lo que aumenta la capacidad del mismo y se puede disminuir el tamaño de los reactores biológicos y en un momento dado de los sedimentadores secundarios.

Estos sistemas de tratamiento se pueden convertir en una aplicación viable para el tratamiento de aguas residuales donde el costo y disponibilidad del terreno son factores determinantes. El proceso de gránulos aerobios se descubrió en Holanda y aunque la mayoría de los trabajos realizados en este campo se han llevado a cabo a nivel laboratorio, actualmente ya se están operando plantas a escala piloto. Esta tecnología es relativamente sencilla de implantar y presenta una serie de ventajas frente a las tecnologías convencionales por lo que su futuro es muy prometedor.

La experimentación se realizó en un reactor de operación discontinua o por lotes con ciclos que comprendieron cuatro fases principales: llenado, aireación, sedimentación y vaciado. Se llevaron a cabo dos corridas experimentales: a) 2 ciclos diarios de 12 horas y b) 4 ciclos diarios de 6 horas por lo que el tiempo de aireación fue la única fase que se varió.

Durante el tiempo de experimentación se monitoreó el pH y el oxígeno disuelto en el licor mezclado, el comportamiento de estos parámetros para ambos reactores fue semejante ya que en el primer ciclo se obtuvo un valor promedio de 7.85 y en el segundo ciclo de 7.85. El oxígeno disuelto se midió en el licor mezclado de ambos reactores para que no actuara como una limitante para el proceso biológico.

El tiempo de sedimentación en ambos ciclos se fijó en 5 minutos para seleccionar a los microorganismos de rápida sedimentación, lo cual propició una colonización de biomasa granular. Los gránulos aerobios se obtuvieron alrededor del día 40 con una estructura semiesférica en el ciclo de 12 h se obtuvieron gránulos con un diámetro de 2 a 3 mm de diámetro, pero el sistema no fue estable ya que los gránulos se desintegraban frecuentemente. Es probable que esta desintegración se deba al largo tiempo de carencia de sustrato al que estaban expuestas las bacterias (91% del ciclo total). En el ciclo

de 6 h se obtuvieron gránulos con tamaño de 3 a 4 mm en el inicio del cambio del ciclo con una estructura compacta de forma definida casi esférica, estos gránulos permanecieron estables hasta que en un evento de operación se desintegraron y volvieron a formarse pero con un tamaño menor a 1 mm.

Los dos ciclos presentaron buena sedimentabilidad registrándose para el ciclo de 12 h un IVL entre 20 y 45 ml/gSST con una carga orgánica entre 0.05 y 0.14 kgDQO/kgSST·d. En el ciclo de 6 h con una carga orgánica entre 0.27 y 0.47 kgDQO/kgSST·d se ha registrado IVL entre 25 y 45 ml/gSST.

En ambos ciclos se obtuvieron altas remociones de DQO, para el ciclo de 12 h se obtuvieron remociones de DQO del 95% con una carga orgánica que varió entre de 0.05 y 0.14 kgDQO/kgSST·d. Esta carga orgánica provocó que los gránulos de este ciclo se desintegraran. Con el ciclo de 6 h en el cual se aplicó una carga orgánica entre 0.27 y 0.47 kgDQO/kgSST·d el sistema operó de manera estable obteniendo remociones de DQO del 91%. Se observó que al disminuir el tiempo de aireación la eficiencia de remoción de DQO disminuyó.

En el ciclo de 12 h bajo una carga orgánica de 0.5 a 0.14 kgDQO/kgSST·d se obtuvo una nitrificación casi completa con una eficiencia de remoción promedio de amonio del 99.54%. A pesar de que en este ciclo los gránulos se desintegraron la concentración de amonio en el efluente se mantuvo estable. Para el ciclo de 6 h con una carga orgánica entre 0.27 y 0.47 kgDQO/kgSST·d el sistema obtuvo remociones de amonio del 99.27 %. En ambos ciclos la remoción de amonio es del 99% esto probablemente se debe a que ambos tuvieron suficiente tiempo para llevar a cabo los procesos de remoción de materia orgánica y de nitrificación. En un periodo de 3 horas en ambos ciclos se removió el 90% de amonio, por lo que los reactores de gránulos aerobios son eficientes en la remoción de amonio y si se operan bajo condiciones que favorezcan la desnitrificación es posible llevar a cabo la remoción de nitrógeno total.

El tiempo de aireación afectó la formación del gránulo, se observó que en el primer ciclo con un tiempo de aireación mayor no se logró estabilidad del sistema ya que los gránulos se desintegraban continuamente y los flóculos terminaban dominando el sistema. En el segundo ciclo los gránulos permanecieron estables.

Las fotografías del microscopio óptico mostraron que en ambos ciclos se obtuvieron gránulos con una forma semiesférica, color café claro una textura suave y pocos filamentos en su superficie. De acuerdo a la microscopia electrónica de barrido el gránulo estuvo formado por una estructura bacteriana muy compacta donde dominan principalmente bacilos y cocos. Los organismos filamentosos también estuvieron presentes envolviendo la estructura general del gránulo.

1. JUSTIFICACIÓN

En la sociedad actual las aguas residuales son un producto inevitable de la actividad humana que deben eliminarse de la manera menos costosa y ofensiva posible. En décadas anteriores esto equivalía a emplear sistemas de disposición directa a lagos y corriente. Sin embargo, este método tiene efectos indeseables sobre el ambiente.

En México el 43% de las plantas de tratamiento utiliza la tecnología de lodos activados en sus diferentes modalidades. Los sistemas de lodos activados son efectivos para la remoción de carbono orgánico y nutrientes en plantas de tratamiento de agua residual municipal. Sin embargo, presentan problemas para sedimentación de lodos y se requieren reactores muy grandes y tanques de sedimentación con recirculación de biomasa (Pastorelli *et al.*, 1997). La capacidad y eficiencia de estos sistemas es limitada cuando se requiere que su efluente cumpla con calidades de agua muy estrictas (Ødegaard *et al.*, 1994). Esto ha ocasionado una constante búsqueda para mejorar los procesos de tratamiento y crear sistemas más eficientes y económicos que permitan cumplir

los niveles requeridos por las regulaciones federales o locales actuales y las más restrictivas que se implanten en el futuro. Para el caso del sistema convencional de lodos activados la separación eficiente de los sólidos en el sedimentador secundario representa un factor decisivo en su diseño y operación. Se sabe que la eficiencia de la separación de los sólidos en suspensión está relacionada, de manera inversa, con la concentración de microorganismos en el tanque de aireación (Kiely, 1997). La investigación sobre granulación aerobia ha demostrado que la aglomeración de los microorganismos en forma granular puede resolver problemas técnicos y tecnológicos. Es un hecho que los gránulos aerobios cultivados en reactores discontinuos presentan en forma muy eficiente la capacidad de sedimentación lográndose la separación líquido-sólidos (De Kreuk *et al.*, 2006). Además, tienen una menor producción de biomasa y una mayor resistencia a compuestos tóxicos debido a su estructura compacta. Los sistemas granulares se pueden convertir en una aplicación viable para el tratamiento de aguas residuales donde el costo y disponibilidad de terreno son factores determinantes.

Con el presente trabajo se propone llevar a cabo la remoción de materia orgánica en un reactor discontinuo con gránulos aerobios ante distintos tiempos de aeración para evaluar la influencia que tiene la recuperación cíclica de las bacterias, cuando después de capturar y acumular sustrato proceden a catabolizar el material orgánico carbonoso e incluso entran en respiración endógena en función del tiempo de aireación, sobre la selección y aglomeración de bacterias en un sistema de lodos activados de operación discontinua con tiempos para sedimentación muy por debajo de los convencionales

2. OBJETIVO Y ALCANCES

2.1. Objetivo general

El objetivo general de este trabajo es llevar a cabo la formación de gránulos aerobios en un reactor con modo de operación discontinuo.

2.2. Objetivos Particulares

- Formar gránulos aerobios por medio de la inoculación de lodos activados y gránulos anaerobios en un reactor con modo de operación discontinuo.
- Observar la morfología de los gránulos aerobios en dos diferentes tiempos de aireación mediante microscopía óptica y electrónica de barrido.
- Evaluar la capacidad de remoción de materia orgánica y nutrientes del reactor con modo de operación discontinuo con gránulos aerobios operado con dos tiempos de aireación.

2.3. Alcances

- Realizar la investigación en un reactor discontinuo secuencial con gránulos aerobios a nivel laboratorio.
- En cada ciclo mantener constantes la etapa de llenado, sedimentación y vaciado, de tal forma que la única etapa que varíe sea la etapa de aireación.
- Uso de agua sintética en lugar de agua residual cruda para disminuir incertidumbre de la variación en sus características.

3. ANTECEDENTES

3.1 Gránulos aerobios

Gran parte de las plantas de tratamiento de agua residual municipal alrededor del mundo utilizan los procesos de lodos activados. El agua residual que contiene materia orgánica soluble se mezcla con el lodo activado en el reactor aireado y la biomasa consume los constituyentes orgánicos e inorgánicos del agua residual como fuente de carbono y nutrientes. En muchas plantas de tratamiento convencionales, el agua residual entra y sale continuamente del reactor de lodos. El agua residual descargada del proceso de lodos activados se descarga a un tanque de sedimentación donde el lodo activado se separa del agua residual tratada por gravedad. La velocidad de sedimentación depende de la estructura física de la biomasa, este es un factor limitante para el tamaño de las plantas de tratamiento, ya que se requiere sedimentadores de gran volumen. Cuando la biomasa forma flóculos densos, estos sedimentan rápidamente permitiendo que el efluente tratado sea descargado eficientemente, libre de

biomasa suspendida. Cuando la biomasa forma flóculos ligeros, con gran proporción de organismos filamentosos, la separación de la biomasa del agua tratada es poco eficiente y el efluente puede ser descargado con lodo activado causando un efluente turbio. De esta forma la eficiencia del tratamiento biológico, depende primero de la selección y la capacidad de crecimiento de los microorganismos, y segundo, de la eficiencia de separación de los microorganismos del efluente tratado (McSwain *et al.*, 2008).

Una alternativa del proceso de lodos activados son los reactores de operación discontinua secuencial (SBR, por sus siglas en inglés, sequencing batch reactor). Estos procesos se alimentan en forma intermitente, seguidos de una fase de aireación, una fase de sedimentación de la biomasa y finalmente una fase de decantación, durante la cual se descarga el efluente tratado, los reactores discontinuos tienen un rango amplio de beneficios y aplicaciones (Wilderer *et al.*, 2001). Uno de los primeros éxitos de este tipo de reactores, fue utilizarlos para control de organismos filamentosos y para mejorar la sedimentabilidad del lodo (Chiesa, 1982; Chiesa *et al.*, 1985; Chiesa and Irvine, 1985). En años recientes, los reactores discontinuos se han utilizado para formar estructuras de lodo biológico más compactas en la forma de gránulos aerobios.

Los reactores discontinuos reemplazan cada paso de un sistema de flujo continuo con etapas secuenciales controladas, como son: llenado, aireación, sedimentación, decantación y reposo (Figura 3.1). Controlando y regulando condiciones en estado inestable, el reactor controla los cambios de los lodos activados entre etapas de alta y baja concentración de sustrato y; según los requerimientos, entre etapas anaerobias, anóxicas o aerobias. Una de las principales ventajas de los reactores discontinuos es la facilidad con la que la secuencia de operación se puede cambiar. Pueden simular reactores de flujo pistón y mezcla completa o una mezcla de los dos. Cuando se emplea un llenado estático, sin mezclador mecánico, se acumula una concentración máxima de sustrato y los gradientes de captación de sustrato se observan al inicio de la

etapa de aireación. Llenado estático ó llenado con aireación se pueden usar para modificar el patrón de alimentación y la comunidad microbiana sujeta a una variedad de condiciones de crecimiento: en abundancia o carencia de sustrato.

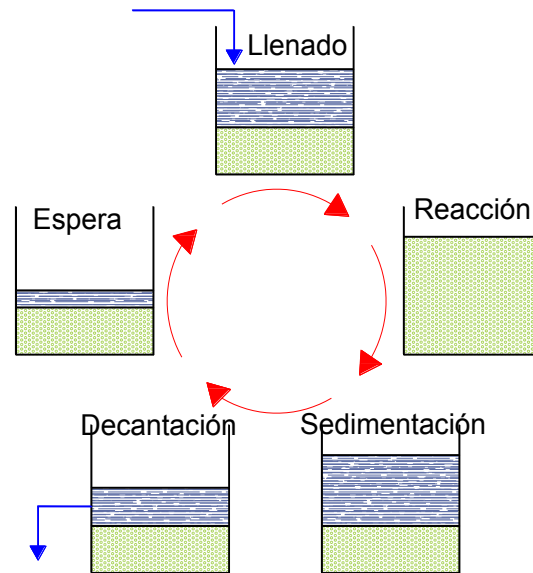


Figura 3.1. Principio de operación de los reactores biológicos de operación discontinua.

3.1.1 Formación de lodo granular

El desarrollo de gránulos aerobios lo reportaron por primera vez Mishimina y Nakamura (1991) en reactor de flujo ascendente donde se desarrollaron gránulos con diámetros entre 2 y 8 mm con buenas propiedades de sedimentabilidad. La granulación aerobia se ha observado en reactores discontinuos y se ha usado en aguas residuales conteniendo altas concentraciones de materia orgánica, nitrógeno y fósforo (Jang *et al.*, 2002; Moy *et al.*, 2002 y Lin *et al.*, 2003). Sin embargo, los procesos de granulación aerobia no han sido estudiados completamente.

Los gránulos se pueden describir como una colección de células auto-inmovilizadas dentro de una forma esférica y se consideran un caso especial de crecimiento de biopelícula (Grotenhuis *et al.*, 1991; El-Momouni *et al.*, 1995; Beun *et al.*, 2002). La mayoría de los gránulos aerobios se han cultivado en reactores discontinuos y tienen varias ventajas comparadas con los flóculos de lodos activados convencionales. Estos incluyen una estructura densa y fuerte con buenas propiedades de sedimentación, alta retención de la biomasa y la habilidad para resistir cargas orgánicas altas (De Kreuk, 2006).

La granulación por bacterias incluye: bacterias metanogénicas (Lettinga *et al.*, 1984), acidogénicas (Vanderhaegen *et al.*, 1992), nitrificantes (de Beer *et al.*, 1993), desnitrificantes (Van der Hoek, 1988) y heterótrofas aerobias (Morgenroth *et al.*, 1997).

El lodo aerobio granular se forma mediante la operación de reactores discontinuos: 1) en columnas de mezcla completa, 2) tipo corrientes de ascenso y descenso; 3) convencionales operado con llenado estático. Aunque esto no se ha estudiado directamente, algunos autores llegan a la conclusión que una alimentación por pulsos es un requisito para la formación del gránulo, esto reforzaría la teoría de gradientes de concentración para acumulación y posterior metabolización por las células. Generalmente una velocidad de aire alta y una fuerza cortante alta se requieren para la formación del gránulo sin embargo, la aplicación de ciclos de tratamiento biológico y una fuerza cortante alta no aseguran el desarrollo de un gránulo aerobio estable (De Kreuk, 2006).

3.1.2 Mecanismos de granulación

- a) Movimiento físico para iniciar el contacto bacteria-bacteria. Los factores que involucran este paso son: hidrodinámica, difusión por transferencia de masa y movilidad celular.
- b) Estabilización de contacto multicelular resultado de las fuerzas de atracción inicial. Esas fuerzas son fuerzas físicas (fuerzas de Van der Waals, tensión superficial, etc.), químicas y bioquímicas incluyendo deshidratación de la superficie celular, fusión de la membrana celular y acción colectiva de la comunidad bacteriana.
- c) Maduración de la agregación celular a través de la producción de polímeros extracelulares, crecimiento de consorcios celulares, cambio metabólico, efectos genéticos ambientales inducidos que facilitan la interacción célula-célula que resultan en una estructura microbiana altamente organizada.

3.1.3 Factores que afectan la granulación aerobia

3.1.3.1 Composición del sustrato

El desarrollo de gránulos aerobios se ha reportado utilizando varios sustratos incluyendo glucosa, acetato, etanol, fenol y agua residual sintética (Beun *et al.*, 1999; Peng *et al.*, 1999; Tay *et al.*, 2001a; Jang *et al.*, 2002; Moy *et al.*, 2002 y Schwarzenbeck *et al.*, 2003). Se han cultivado también con bacterias nitrificantes y una fuente de carbón inorgánico y presentaron una excelente habilidad de nitrificación (Tay *et al.*, 2002b y Tsuneda *et al.*, 2003). En años recientes se estudió la posibilidad de la formación de gránulos aerobios con agua residual doméstica en reactores discontinuos (De Kreuk y van Loosdrecht, 2006).

Cuando los gránulos se alimentan con glucosa han presentado una estructura donde destacan las formas filamentosas (Figura 3.2a) mientras que con acetato no se observan filamentos y tienen una estructura bacteriana muy compacta (Figura 3.2b). Lo anterior sugiere que la microestructura y la diversidad de especies dependen del tipo de la fuente de carbono orgánico.

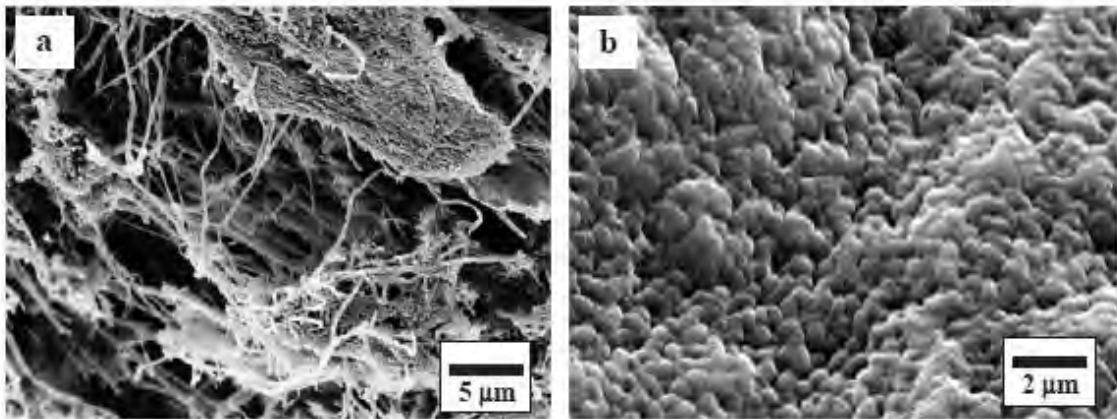


Figura 3.2. Microestructura de gránulos aerobios alimentados con glucosa (a) y acetato (b). (De Kreuk y van Loosdrecht, 2006).

3.1.3.2 Carga orgánica

La carga orgánica es un parámetro operacional muy importante en los procesos de lodos activados convencionales, se define como la tasa de alimentación del sustrato a la masa de microorganismos. En la formación de gránulos anaerobios, la carga orgánica es uno de los factores críticos; al incrementar la carga orgánica aumenta la formación de gránulos anaerobios de flujo ascendente (UASB, por sus siglas en inglés, upflow anaerobic sludge blanket). Sin embargo, los gránulos aerobios se forman en un amplio rango de cargas orgánicas de 1.5 a 2.5 kg DQO/m³·d (Moy *et al.*, 2002; Liu *et al.*, 2003a). Tay *et al.* (2004) reportaron que fue difícil formar gránulos con cargas orgánicas mayores de 2 kg DQO/m³·d. Un estudio acerca del efecto de la carga orgánica en la formación y

estabilidad de los gránulos mostró que una carga orgánica baja produce una formación lenta de gránulos y se requiere un tiempo más largo para alcanzar un estado estacionario. Las características físicas tales como el tamaño del gránulo dependen de la carga orgánica, Liu *et al.* (2003a) reportó que el tamaño de los gránulos aerobios incrementó con el aumento de la carga orgánica. Un incremento en la carga orgánica puede mejorar la velocidad de crecimiento de la biomasa, por lo que puede ocurrir la debilidad de la estructura tridimensional de la comunidad microbiana (Liu *et al.*, 2003c).

3.1.3.3. Fuerzas hidrodinámicas

En un reactor discontinuo de columna la fuerza cortante hidrodinámica se debe a la aireación del sistema y puede ser descrita por la velocidad de ascensión del aire. Shin *et al.* (1992) y Tay *et al.* (2001a) reportan que la formación de los gránulos aerobios y su estabilidad se ve favorecida con una fuerza cortante hidrodinámica alta. Las fuerzas hidrodinámicas altas en un reactor discontinuo producen gránulos más densos y compactos, favorecen la producción de polímeros extracelulares y la actividad microbiana. De Kreuk y Van Loosdrecht (2006) y Tay *et al.* (2001a) operaron cuatro reactores discontinuos en paralelo incrementando las velocidades de aeración y reportan que los gránulos se formaron únicamente con una velocidad superficial de aire mayor que 1.2 cm/s. Gránulos aerobios más regulares, redondos y compactos se desarrollaron a una fuerza hidrodinámica alta. Se reportó que la producción de polisacáridos extracelulares se asoció con la fuerza hidrodinámica y la estabilidad de los gránulos aerobios. También se encontró que la granulación aerobia se relaciona con la producción de polisacáridos extracelulares (Tay *et al.*, 2001c). Puesto que las sustancias poliméricas extracelulares son los componentes principales de los flóculos y las biopelículas, se piensa que desempeñan un papel dominante en todos los tipos de biopelículas incluyendo floculación y granulación. La superficie celular hidrofóbica se relacionó positivamente con el incremento del contenido

de proteína extracelular en el lodo. Algunas investigaciones sugieren que los polisacáridos juegan un papel importante en la formación de estos agregados microbianos. El incremento de la producción de polisacáridos extracelulares bajo una alta fuerza hidrodinámica puede contribuir a la estructura compacta y resistente de los gránulos aerobios. La presencia de proteína en la fracción extracelular es importante en la formación del gránulo, aunque la proteína tiene un alto contenido de aminoácidos cargados negativamente, la proteína está más involucrada en los enlaces electrostáticos que los carbohidratos con cationes multivalentes, un factor clave en la estabilización del agregado de la estructura cuyo diagrama se presenta en la figura 3.3.

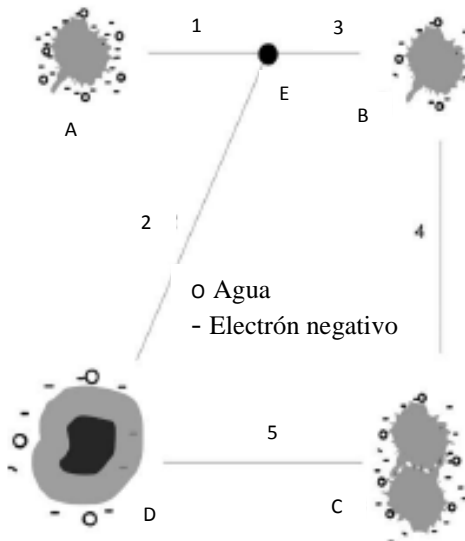


Figura 3.3. Ilustración del efecto de las sustancias poliméricas extracelulares en la formación y crecimiento de gránulos aerobios (Li *et al.*, 2006b).

3.1.3.4 Tiempo de sedimentación

La causa más frecuente del abultamiento de lodo es el crecimiento excesivo de organismos filamentosos. Cuando un excesivo número de filamentosos crece fuera del flóculo, los filamentos interactúan con otros y los flóculos no pueden

tener una sedimentación compacta. Como resultado, el lodo no se puede separar eficientemente del agua tratada resultado en un efluente de baja calidad. Las bacterias filamentosas no necesitan ser las especies más dominantes para causar el abultamiento de lodos. Cuando las bacterias filamentosas son menos del 20% de la población microbiana, ellas pueden dominar el lodo (Chiesa, 1982). Por lo que, pequeños cambios en la población dinámica puede resultar en cambios dramáticos en la estructura del lodo. Investigación extensiva ha guiado a entender qué condiciones afectan la dinámica de la población entre organismos formadores de fóculo y filamentosos y muchos factores operacionales importantes.

El tiempo de sedimentación actúa como una selección de la presión hidráulica en la comunidad microbiana. Un tiempo de sedimentación pequeño se selecciona preferentemente para el crecimiento de bacterias de rápida sedimentación y para desechar el lodo con una pobre sedimentabilidad. Qin *et al.* (2004) reportaron que los gránulos aerobios se cultivaron exitosamente y fueron dominantes en un reactor discontinuo operado a un tiempo de sedimentación de 5 minutos. La mezcla de gránulos aerobios y lodo suspendido se observó en reactores discontinuos operando con tiempos de sedimentación de 20, 15 y 10 minutos. La producción de polisacáridos extracelulares se estimuló y la superficie celular hidrofóbica aumento significativamente a tiempos de sedimentación cortos. Los gránulos con excelentes propiedades de sedimentación son esenciales para un funcionamiento efectivo de sistemas de tratamiento biológico.

3.1.3.5 Tiempo de retención hidráulica

En un reactor discontinuo el tiempo de retención hidráulica (TRH) sirve para seleccionar la comunidad microbiana en el sistema. Un TRH bajo puede suprimir el crecimiento de los sólidos suspendidos debido a la frecuencia de drenado del

material suspendido, con TRH extremadamente cortos se ha observado la pérdida de lodos, debido a que las bacterias no tienen el tiempo suficiente para reproducirse, esto puede provocar que el sistema colapse y no se formen gránulos. Por lo tanto el TRH no debe ser tan corto como para suprimir el crecimiento de microorganismos, pero lo suficientemente largo para que estos puedan reproducirse y aglomerarse (Liu y Tay, 2002).

El purgado de los flóculos es una condición esencial de operación para la granulación aerobia. Un tiempo de ciclo pequeño estimula la actividad microbiana y la producción de polisacáridos celulares. Esa selección hidráulica induce cambios microbianos favorables para la formación de gránulos nitrificantes. Tay *et al.* (2002) investigó el efecto del TRH en el desarrollo de gránulos nitrificantes y reportó que las bacterias no-nitrificantes en un reactor discontinuo operan a ciclos mayores de 24 horas y con ciclos menores a 3 horas las bacterias nitrificantes no se desarrollan. Excelentes gránulos nitrificantes se desarrollan con ciclos entre 6 y 12 horas.

3.1.3.6 Inanición aerobia

La fase de inanición juega un papel significativo en la formación de gránulos aerobios. Los pasos secuenciales de alimentación, aireación, sedimentación y descarga se llevan a cabo en los reactores discontinuos. Por lo que, los microorganismos se exponen periódicamente a fluctuaciones de la disponibilidad de sustrato, cuando el número de ciclos de operación aumenta es necesario disminuir el tiempo de degradación. La formación de gránulos aerobios se inicia por la inanición y se beneficia por la fuerza hidrodinámica, esto hace que las bacterias sean más hidrofóbicas lo cual facilita la adhesión o agregación (Bossier y Verstraete, 1996; Tay *et al.*, 2001a).

3.1.3.7 Otros factores que afectan la sedimentación

- *Influencia del régimen de alimentación*

La granulación aerobia se ha reportado solo en reactores de operación discontinua con un tiempo de llenado corto. Para analizar porque un sistema discontinuo necesita ciertas condiciones de operación algunos investigadores han citado trabajos de Chiesa *et al.* (1985), que muestran condiciones de hambre seleccionadas para una mejor sedimentación de lodo (Tay *et al.*, 2001). Sin embargo, no se han realizado investigaciones experimentales.

- *Concentración de oxígeno en combinación con la alimentación intermitente en la estabilidad del gránulo*

El patrón de alimentación es un factor crucial en el crecimiento del lodo aerobio granular (Beun *et al.*, 1999, 2000a). Una alimentación continua produce una concentración baja de sustrato en el reactor. En esos sistemas, el acetato se oxida por organismos heterótrofos de la capa superior del gránulo, mientras que los organismos autótrofos oxidan el amonio en las capas centrales en donde esta disponible el oxígeno pero el acetato esta ausente. No existen zonas sin sustrato y oxígeno por lo que no se lleva acabo la desnitrificación. Si la concentración de sustrato biodegradable en el líquido penetra rápidamente hasta la capa más profunda, no hay región sin sustrato y con oxígeno. En este caso, las bacterias heterótrofas compiten por el oxígeno con las bacterias que oxidan el amonio y por consiguiente no se lleva acabo la nitrificación.

En un reactor secuencial tipo airlift, donde crece el lodo granular aerobio, es un sistema apropiado para remoción simultánea de nitrógeno y de material orgánico carbonoso (nitrificación-desnitrificación simultánea). Condiciones especiales como tamaño del gránulo, concentración de oxígeno y relación DQO/N pueden producir un agregado rico en sustrato con una zona libre de oxígeno en el

interior (limitación de oxígeno), en el cual se lleva a cabo la desnitrificación (Beun *et al.*, 2001).

En el sistema de lodo granular, el sustrato se abastece en un periodo de tiempo corto. Las concentraciones altas de sustrato en el líquido originan una penetración de sustrato en las zonas profundas dentro del gránulo. Durante el periodo en el cual el sustrato externo es disponible y el oxígeno se consume rápidamente en las capas superiores por crecimiento, almacenamiento de sustrato y nitrificación. El oxígeno tiene una penetración limitada en las zonas profundas del gránulo en este periodo. El almacenamiento de acetato (como poli- β -hidroxibutirato o PHB) y el crecimiento ocurren de forma aerobia en la capa superior del gránulo o de forma anóxica en el interior. Durante el periodo sin sustrato externo (periodo o carencia de sustrato) el crecimiento se lleva a cabo por metabolización de los productos de almacenamiento interno de PHB a velocidades de crecimiento más bajas (Beun *et al.*, 2001). La penetración de oxígeno durante el periodo de escasez será más alta porque disminuye la velocidad de respiración de los organismos heterótrofos pero será limitada debido al incremento de la nitrificación (Third *et al.*, 2003), el nitrato producido se puede desnitrificar simultáneamente dentro del gránulo usando el PHB como donador de electrones. El oxígeno necesario para la nitrificación limita la disminución de concentración de oxígeno.

La distribución de la biomasa dentro del gránulo afecta el funcionamiento de los procesos que se llevan a cabo en los reactores. En los sistemas aerobios donde la remoción de material orgánico carbonoso y nitrógeno se llevan a cabo simultáneamente, los microorganismos heterótrofos y autótrofos compiten dentro del gránulo por espacio y oxígeno. Los microorganismos de crecimiento rápido (heterótrofos) se localizarán en las capas superiores mientras que los microorganismos de crecimiento lento (autótrofos) se confinan en las zonas más profundas del gránulo con disponibilidad de oxígeno más baja (van Loosdrecht *et al.*, 1995; Okabe *et al.*, 1995). Después de la fase de alta disponibilidad de

sustrato las bacterias nitrificantes obtienen suficiente oxígeno, a causa del incremento de la penetración de oxígeno, antes mencionada, cuando disminuyen los requerimientos de los organismos heterótrofos.

Para optimizar la remoción de nitrógeno en un reactor de gránulos aerobios, De Kreuk (2006) estudió el efecto de la disminución de la concentración de oxígeno disuelto. Es necesario disminuir la concentración de oxígeno disuelto para obtener una eficiente remoción de nitrógeno y un bajo requerimiento de energía. De Kreuk (2006) al alimentar un reactor de gránulos aerobios con un porcentaje de saturación de oxígeno del 40% la eficiencia de remoción de nitrógeno incrementó debido a un aumento en la desnitrificación. Sin embargo, en la estabilidad del lodo influyó negativamente, los gránulos se rompieron por la baja concentración de oxígeno. Con un porcentaje de saturación de oxígeno del 75% se desarrollaron gránulos con un diámetro promedio de 1.6 mm y obtuvo una remoción completa de amonio, sin embargo, el porcentaje de remoción de nitrógeno total fue del 16%. Parte de esta remoción se debió a la asimilación y otra parte a la desnitrificación.

- *Crecimiento lento de microorganismos para mejorar la estabilidad del lodo granular*

En los experimentos en laboratorio se han requerido altas concentraciones de oxígeno para obtener un gránulo estable, sin embargo, para obtener una eficiente aireación y buena desnitrificación se requieren concentraciones bajas de oxígeno disuelto (De Kreuk, 2006).

De las investigaciones más recientes acerca de la morfología de la biopelícula se sabe que el crecimiento lento de los microorganismos influye positivamente en la densidad y estabilidad de la biopelícula. Para disminuir la velocidad de crecimiento de los microorganismos en los gránulos aerobios, el sustrato fácilmente degradable se debe transformar a DQO lentamente degradable como

polímeros de almacenamiento microbiano (por ejemplo Poli-Hidroxy-Alcanoatos). Las bacterias acumuladoras de fosfato ó glucógeno llevan a cabo este paso de conversión más eficientemente, la selección de estas bacterias en gránulos aerobios producen un lodo aerobio estable con bajas concentraciones de oxígeno (De Kreuk, 2006).

3.2 Características de los gránulos aerobios

3.2.1 Morfología

La forma de los gránulos es casi esférica y con un contorno bien definido (Peng *et al.*, 1999; Tay *et al.*, 2001a,c; Zhu and Wilderer 2003). El diámetro promedio de los gránulos aerobios varía en un rango de 0.2 a 5 mm. Esto se debe principalmente a un balance entre el crecimiento y la separación abrasiva debida a la fuerza hidrodinámica fuerte en reactores aerobios (Liu y Tay 2002; Liu *et al.*, 2003g).

3.2.2 Densidad e intensidad

La gravedad específica de los gránulos aerobios se encuentra típicamente en un rango de 1.004 a 1.065 (Etterer y Wilderer 2001; Tay *et al.*, 2001a). Los gránulos con una alta intensidad física resisten a la abrasión (Toh *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2004).

3.2.3 Velocidad específica de utilización de oxígeno

La actividad microbiana de los microorganismos se caracteriza por la velocidad específica de utilización de oxígeno (SOUR). Un amplio rango de valores de SOUR para gránulos aerobios han sido reportados (Tay *et al.*, 2001b; Yang *et*

al., 2003b; Zhu y Wilderer 2003). Las reacciones bioquímicas asociadas con el metabolismo bacteriano muestra una relación lineal entre la utilización de oxígeno y la producción del bióxido de carbono: relativamente menos masa celular logra una alta utilización de oxígeno debido a que el metabolismo es más rápido y mucho del sustrato se convierte en bióxido de carbono. La actividad microbiana representada por SOUR se relaciona inversamente a la selección de la presión hidráulica en términos de tiempos de sedimentación (Quin *et al.*, 2004). La tasa SOUR es una característica importante para asegurar la habilidad de los gránulos aerobios para manejar aguas residuales industriales con cargas orgánicas altas.

3.2.4 Sedimentabilidad

El índice volumétrico del lodo de los gránulos aerobios puede ser menor a 20 ml/gSSV el cual es mucho más bajo que el de los flóculos convencionales (Liu *et al.*, 2003; Quin *et al.*, 2004). Esto implica que desde una perspectiva de ingeniería, la sedimentabilidad del lodo se puede mejorar significativamente a través de la formación de gránulos aerobios por lo que este se puede sedimentar en un clarificador más compacto. La velocidad de sedimentación de los gránulos aerobios se asocia con el tamaño del gránulo y la estructura y varía de 30 a 70 m/h.

3.2.5 Hidrofobicidad de la superficie celular

La hidrofobicidad celular es una fuerza de afinidad importante de la inmovilización de las células y de los procesos de agregación (Pringle y Fletcher 1983; Kos *et al.*, 2003). La hidrofobicidad del lodo granular es dos veces más alta que en un flóculo convencional.

3.2.6 Estabilidad de almacenamiento

La pérdida de estabilidad granular y actividad durante un período de espera extendido se asocia con la temperatura de almacenamiento. Una temperatura de almacenamiento alta acompañada con la ausencia de sustrato externo puede producir la respiración endógena y una desintegración rápida de los gránulos. La pérdida de la actividad granular y la integridad estructural durante el almacenamiento depende de la temperatura, duración y medio de almacenamiento y las características del gránulo. Comparado con un gránulo fresco la fuerza de los gránulos almacenados disminuye de un 7 a 8 % en un gránulo alimentado con glucosa y acetato, después de 4 meses de almacenamiento a 4 °C (Tay *et al.*, 2002c).

3.3 Estructura microbiana y diversidad

3.3.1 Estructura microbiana

El escaneo microscópico laser se ha utilizado con diferentes pruebas poligonucleótidas fluorocromos específicos y microesferas fluorescentes para estudiar la micro estructura de los gránulos aerobios (Tay *et al.*, 2002d, 2003a; Jiang *et al.*, 2003; Meyer *et al.*, 2003). Las bacterias aerobias oxidantes de amonio *Nitrosomonas spp.* se encontraron principalmente a una profundidad de 70 a 100 μm de la superficie del gránulo y gránulos aerobios con canales y poros que penetran a una profundidad de 900 μm debajo de la superficie del gránulo. La bacteria *Bacteroides spp.* se detectó a una profundidad entre 800 y 900 μm de la superficie del gránulo (Tay *et al.*, 2002e), mientras que una capa de células microbianas muertas se localizó a una profundidad de 800 a 1000 μm (Toh *et al.*, 2003). Por consiguiente, los gránulos más pequeños son más efectivos para

tratamiento aerobio de agua residual ya que sus gránulos tienen más células vivas dentro de un volumen de gránulos.

3.3.2 Diversidad microbiana

La diversidad microbiana de los gránulos aerobios se ha estudiado por técnicas de biotecnología molecular (Yi *et al.*, 2003; Tay *et al.*, 2002d; Jang *et al.*, 2003; Meyer *et al.*, 2003). Se han identificado bacterias heterótrofas, nitrificantes, desnitrificantes, acumuladoras de fosfato y glucógeno en gránulos aerobios desarrollados bajo diferentes condiciones (Jang *et al.*, 2003; Meyer *et al.*, 2003; Tsuneda *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2003). La diversidad microbiana se relaciona con la composición del medio de cultivo en los cuales se desarrollan, la presencia de bacterias anaerobias en los gránulos resulta en la producción de ácidos orgánicos y gases dentro del gránulo. Esos productos finales del metabolismo anaerobio pueden destruir los gránulos o por lo menos dañar su estabilidad.

Se han desarrollado diversas investigaciones acerca de los factores cruciales del desarrollo del gránulo. Sin embargo, en todos los estudios de la granulación aerobia, el posible papel que juegan los protozoos y hongos en el proceso de formación de la biopelícula y la interacción con las bacterias no se ha estudiado hasta ahora. Varios estudios sobre los hongos y protozoos en los sistemas de lodos activados, en general, muestran que estos organismos eucarióticos llevan a cabo una amplia variedad de tareas importantes en la conversión de biomasa y los procesos de clarificación del agua (Fried and Lemmer, 2003; Guest and Smith, 2002; Nicolau *et al.*, 2001 y Roessink and Eikelboom, 1997). Se sabe que los hongos y protozoarios están implicados en la formación, estructura y función de la biopelícula.

Interacciones entre protozoarios y bacterias:

En biopelículas granulares (Weber *et al.*, 2007) describen que la formación de los gránulos aerobios se puede dividir en tres fases consecutivas, etapas que se describen en la figura 3.4.

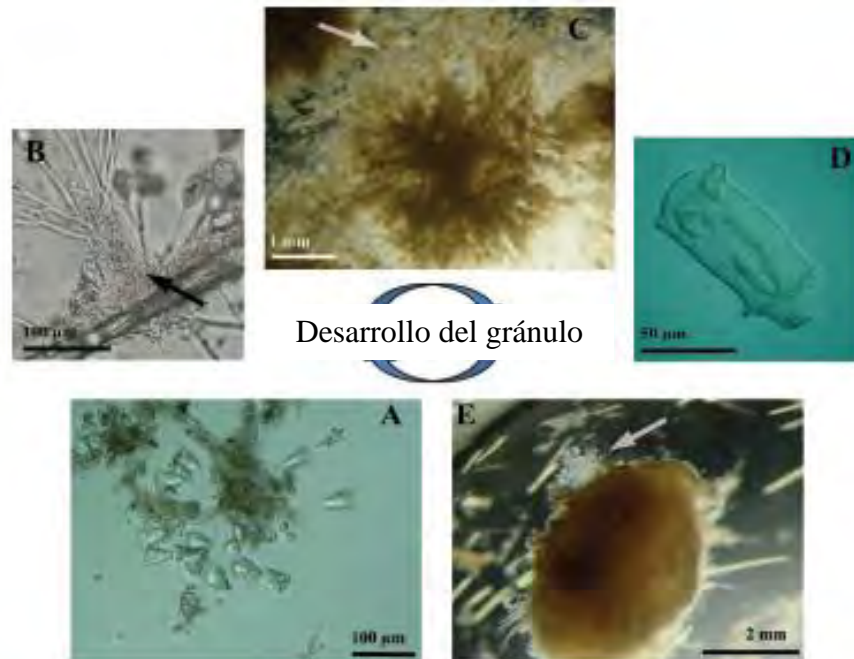


Figura 3.4. Etapas de desarrollo de gránulos (Weber *et al.*, 2007). Fase I. Formación de flóculos: A) Crecimiento de ciliados B) Colonización de ciliados fijos por bacterias. Fase II. Crecimiento de gránulo: C) el centro del gránulo consiste de bacterias y el resto ciliados. Fase III. Gránulo maduro: D) y E).

Los lodos activados compuestos de bacterias, sustancias poliméricas extracelulares, y algunas partículas. En la fase 1, los protozoarios ciliados de la subclase *Peritrichia* sedimentan en los flóculos del lodo activado y construyen nuevos tallos (Fig. 3.4A). Posteriormente, empiezan a proliferar y a formar grandes colonias, mientras que sus tallos son simultáneamente colonizados por

bacterias (Fig. 3.4B), (Aoi *et al.*, 2004). Después de unos días, varios cientos de células de ciliados cubren la superficie de cada flóculo. La mayoría de las veces los ciliados forman colonias parecidas a un árbol, los géneros de los ciliados que se presentan son *Opercularia* y *Epistylis*.

Durante la fase 2, se pueden observar flóculos condensados y un enorme crecimiento de ciliados (Fig. 3.4C). Durante la formación de estos flóculos voluminosos, una zona núcleo que consiste en restos de tallos de ciliados y las bacterias productoras de EPS. Los tallos de los ciliados sirven como una "columna vertebral" para el desarrollo del gránulo, ya que las bacterias los utilizan como sustrato para crecer. Los condensados agregados se consideran precursores de gránulo.

En el inicio de la fase 3, el cuerpo celular de los ciliados fijos se coloniza por células bacterianas las cuales se fijan a la biopelícula expandida. Después de un tiempo de estar cubiertas completamente (Fig. 3.5), muchos ciliados mueren durante este proceso. Algunos ciliados forman enjambres (células de nado libre) y salen de la biopelícula para escapar de la mortandad (Fig. 3.4D). Así, se forman gránulos bacterianos lisos y compactos (Fig.3.4E y Fig. 3.6). Estos gránulos maduros fueron colonizados paso a paso por ciliados de nado libre (Fig. 3.4E), que a su vez forman nuevos tallos y colonias usado como un sustrato para el crecimiento bacteriano. El tamaño del gránulo puede llegar a un estado de equilibrio debido a la abrasión y purgado.

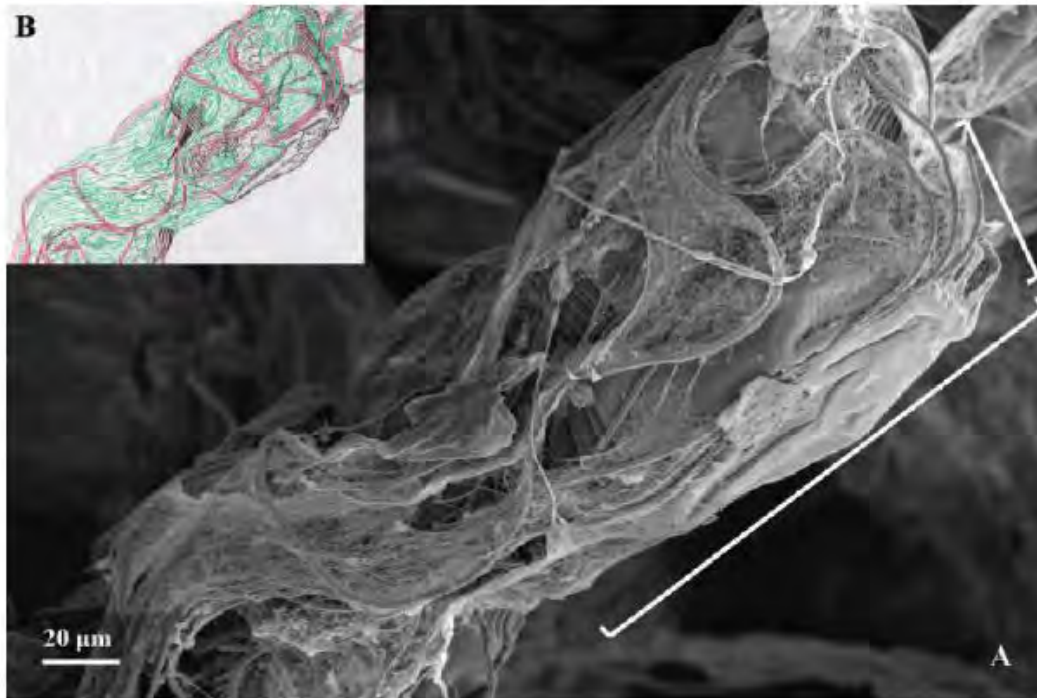


Figura 3.5. Ciliados muertos de los gránulos de un reactor discontinuo alimentado con agua de una cervecería (Weber *et al.*, 2007).

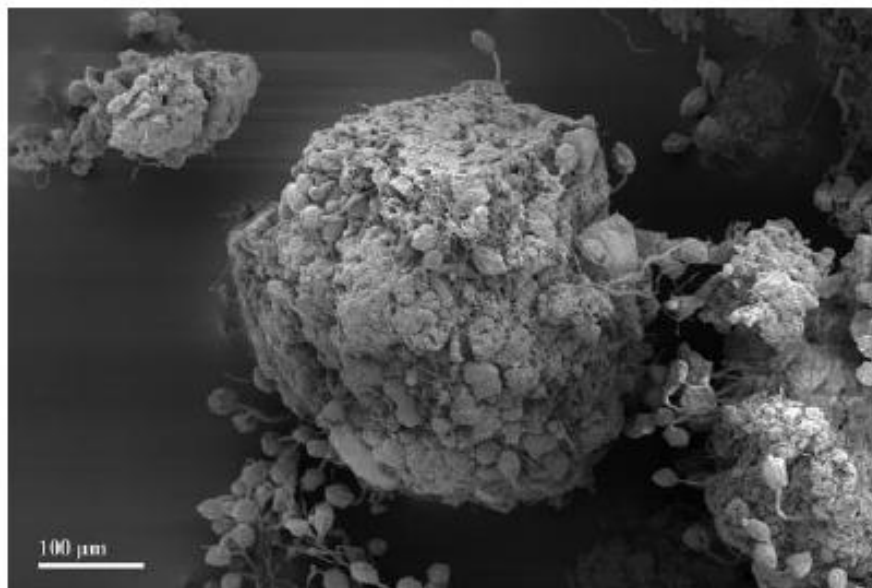


Figura 3.6. Gránulo maduro de un reactor discontinuo alimentado con agua residual sintética (Weber *et al.*, 2007). El gránulo es esférico y consiste de bacterias y sustancias poliméricas extracelulares.

De las observaciones realizadas por Weber *et al.*, 2007 se sabe que los protozoarios sirven como base para el crecimiento de las bacterias en los gránulos y pueden excretar compuestos que estimulan el crecimiento bacteriano (Ratsak *et al.*, 1994). Además, se informó recientemente de que los eucariotes y las bacterias interactúan sistemáticamente unos con otros a través de pequeñas moléculas (Dudler and Eberl, 2006).

Papel de los hongos

Los hongos se encuentran presentes en los gránulos sólo en algunos casos. Cuando las esporas de los hongos germinan en los flóculos de los lodos activados, las bacterias utilizan sus hifas como sustrato para crecer. Weber *et al.* (2007) observaron que los hongos no están presentes en exceso y se pueden desarrollar en agua residual sintética. En los análisis microscópicos se encontraron restos de hifas en la parte interior del gránulo. Durante algunos días crecieron algunos hongos, pero posteriormente desaparecieron. Weber *et al.* (2007) explican que puede ser porque los ciliados compiten con los hongos por los nutrientes. En algunos casos se pueden observar ciliados y hongos filamentosos crecer juntos en algunos gránulos.

En estudios recientes se reporta que en algunos casos los hongos inician la estructura granular ya que sirven como una matriz de inmovilización de las bacterias. Los hongos más tarde desaparecen debido a la lisis celular en la parte interior del gránulo. Se sabe también que algunos hongos mejoran la bioconversión de los lodos activados (Mannan *et al.*, 2005) y realizan la nitrificación y desnitrificación en las altas tasas (Guest and Smith, 2002).

4. METODOLOGÍA

La experimentación se dividió en dos etapas: etapa de arranque y estabilización y etapa de evaluación. En la primera etapa se inició con el acondicionamiento, arranque y estabilización del reactor bajo la modalidad de reactor de operación discontinua secuencial (SBR por sus siglas en inglés). En la segunda etapa se evaluó el comportamiento del reactor con dos diferentes tiempos de aireación y manteniendo constantes: tiempo de llenado, tiempo de sedimentación, tiempo de vaciado, concentración de DQO en el influente y concentración de oxígeno disuelto.

4.1 Unidad experimental

Se instaló un reactor cilíndrico de acrílico con una altura de 120 cm, 15 cm de diámetro y un volumen útil de 18 litros. De los cuales el volumen de recambio corresponde a 9 litros (50% del volumen total) (De Kreuk, 2006). Como el reactor

se trabajó bajo condiciones aerobias, en la parte inferior se instaló un difusor de manguera flexible, a través del cual se suministró aire para proporcionar oxígeno y mezclado del reactor. El caudal de aire suministrado fue de 3.5 L/min.

El reactor se alimentó con dos bombas peristálticas de caudal variable, con una se adicionó agua residual sintética (concentrado) y con la otra, agua potable. Para el vaciado se instalaron dos bombas peristálticas de caudal variable.

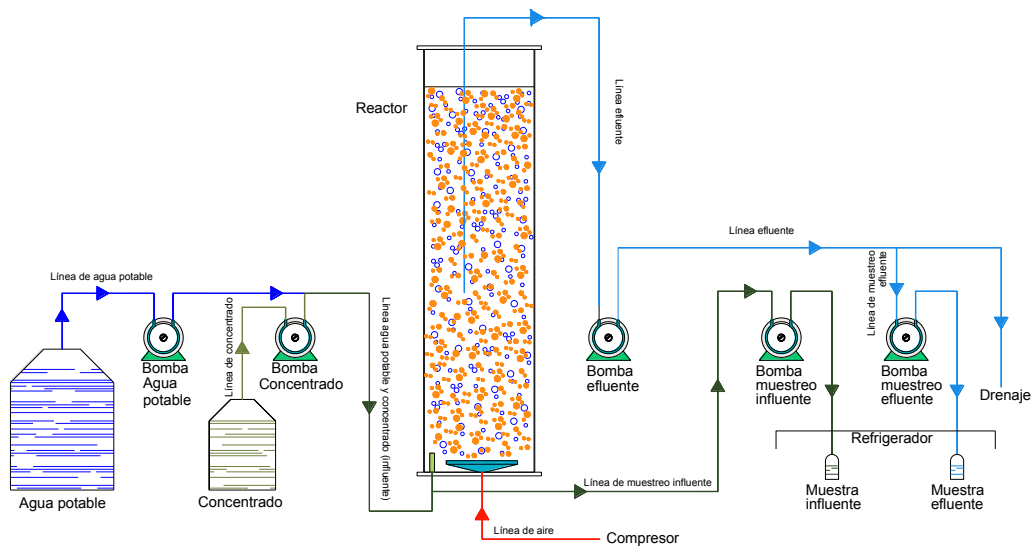


Figura 4.1 Unidad experimental

4.2 Composición del agua sintética

En este experimento se utilizó agua residual sintética para mantener constante la concentración de amonio en el influente del reactor. No se utilizó agua residual doméstica debido a que su concentración de amonio se ve afectada en el período de lluvias.

El agua residual sintética utilizada en el experimento fue preparada con concentraciones de nitrógeno y fósforo típicas de un agua residual doméstica: 30 mg N-NH₄⁺/L, 10 mg P-PO₄⁺/L y una DQO de 300 mg/L. Como fuente de carbono se utilizó acetato (C₆H₁₂O₆) y proteína vegetal hidrolizada (de glúten de maíz), adicionalmente, se proporcionan a los microorganismos los micronutrientes necesarios para que desarrollen sus funciones metabólicas y catabólicas sin limitantes. Los reactivos utilizados para preparar el agua residual sintética se presentan en la tabla 4.1.

Tabla 4.1 Composición del agua residual sintética Pérez (2008).

Nutrientes	Compuesto	Formula Química	Equivalencia
		Macronutrientes	
Carbono	Acetato	$C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$	150 mgDQO/L
	Proteína vegetal	*	150 mgDQO/L
Nitrógeno	Sulfato de amonio	$(NH_4)_2SO_4$	30 mgN/L
Fósforo	Fosfato diácido de potasio	KH_2PO_4	10 mgP/L
		Micronutrientes	
Calcio	Cloruro de calcio deshidratado	$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	2 mgCa/L
Magnesio	Sulfato de magnesio heptahidratado	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5 mgMg/L
Hierro	Cloruro férrico	$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	1 mgFe/L
Zinc	Cloruro de zinc	$ZnCl_2$	0.01 mgZn/L
Manganeso	Sulfato de manganeso monohidratado	$MnSO_4 \cdot H_2O$	0.07 mgMn/L
Cobre	Cloruro de cobre	$CuCl$	0.008 mgCu/L
Aluminio	Cloruro de aluminio	$AlCl_3$	0.004 mgAl/L
Boro	Ácido bórico	H_3BrO_3	0.004 mgB/L
Níquel	Cloruro de níquel	$NiCl_2$	0.001 mgNi/L

El agua residual sintética se preparó a partir de un concentrado que se mantenía en refrigeración. Mediante una bomba peristáltica, en cada ciclo, se adicionó un volumen de concentrado, el cual se mezcló con agua potable de tal manera que se alcanzará la concentración propuesta de nitrógeno, fósforo, materia orgánica y micronutrientes.

4.3 Condiciones de operación del reactor

Liu *et al.* (2006) observó que al someter a los cultivos mixtos de microorganismos a periodos repetitivos de carencia de sustrato favorece la granulación microbiana. Sin embargo, tiempos de carencia de sustrato

excesivamente largos provocan consumos extras de energía y baja capacidad de producción celular de los sistemas. De aquí que, el objetivo de este trabajo es investigar el efecto del tiempo de aireación en la formación de gránulos aerobios, así como evaluar su efecto en la remoción de materia orgánica.

La propuesta de trabajo consistió en llevar a cabo dos corridas experimentales: a) 2 ciclos diarios de 12 h y b) 4 ciclos diarios de 6 h. Los ciclos comprendieron cuatro fases principales: llenado, reacción, sedimentación y vaciado. Los tiempos de llenado, sedimentación y vaciado se mantuvieron constantes en ambos ciclos. El tiempo de aireación fue la única fase que se varió, en la tabla 4.2 se presentan la duración de cada una de las fases en los dos ciclos a experimentar.

Tabla 4.2. Tiempo de duración de las fases en los ciclos de 12 y 6 horas (2 y 4 ciclos/d, respectivamente).

Ciclos/d	2	4
T _{ciclo} (min)	720	360
T _{llenado} (min)	30	30
T _{reacción} (min)	680	320
T _{sedimentación} (min)	5	5
T _{vaciado} (min)	5	5

La concentración propuesta de microorganismos como SST en el reactor, fue de 2500 mg/L para una alimentación de sustrato medida como DQO de 300 mg/L. En la tabla 4.3 se presenta la operación del reactor en cada ciclo con respecto a la carga orgánica, microorganismos y sustrato.

Tabla 4.3. Operación hidráulica de los reactores.

Corrida	Q (m ³ /d)	CO kgDQO/kgSST·d	X (mgSST/L)	So (mgDQO/L)	n (Ciclos/d)	V _f /V _t
1	0.018	0.12	2500	300	2	0.5
2	0.036	0.24	2500	300	4	0.5

Donde V_f corresponde al volumen de recambio y V_t, al volumen total de reacción.

Cálculo de carga orgánica

$$V_t = V_{\text{reactor}} = 18 \text{ L} = 0.018 \text{ m}^3/\text{d}$$

$$\text{DQO} = 0.3 \text{ kg}/\text{m}^3$$

$$Q = (\text{número de ciclos}/\text{d}) \cdot V_{\text{recambio}}$$

$$V_f = V_{\text{recambio}} = 9 \text{ L}$$

$$\text{SST} = 2.5 \text{ kg}/\text{d}$$

Para la primera corrida:

$$Q = 2 \times 9 = 18 \text{ L}/\text{d} = 0.018 \text{ m}^3/\text{d}$$

$$\text{CO} = Q \cdot \text{DQO} / \text{SST} \cdot V_{\text{reactor}}$$

$$\text{CO} = (0.018 \text{ m}^3/\text{d} \cdot 0.3 \text{ kg DQO}/\text{m}^3) / (0.018 \text{ m}^3/\text{d} \cdot 2.5 \text{ kgSST}/\text{d})$$

$$\text{CO} = 0.12 \text{ kgDQO}/\text{kgSST} \cdot \text{d}$$

4.4 Etapas de experimentación

4.4.1 Arranque y estabilización del reactor

4.4.1.1 Inoculación

En esta fase se inoculó el reactor con gránulos anaerobios provenientes de un reactor UASB y con lodos activados de la planta de tratamiento de aguas residuales de Tlalnepantla de Baz.

De acuerdo a Linlin *et al.* (2005) es posible llevar a cabo la granulación aerobia en un reactor de operación discontinua inoculando gránulos anaerobios. Estos autores reportan que los gránulos anaerobios experimentan un proceso de desintegración, recombinación y crecimiento. En primer lugar, los lodos anaerobios en condiciones aerobias se desintegran después de la inoculación, formando pequeños flóculos irregulares y detritos; a continuación los flóculos y los detritos se recombinan en condiciones aerobias, y por último, crecen dando lugar a la formación de gránulos aerobios.

Al reactor se le inoculó un litro de gránulos anaerobios y 9 litros de lodos activados; posteriormente se agregó agua residual sintética hasta un volumen de 18 litros obteniendo una concentración de SST en el licor mezclado de 4000 mg/L. La cual varió en los primeros días de arranque del reactor, se asumió que en este periodo disminuiría debido a la pérdida de los microorganismos que no sedimentan rápidamente.

Se inició la operación del reactor con la primera corrida de 2 ciclos por día (2 ciclos de 12 horas).



a) gránulos anaerobios



b) lodo activado



c) Combinación de gránulos anaerobios
y lodos activados

Figura 4.2. Inoculación del reactor

4.4.1.2 Muestreo y análisis

En la etapa de estabilización, se realizaron mediciones de pH (para evitar la inhibición de microorganismos), temperatura (para el desarrollo bacteriano), oxígeno disuelto (para que no sea un factor limitante en el metabolismo), DQO_{sol} , SST, $N-NH_4$ y $P-PO_4$. La toma de muestras se realizó en el influente y efluente del reactor y se tomaron muestras compuestas de 24 horas, dos veces por semana.

El monitoreo del oxígeno disuelto y temperatura se realizó con un medidor YSI-500, el pH se midió con potenciómetro. Los análisis de DQO, nitrógeno y fósforo se realizaron mediante métodos colorimétricos, en la tabla 4.4 se indican los métodos de análisis que se emplearon en el laboratorio para el análisis de las muestras.

Para evaluar la capacidad de sedimentabilidad del lodo se realizó la medición del índice volumétrico de lodos en el licor mezclado.

Tabla 4.4. Técnicas analíticas.

Parámetros	Técnicas analíticas
Temperatura	Termómetro
pH; unidades de pH	Electrométrico (NMX-AA-008-SCFI-2000)
OD; mg/L	Electrodo de Membrana (NMX-AA-012-SCFI-2001)
Sólidos Sedimentables; ml/l	Cono imhoff (NMX-004-SCFI-2000)
DQO	Reflujo Cerrado cerrado por fotometría 0-150 mg/L Spectroquant
SST	Gravimétrico (NMX-AA034-SCFI-2001)
N-NH ₄ ⁺	Método fotométrico-Reacción de Berthelot (indofenol) 0.05-3 mg/L Spectroquant
P-PO ₄ ³⁻	Método fotométrico-Vanadato-molibdato 0.5-15 mg/L Spectroquant

4.4.2 Segunda etapa: evaluación del comportamiento del reactor en ciclos de aireación

En esta etapa se analizó el comportamiento del efecto de la duración del ciclo en la granulación aerobia para la remoción de materia orgánica, nitrógeno y fósforo. El programa de muestreo para esta etapa se presenta a continuación.

4.4.2.1 Muestreo y análisis

Una vez estabilizado el sistema se tomaron muestras compuestas de 24 horas en el influente y efluente del reactor por medio de dos bombas peristálticas que descargaban a recipientes en refrigeración. Para cada corrida los muestreos se realizaron tres veces por semana, en la tabla 4.5 se presenta el plan de muestreo para esta etapa de experimentación.

Tabla 4.5. Plan de muestreo durante la segunda etapa de experimentación.

Parámetro	Influente	Efluente	Reactor (licor mezclado)
Oxígeno disuelto			X
Temperatura			X
pH			X
Sólidos sedimentables			X
SST	X	X	X
DQO _{soluble}	X	X	
N-NH ₄	X	X	
P-ortofosfatos	X	X	

4.5 Parámetros cinéticos

Para los ciclos propuestos se determinó la relación entre la cantidad de sólidos que se encuentran dentro del sistema y la cantidad de sólidos que salen por unidad de tiempo definida como tiempo de retención celular. Se utilizó la

siguiente ecuación para calcular el tiempo de retención celular de los gránulos aerobios en cada ciclo propuesto.

$$TRC = \frac{X_{VSS} V_r}{(X_e V_e) \cdot \text{Número de ciclos diarios}} \dots\dots\dots \text{Ecuación 1}$$

Donde:

X_{VSS} = Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el reactor (g/L)

V_r = Volumen útil del reactor (L)

X_e = Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el efluente (g/L)

V_e = Volumen del efluente descargado en cada ciclo (L)

Se espera un incremento en el tiempo de retención celular con cada incremento en el tiempo de operación del ciclo.

Como los periodos de hambre podían presentarse en los dos ciclos propuestos, la velocidad de crecimiento específica de la biomasa (μ_{obs}) durante todo el ciclo, incluyendo el periodo de hambre o carencia de sustrato, es más importante para el diseño del reactor y la optimización de la operación que la velocidad de crecimiento de la biomasa. De acuerdo a la correlación entre μ_{obs} y el TRC como lo muestra la ecuación 2, μ_{obs} es inversamente relacionada al TRC en estado estacionario.

$$\frac{1}{\mu_{obs}} = TRC \dots\dots\dots \text{Ecuación 2}$$

La producción de la biomasa observada (Y_{obs}) es la relación de la producción de la biomasa, incluyendo sólidos no metabolizados del influente, con la remoción del sustrato, la cual se puede calcular con la ecuación 3 cuando el reactor

alcanza el estado estacionario y la concentración de la biomasa se mantiene en un valor constante. Y_{obs} corresponde a la producción total de lodo (biomasa más sólidos del influente).

$$Y_{obs} = \frac{X_e}{C_i - C_e} \dots\dots\dots \text{Ecuación 3}$$

Donde:

Y_{obs} = Producción de la biomasa (mg SSV /mg DQO)

X_e = Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el efluente (mg/L)

C_i = Concentración de DQO en el influente (mg/L)

C_e = Concentración de DQO en el efluente (mg/L)

Para este experimento se espera que la producción de lodo disminuya con el incremento del tiempo del ciclo.

La velocidad específica de remoción de sustrato q_{obs} se puede calcular por la siguiente ecuación:

$$q_{obs} = \frac{(C_i - C_e)V_e / tc}{V_r X_{VSS}} \dots\dots\dots \text{Ecuación 4}$$

Donde:

q_{obs} = velocidad específica de remoción de sustrato (g DQO/g SSV·d)

C_i = Concentración de DQO en el influente (mg/L)

C_e = Concentración de DQO en el efluente (mg/L)

X_{VSS} = Concentración de sólidos suspendidos volátiles en el reactor (g/L)

V_r = Volumen útil del reactor (L)

tc = Tiempo del ciclo (d)

V_e = Volumen del efluente descargado en cada ciclo (L)

Con el propósito de evaluar la capacidad del reactor para remover la DQO, suministrada en el influente, por medio de los microorganismos presentes en el reactor bajo diferentes tiempos de aireación, se determinó la tasa específica de remoción de materia orgánica.

La tasa específica de remoción de materia orgánica se define como la masa de material orgánico, como DQO, eliminada con respecto a la cantidad de biomasa expresada como SST presente en el reactor por unidad de tiempo (ecuación 5):

$$TE = \frac{Q(DQO_i - DQO_e)}{V \cdot X} \dots\dots\dots (5)$$

TE = Tasa específica de eliminación de sustrato, kg DQO/kg SST·d

Q = Caudal, m³/d

DQO_i = Demanda química en el influente, kg DQO/m³

DQO_e = Demanda química en el efluente, kg DQO/m³

V = Volumen del reactor, m³

X = Sólidos suspendidos totales en el reactor, kg SST/m³

5. RESULTADOS

La experimentación se inició con un periodo de aclimatación del lodo activado y de los gránulos anaerobios al agua residual sintética. Durante este periodo la operación del reactor SBR se inició con un tiempo de sedimentación de 30 minutos y gradualmente fue disminuyendo a 20, 15, 8 y 6 minutos. Se inició con la corrida experimental de 2 ciclos diarios; después de 20 días del arranque del reactor se logró un tiempo de sedimentación de 6 minutos.

Los resultados que se muestran a continuación fueron obtenidos a lo largo de 84 días para la primera corrida experimental, de 2 ciclos por día, y 96 días para la segunda corrida experimental, de 4 ciclos diarios. Así mismo para la primera corrida se presenta el seguimiento de la morfología de los gránulos aerobios por medio de microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido y para la segundo ciclo microscopía óptica.

5.1 Comportamiento de los sólidos suspendidos totales

En la figura 5.1 se presenta el comportamiento de los sólidos suspendidos totales en el licor mezclado, durante los primeros 30 días se obtuvo una concentración de SST entre 4500 y 6000 mg/L. con estas concentraciones la biomasa sedimentaba rápidamente e inició el proceso de formación de gránulos aerobios. Se notó que en las paredes del reactor aparecieron pequeños organismos que semejaban a las lombrices probablemente por el tiempo de retención celular alto (48 días, con base en la fracción diaria de sólidos en el efluente).

Por lo anterior se decidió realizar un purgado de lodos el cual se efectuó del día 40 al día 50 extrayendo un volumen 270 mL cada tercer día. En la figura 5.1 se puede apreciar que una vez iniciada la purga de lodos los SST se tiene una concentración de 3000 mg/L. En el día 50 se suspendió el purgado de lodos y la concentración de SST varió en un rango de 2280 a 2975 mg/L.

Como se observará en la sección 5.2, la purga de lodos no afectó la concentración de DQO y el resto de los parámetros en el efluente. Sin embargo, se notó que la biomasa empezó a formar gránulos pero la estabilidad no permaneció más de una semana y los gránulos se desintegraban nuevamente. Liu *et al.*, 2007 en un reactor SBR de gránulos aerobios operado con un ciclo de 8 horas obtuvo una concentración de SST de 2910 mg/L similar a la primer corrida de este trabajo experimental.

La producción de biomasa observada (Y) en cada uno de los ciclos fue de 0.186 gSSV/gDQO para el ciclo de 12 horas y 0.193 gSSV/gDQO para el ciclo de 6 horas. Como se puede apreciar la producción de lodo incrementó con la disminución del tiempo de aireación. Los resultados muestran que se obtuvieron buenas remociones de materia orgánica con baja producción de lodos

residuales. Tay *et al.* (2004) reportaron que la producción de biomasa de un lodo activado con una carga orgánica de $4 \text{ kgDQO/m}^3\cdot\text{d}$ antes de la granulación fue de 0.3gSSV/gDQO mientras que la producción de biomasa con granulación aerobia con la misma carga orgánica fue de 0.1 gSSV/gDQO .

Al igual que en este trabajo Liu *et al.* (2007) observaron que la producción de biomasa disminuyó de 0.316 a 0.063 gSSV/gDQO cuando el tiempo del ciclo varió de 1.5 a 8h .

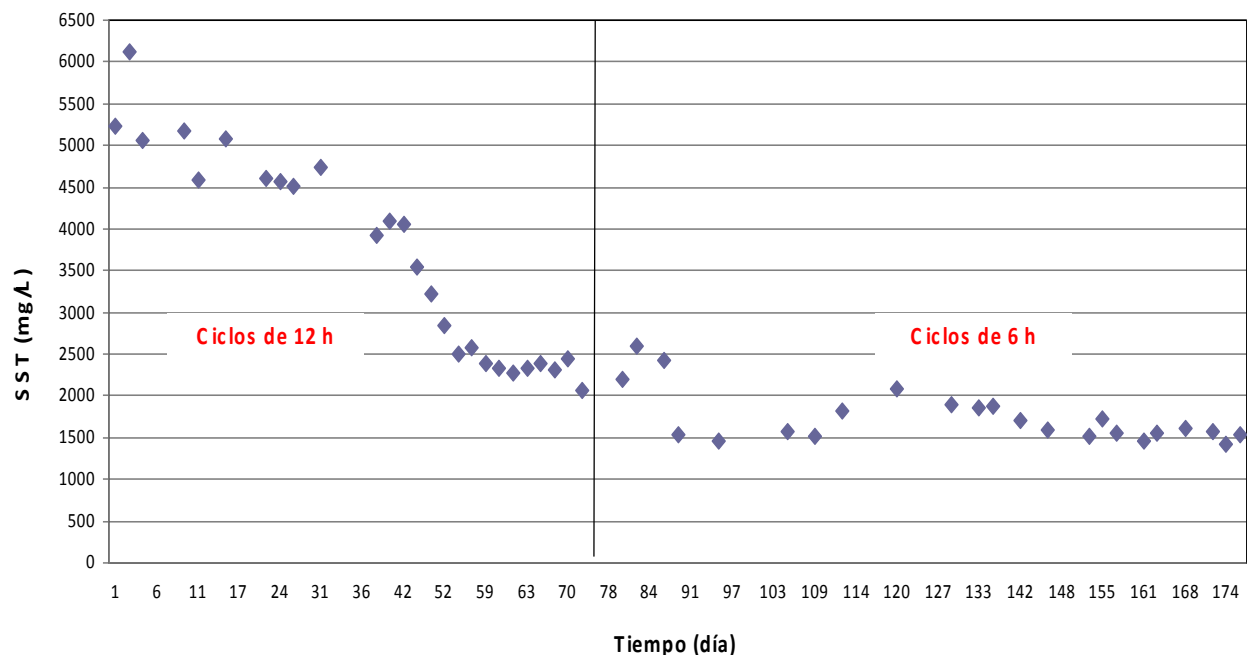


Figura 5.1. Comportamiento de los SST en las dos corridas experimentales

En la segunda corrida experimental (4 ciclos por día) se observó que los gránulos incrementaron su tamaño hasta 3 mm y tenían mayor estabilidad debido a que conservaron su estructura y ya no se desintegraban. De acuerdo a Morgenroth *et al.* (1997) un tiempo de retención hidráulica corto es benéfico para la formación de gránulos, Tijhuis *et al.* (1994) hacen la misma conclusión que un

tiempo de retención hidráulica bajo suprime el crecimiento de la biomasa en suspensión, debido al lavado de la misma.

Problemas en fuga de línea de alimentación de agua residual sintética durante 3 ciclos continuos llevaron a la desintegración de los gránulos. Observar el IVL en días 130 a 145 (ver figura 5.2).

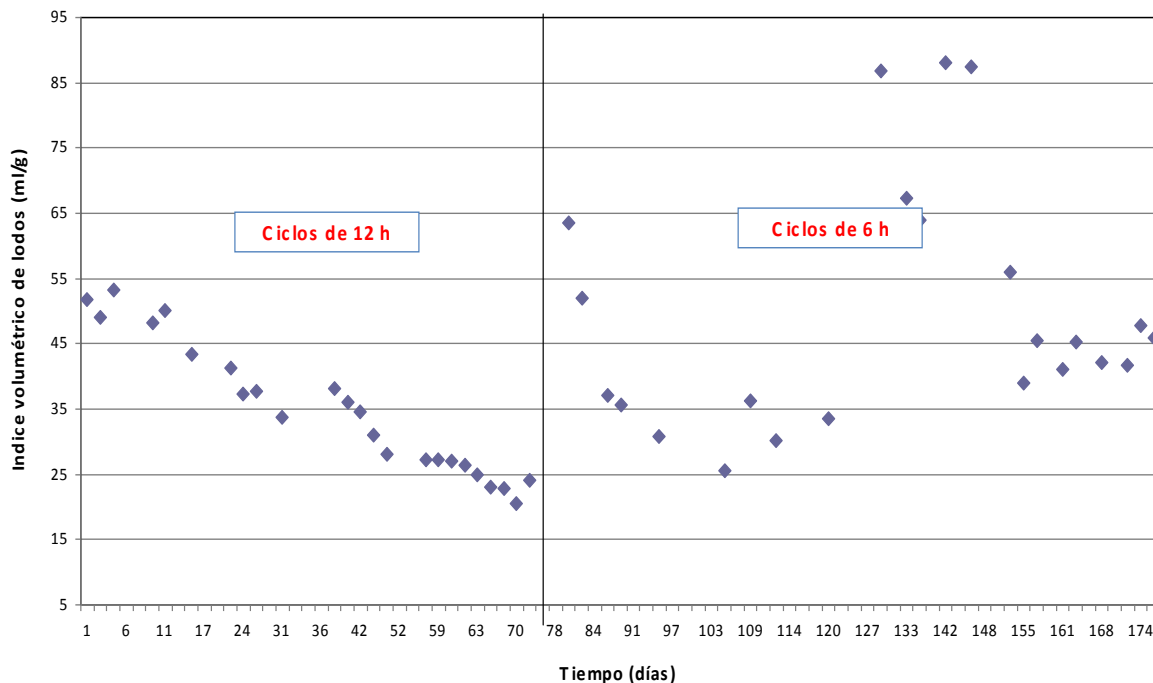


Figura 5.2 Comportamiento del IVL en las dos corridas experimentales.

Los gránulos se lograron formar nuevamente en un periodo de 20 días logrando obtener un tamaño máximo de 1mm a pesar que las condiciones de operación se mantuvieron iguales. Una vez formado el gránulo el IVL disminuyó hasta un promedio de 45 mL/gSST.

La figura 5.2 presenta el comportamiento del IVL, en la primer corrida experimental durante la formación de gránulos aerobios se puede observar que el IVL fue disminuyendo gradualmente hasta 35 mL/g. Una vez formados los

gránulos (día 40) el IVL osciló entre 20 y 30 mL/gSST. Al realizar el cambio de duración del ciclo empezaron a formarse gránulos más densos que incrementaron ligeramente la concentración de sólidos sedimentables y por ello el IVL vuelve a disminuir. En ambos ciclos se obtuvo biomasa de rápida sedimentación que poseía valores de índice volumétrico de lodos inferior a 45 mL/gSST. Tay *et al.* (2006) reportan que, generalmente, un lodo granular posee buenas características de sedimentación si los valores de IVL se encuentran entre 20 y 80 mL/gSST. Por lo tanto, con los resultados del IVL, la sedimentación del lodo en el reactor mejora después de la formación de gránulos. En ambos ciclos la velocidad de sedimentación es más alta que en un reactor de lodos activados donde el IVL tiene un rango entre 75 - 150 mL/gSST (Metcalf., 2004)

El IVL obtenido en este experimento se encuentra en el rango reportado para reactores con gránulos aerobios. Pérez (2008) reportó un rango de IVL entre 30 y 55 mL/gSST y Tay *et al.* (2006) obtuvieron un IVL entre 20 y 80 mL/gSST valores similares a los obtenidos en los dos ciclos de este experimento.

La figura 5.3 presenta el comportamiento de los SST en el efluente del reactor SBR en la primera y segunda corridas experimentales. En el primer ciclo evaluado (2 ciclos por día) se obtuvieron concentraciones en un rango de 22 a 97 mg/L con una concentración promedio de 57 mg/L y en la segunda corrida concentraciones entre 22 a 81 mg/L con un promedio de 52 mg/L. En el primer ciclo la concentración de SST es mayor con respecto al segundo esto debido probablemente a que en el primer ciclo los gránulos eran inestables y se desintegraban continuamente. En el segundo ciclo se observó que cuando los gránulos eran estables la concentración de SST se mantenía en un rango más estrecho (entre 40 y 60 mg/L).

Cuando se desintegraron los gránulos en el segundo ciclo la concentración de SST incrementó hasta 80 mg/L y al formarse nuevamente los gránulos, volvió a

disminuir al rango antes mencionado. Las concentraciones de SST obtenidas en el efluente para ambos ciclos muestran que los reactores con modo de operación discontinua de gránulos aerobios son sistemas de tratamiento que producen una calidad de agua residual tratada que cumple con los límites máximos permisibles de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-1996 para uso en riego agrícola y protección a la vida acuática.

Esta tecnología promueve el desarrollo de una Cultura del reuso del agua que mantenga vigentes los valores de protección y conservación del recurso. Ayuda a la conservación preservación del Acuíferos.

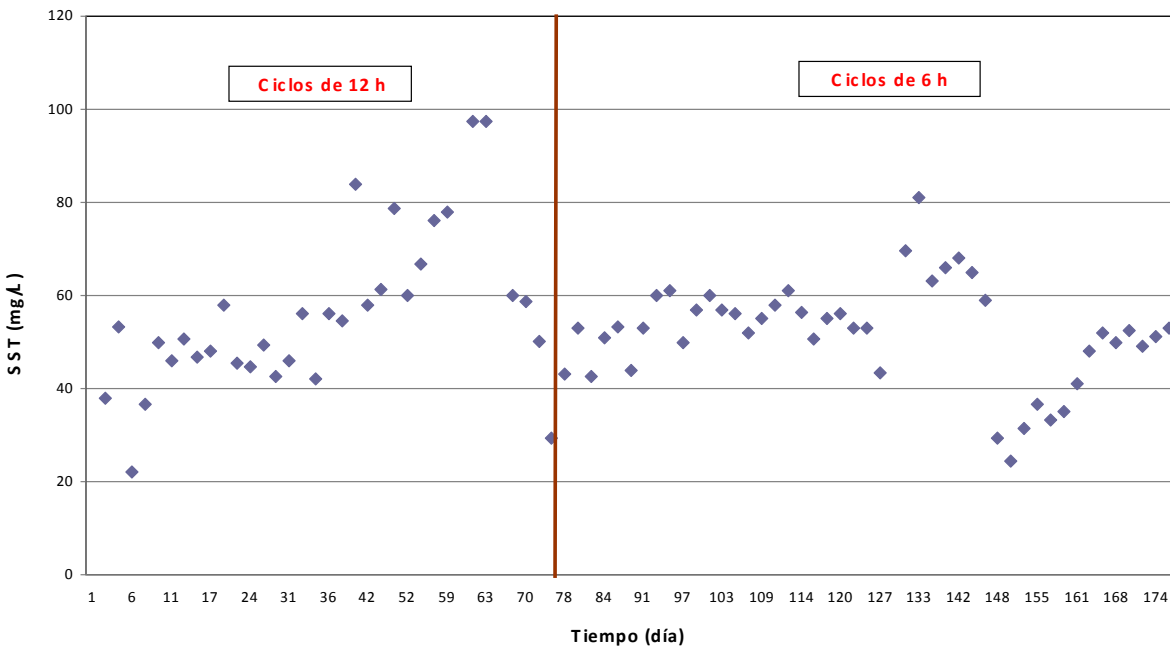


Figura 5.3. Comportamiento de SST en el efluente del reactor.

5.2 Demanda química de oxígeno disuelto (DQOs)

El contenido de materia orgánica fue determinado por medio de la DQO, se optó por medir DQO soluble (DQOs) como parámetro de referencia ya que las

sustancias que se emplearon para la preparación del agua sintética son solubles. Por la misma razón las determinaciones de DQO en el efluente fueron de este mismo tipo. Durante todo el período de experimentación se realizaron mediciones de muestras compuestas de 24 horas.

En la tabla 5.1 se presentan las concentraciones de DQO medidas en el influente y efluente del reactor SBR durante el primer y segundo ciclo. Con respecto al primer ciclo la DQOs en el influente se mantuvo entre 247 y 337 mg/L con una concentración promedio de 294 mg/L y en el efluente un rango de DQO entre 2 y 27 mg/L con un promedio de 13 mg/L de DQO, obteniendo una remoción promedio del 96%.

En el segundo ciclo, la DQOs del influente se mantuvo entre 244 y 347 mg/L con una concentración promedio de 291 mg/L y en el efluente en un rango de 4 a 36 mg/L con una DQO promedio de 16 mg/L, alcanzando remociones del 94 %.

Como se puede apreciar en la figura 5.4 las concentraciones de DQO en ambos ciclos se mantuvieron estables sin variaciones significativas entre ambos; para el primer ciclo durante los primeros 13 días la concentración de DQO se mantuvo en un rango entre 20 y 28 mg/L y a partir del día 15 hasta el término del ciclo se registraron concentraciones menores a 20 mg/L. Al disminuir la etapa de aireación de 680 min a 320 min (ciclos de 12h a 6h), la DQO en el efluente incrementó a 36 mg/L y dos días después disminuyó nuevamente a una concentración menor a 20 mg/L. En ambos ciclos se obtuvieron remociones de materia orgánica mayores al 90% sin reflejarse significativamente la disminución de remoción de materia orgánica con el incremento de la carga orgánica. Esto se debe probablemente a que en ambos ciclos la remoción de materia orgánica se logró aproximadamente en una hora de acuerdo a los perfiles de DQO realizados en un ciclo para las dos corridas experimentales.

Liu *et al.* (2005) que los reactores con gránulos aerobio producen efluentes con concentraciones de DQO menores a los de la tecnología de lodos activados (gránulos aerobios <30 mg/L de DQO vs lodos activados < 40 mg/L).

Tabla 5.1. Concentraciones de DQO en influente y efluente durante los dos ciclos.

	INFLUENTE		EFLUENTE	
	PRIMER CICLO (12 h)	SEGUNDO CICLO (6 h)	PRIMER CICLO (12 h)	SEGUNDO CICLO (6 h)
DQO MAX	337	347	27	37
DQO MIN	247	243	2	4
DQO PROMEDIO	294	290	13	16

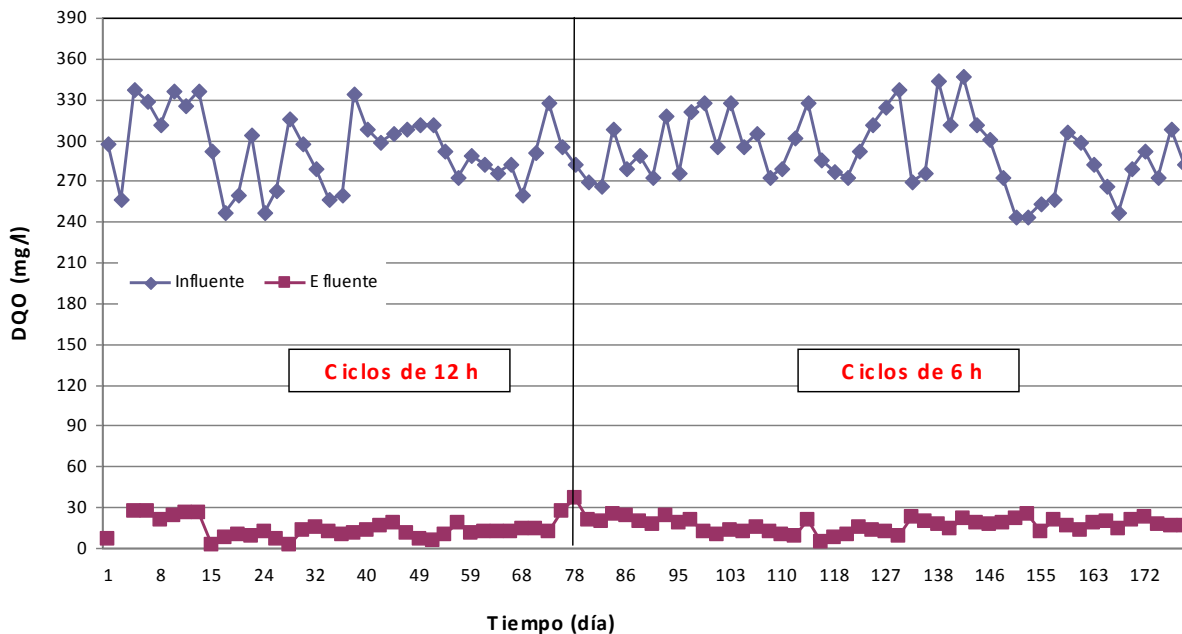


Figura 5.4. Comportamiento de la DQOs del influente y efluente del reactor SBR con gránulos aerobios en las corridas de 12 y 6 horas.

Cobos (2009) en un reactor de gránulos aerobios tipo flujo ascendente descendente y bajo una carga orgánica promedio de 0.17 kgDQO/kgSST·d obtuvo un efluente con una concentración de DQO entre 47 y 61 mg/L y Pérez (2008) en un reactor convencional SBR de gránulos aerobios operado con cargas orgánicas entre 0.8 y 1.7 kgDQO/kgSST·d, reportó concentraciones de DQO en el efluente de 55 y 90 mg/L, lo anterior muestra que los reactores SBR de gránulos aerobios tienen altas eficiencias en la remoción de materia orgánica y una excelente sedimentabilidad ya que obtienen remociones que permiten cumplir con los requerimientos de las normas oficiales mexicanas siempre y cuando las condiciones de operación sean las adecuadas para la formación y mantenimiento de los gránulos.

En la figura 5.5 se observa el comportamiento de la remoción de DQO con respecto a la carga orgánica, durante el primer ciclo se observa que las remociones oscilaron entre el 91 y 99% debido a las fluctuaciones de carga orgánica (entre 0.05 y 0.14 kgDQO/kgSST·d) resultado de la purga de lodos. Durante esta etapa no se logró estabilidad del sistema ya que los gránulos se desintegraban continuamente y los flóculos terminaban dominando el sistema.

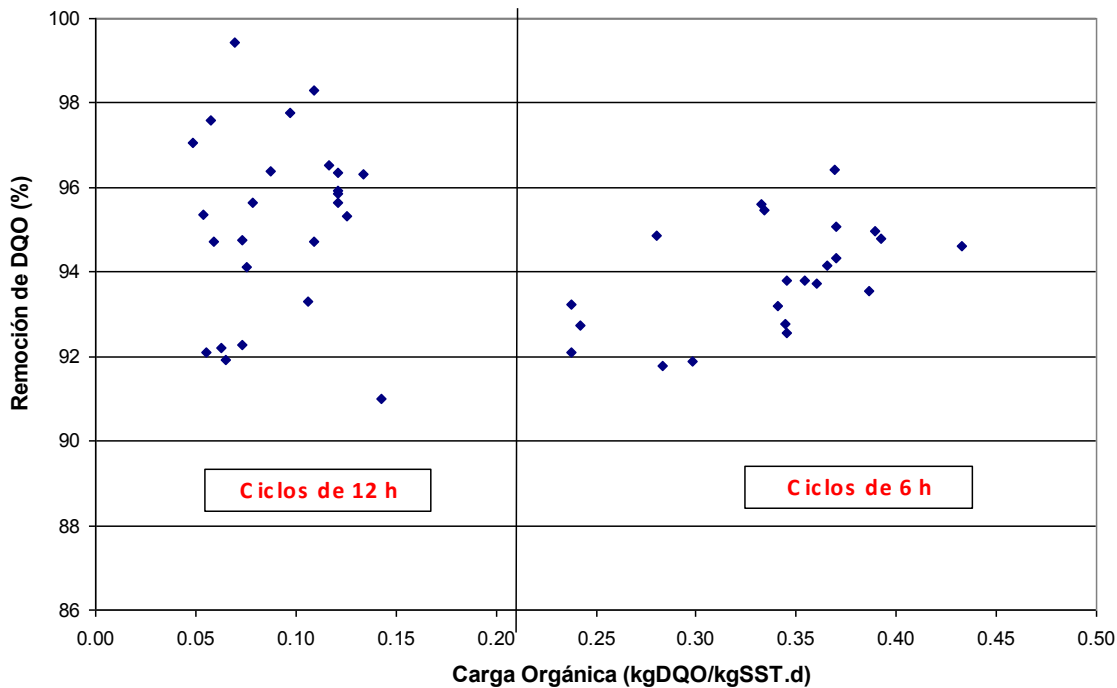


Figura 5.5. Comportamiento de la remoción de DQO con respecto a la carga orgánica.

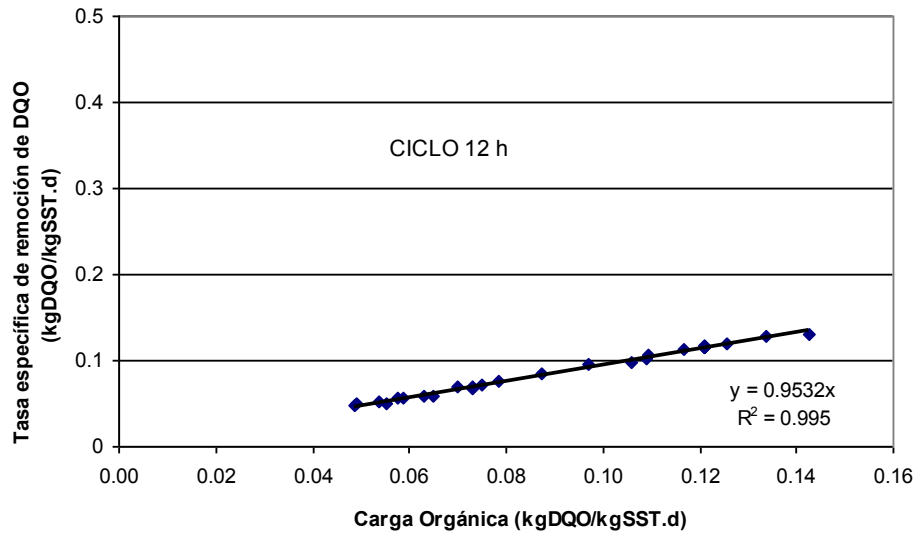
En la segunda corrida experimental operando el reactor bajo ciclos de 6 horas se tiene una carga orgánica promedio de 0.34 kgDQO/kgSST·d y remociones entre 92 y 96%. Como se puede observar en el segundo ciclo la eficiencia de remoción se encuentra en un rango más estrecho en comparación con el primero, sin embargo, no existe diferencia significativa entre ambos. Esta figura también muestra la tendencia que a mayores cargas orgánica se obtiene, menores remociones de DQO.

En la figura 5.6 se puede apreciar el comportamiento de la tasa específica de remoción (kgDQO/kgSST·d) con respecto a la carga orgánica (kgDQO/kgSST·d) para ciclos, así como las ecuaciones de las líneas de tendencia para cada uno. Las líneas de tendencia tienen un coeficiente de correlación por encima de 0.98, lo que indica que los datos obtenidos son confiables para su comparación. Las

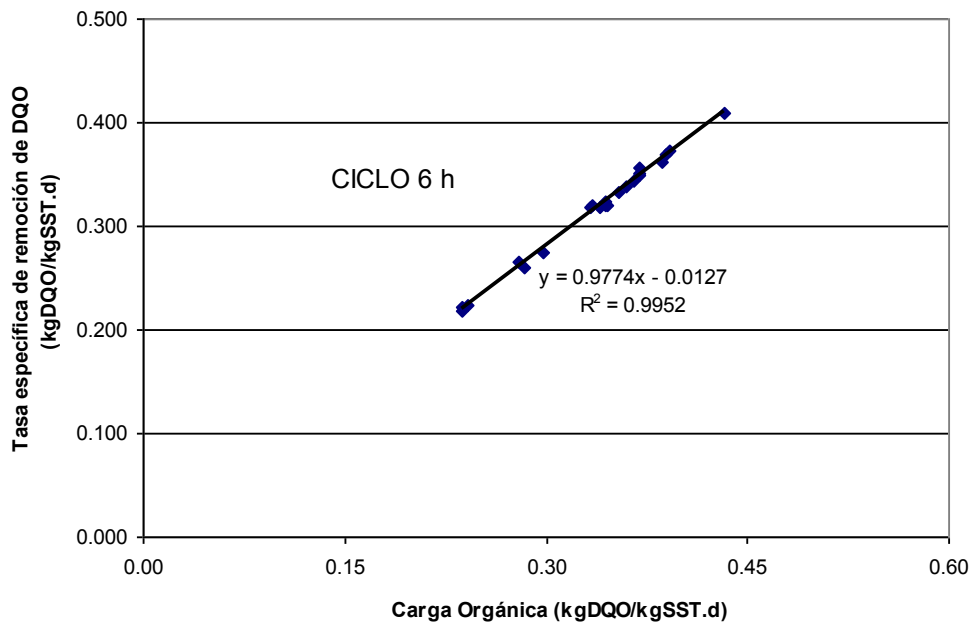
pendientes de cada una de las rectas, representan el promedio de las tasas específicas de remoción para cada ciclo. Obteniéndose una remoción promedio de DQO para el primer ciclo del 95% y del 91 % para el segundo ciclo.

En el primer ciclo figura 5.6 (a) se registraron cargas orgánicas entre 0.05 y 0.1 kg DQO/kg SST·d obteniendo tasas específicas de remoción que oscilaron entre 0.047 y 0.218 kg DQO/kg SST·d con un promedio del 95% con respecto a la carga orgánica aplicada. En el segundo ciclo figura 5.6 (b) (4 ciclos de 6 horas por día) se obtuvieron tasas específicas de remoción entre 0.212 y 0.332 kg DQO/kg SST·d a razón del 98% de la carga orgánica aplicada; en ambos ciclos se observa que el sistema presenta un buen desempeño en la remoción de DQO. Cobos (2009) obtuvo tasas específicas de remoción entre 0.21 y 0.43 kg DQO/kg SST·d para cargas orgánicas en un rango de 0.22 y 0.55 kg DQO/kg SST·d trabajando un reactor de flujo ascendente descendente de gránulos aerobios con 4 ciclos de 6 horas por día y un diámetro promedio de granulo de 0.85 mm).

Lui *et al.* (2007) con ciclos de 8 horas obtuvieron una tasa específica de remoción de sustrato de 15.5 kg DQO/KgSSV y 2.4 5 kg DQO/KgSSV para ciclos de 4 horas. Estos autores en su trabajo experimental utilizaron cargas orgánicas de 0.51 y 0.40 kgDQO/kgSST·d para ciclos de 8 y 4 horas respectivamente.



(a)



(b)

Figura 5.6. Comportamiento de la tasa de remoción de DQO con respecto a la carga orgánica. Ciclo de 12 h (a) y ciclo de 6 h (b).

5.3. Remoción de nitrógeno

El análisis general del primer ciclo con una carga orgánica entre 0.05 y 0.1 kg DQO/kg SST·d indica que hubo una completa nitrificación con una eficiencia de remoción promedio del 99%. En la figura 5.7 se puede observar que durante esta etapa la concentración promedio de $N-NH_4$ alimentada al sistema fue de 29.13 mg/L y se redujo a concentraciones menores a 0.5 mg/L en el efluente.

En el segundo ciclo también se obtuvo una completa nitrificación con una eficiencia de remoción promedio de amonio del 99 % y concentraciones promedio en el efluente de 0.2 mg/L. Con esto se puede asumir que ambos reactores tuvieron las condiciones apropiadas para que se desarrollaran las bacterias encargadas de transformar biológicamente el nitrógeno amoniacal en nitrógeno de nitrato asegurando la nitrificación.

Cobos (2009) en un reactor SBR convencional de gránulos aerobios obtuvo remociones de nitrógeno amoniacal del 80% con una carga orgánica de 0.43 kgDQO/kgSST.d y bajo condiciones aerobias/anóxicas con un reactor de flujo ascendente descendente obtuvo remociones de $N-NH_4$ del 89 %.

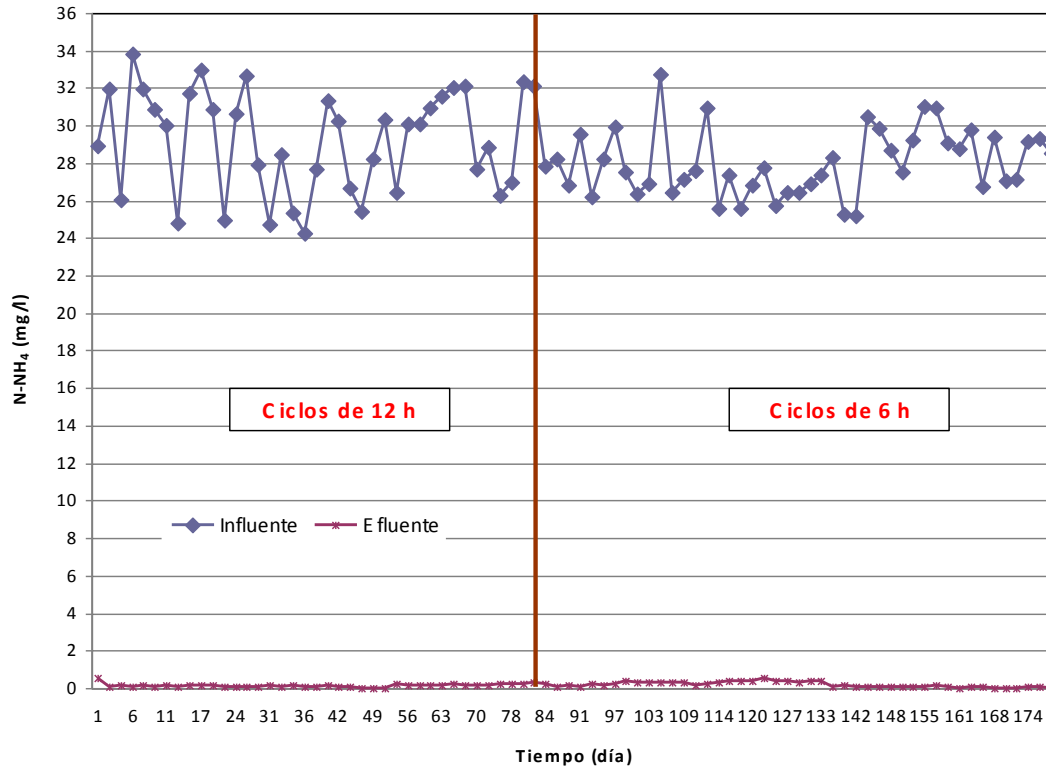


Figura 5.7. Comportamiento de N-NH_4 en el influente y efluente del reactor SBR en ambos ciclos.

En un reactor de granulos aerobios con una relación de N/C similar a la de este trabajo (1:5), Shi *et al.* (2009) alcanzaron eficiencias de remoción de N-NH_4^+ del 97%, mediante análisis de FISH y MPN encontraron que las bacterias nitrificantes llegaron a ser dominantes en los gránulos aerobios. Estos autores reportan que los gránulos maduros con un diámetro relativamente pequeño (0.85 mm, similar al de este estudio) favorecen la actividad de las bacterias nitrificantes. Shi *et al.* (2009) mencionan que los gránulos aerobios contienen canales y poros que penetran a una profundidad de 900 μm debajo de la superficie del gránulo. Tay *et al.* (2002) reportaron que la población nitrificante se localizada entre 70 y 100 μm de la superficie del gránulo y que los canales y poros facilitan el transporte de oxigeno dentro del gránulo.

Ni *et al.* (2009) también obtuvieron remociones similares de N-NH_4^+ del 90-99 % después de la formación de gránulos aerobios, sin remoción de nitrógeno total debido a que no incluyeron una fase anóxica en el ciclo del reactor que favoreciera esta reducción.

Como se puede observar en la figura 5.8 los dos ciclos alcanzaron eficiencias de remoción mayores al 90%, para el primer ciclo se obtuvo una eficiencia de remoción de amonio promedio de 99% y en el segundo ciclo la remoción promedio de amonio fue de 99%. Entre ambos ciclos no existe diferencia significativa esto debido a que ambos tuvieron suficientemente tiempo para llevar a cabo los procesos de remoción de materia orgánica y el de nitrificación. Como se vera en la sección 5.6 en un periodo aproximado de 3 horas el sistema fue capaz de remover tanto materia orgánica como amonio por lo que el ciclo podría reducirse hasta 4 horas. Resultados similares reportaron Ni *et al.* (2009), la remoción de la concentración de DQO la alcanzaron después de 20 minutos y la nitrificación completa al cabo de tres horas. Tay *et al* (2002) reportó que con ciclos entre 4 y 12 horas se desarrollan excelentes gránulos nitrificantes.

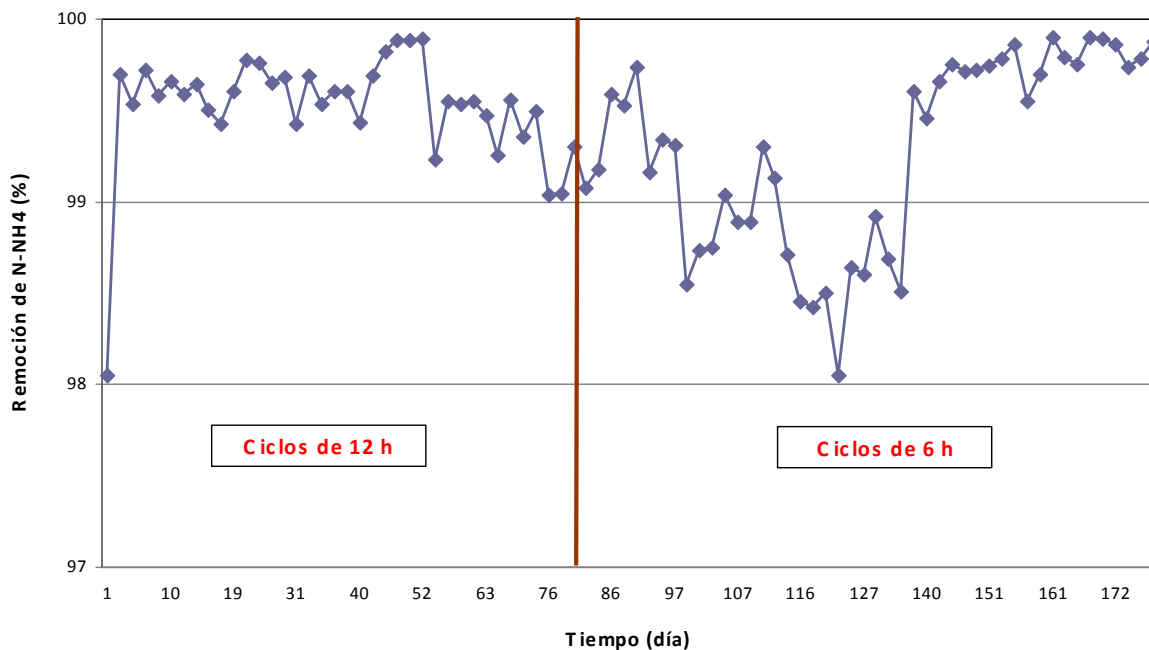


Figura 5.8. Comportamiento de la remoción de amonio en los dos ciclos.

5.4. Remoción de fósforo como ortofosfatos ($P-PO_4^{-3}$)

En la figura 5.9 se presentan las concentraciones de fósforo como ortofosfatos medidas en el influente y efluente del reactor para los dos ciclos. En el primer ciclo se observa que la concentración de fósforo alimentada al sistema se mantuvo en un rango entre 6.6 y 9.7 mg/L con un promedio de 7.7 mg/L y el segundo ciclo un promedio de 7.3 mg/L con una variación de 6.5 a 9.1 mg/L. En los dos ciclos se observa que la concentración de $P-PO_4^{-3}$ en el efluente es menor a la alimentada.

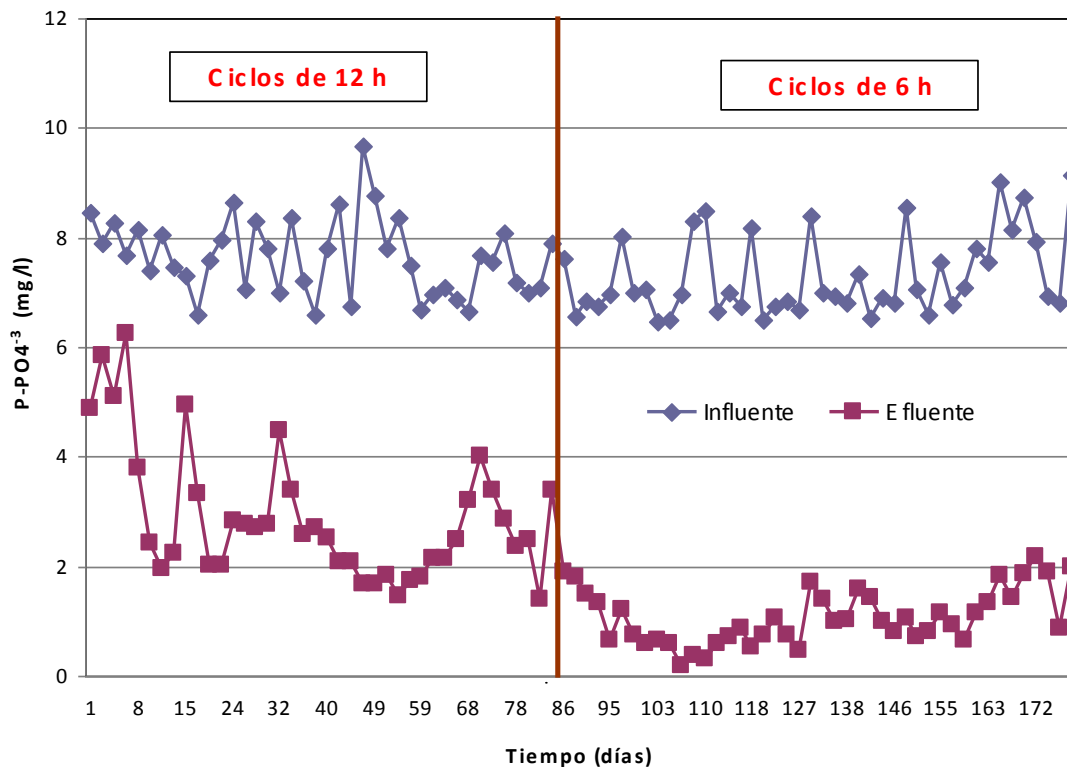


Figura 5.9. Comportamiento de $P-PO_4^{-3}$ en el influente y efluente del reactor SBR con gránulos aerobios en los dos ciclos.

En el primer ciclo se observan valores de $P-PO_4^{-3}$ en el efluente entre 1.5 y 6 mg/L, las menores al final de la corrida experimental. En la figura 5.10 se puede observar que la remoción fue incrementando hasta obtener remociones hasta

del 83%. En el 80% de los casos se obtuvieron remociones mayores al 60%. El segundo ciclo alcanzó remociones hasta del 96% antes de la desintegración de los gránulos, después de formar nuevamente los gránulos durante este ciclo pero con un tamaño máximo de 1 mm de diámetro la remoción promedio de $P-PO_4^{-3}$ fue del 82%. Para este sistema se esperaban remociones similares a los sistemas convencionales de tratamiento secundario (entre 30 o 40%) donde el consumo de fósforo es utilizado para la síntesis de biomasa durante la remoción de carbono (Surampalli *et al.*, 1997) ya que el reactor en ambos ciclos no fue operado bajo condiciones alternadas de anaerobio/aerobio que favorecieran mayores remociones. Sin embargo, trabajos anteriores a esta investigación muestran que los reactores con gránulos aerobios alcanzan remociones de $P-PO_4^{-3}$ mayores a los de los sistemas convencionales ya que Cobos (2009) en un reactor de flujo ascendente descendente bajo condiciones aerobias alcanzó remociones de fósforo del 69%.

Joao B *et al.* (2007) reportan que los gránulos aerobios al alcanzar la etapa de maduración, en su interior empiezan a dominar las bacterias PAO incrementando la remoción de fosfatos.

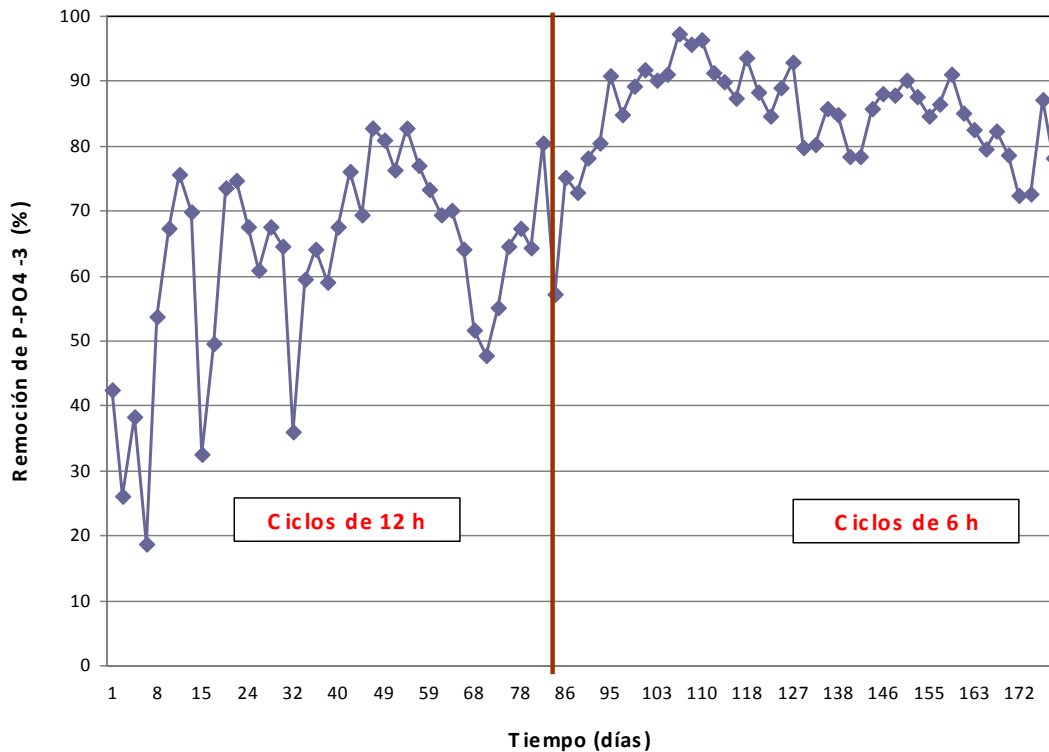


Figura 5.10. Remociones de P-PO₄⁻³

5.5 Comportamiento del pH

En la figura 5.11 se presenta el comportamiento de los valores de pH del influente y efluente para los dos ciclos. En el primer ciclo (12 horas) el influente se encuentra en un rango de 6.68 a 7.86 teniendo un promedio de 7.34 y el efluente entre 7.22 a 8.42 con un promedio de 7.85.

No se observan diferencias significativas en ambos ciclos, ya que en el primer ciclo el efluente tiene un pH promedio de 7.85 y en el segundo ciclo de 7.58. Con respecto al influente, el pH promedio en el primer ciclo es de 7.34 y en el segundo, 7.14.

Un pH por encima de 9.0 puede disminuir la tasa de nitrificación en un 50% ya que se presenta amoníaco libre en el sistema, el cual causa la inhibición de las

bacterias oxidantes de nitrito y se producirá una acumulación de éste en el reactor, por otro lado, la desnitrificación posee un rango óptimo de pH de 6.5 a 8.0; debajo de un pH de 6.0 y por encima de 9.0 la desnitrificación también se reduce (Paredes *et al.*, 2007; Surampalli *et al.*, 1997).

Por los valores de pH obtenidos en los ciclos 1 y 2 el sistema fue capaz de llevar a cabo una nitrificación completa y podría realizarse la desnitrificación ya que el pH se encuentra en el rango óptimo reportado en la literatura, más sin embargo, debido a las condiciones en la cual se operó el reactor sólo fue posible llevar a cabo la nitrificación.

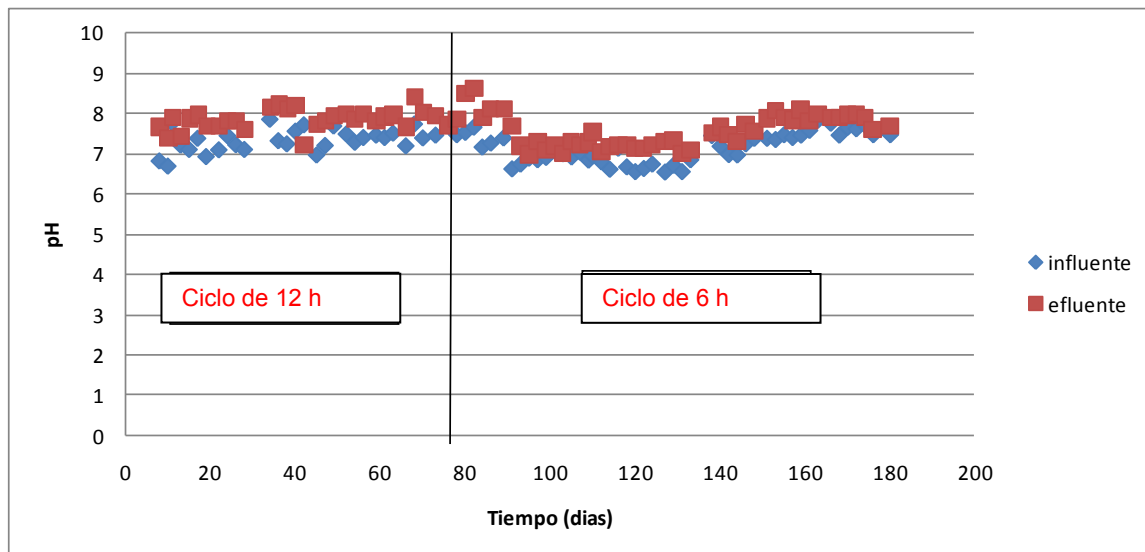


Figura 5.11. Comportamiento del pH a lo largo de la experimentación.

5.6 Perfiles de DQO y amonio en los ciclos de 12 y 6 horas

Para el primer y segundo ciclo se realizaron perfiles de DQO, N-NH₄, OD y temperatura. En el ciclo de 12 h estos parámetros fueron determinados cada 15 minutos en la primera hora, después cada 30 minutos hasta la hora cinco y posteriormente, cada hora hasta finalizar el ciclo. Para el ciclo de 6 h en la

etapa de llenado se midieron cada 5 min, en la primera hora de aireación, cada 15 minutos y cada 30 minutos el resto del ciclo.

Los perfiles se realizaron para conocer el tiempo en el que los microorganismos consumen el material orgánico y oxidan el nitrógeno amoniacal a nitratos. Con respecto a la materia orgánica medida como DQO, en el ciclo de 12 h durante la etapa de alimentación se observa que la concentración va incrementando paulatinamente hasta alcanzar una concentración de 309 mg/L y a los 15 minutos de aireación el licor mezclado ya registra una concentración de 105 mg/L valor del que fue disminuyendo hasta obtener una concentración de 8 mg/L. La figura 5.12 muestra que la fase de abundancia de sustrato se extiende del minuto 0 al minuto 60, que es el tiempo transcurrido de la concentración máxima hasta que se alcanza la concentración mínima en el ciclo. En esta fase se obtiene una concentración promedio de OD de 0.4 mg/L por la degradación de la materia orgánica. Este período es de abundancia ya que hay una fuente externa de carbono para el crecimiento de la biomasa. Una vez que la DQO en el licor mezclado disminuye hasta 22 mg/L, el OD incrementa abruptamente a 4.1 mg/L y mantiene una concentración entre 5 y 6 mg/L el resto del ciclo.

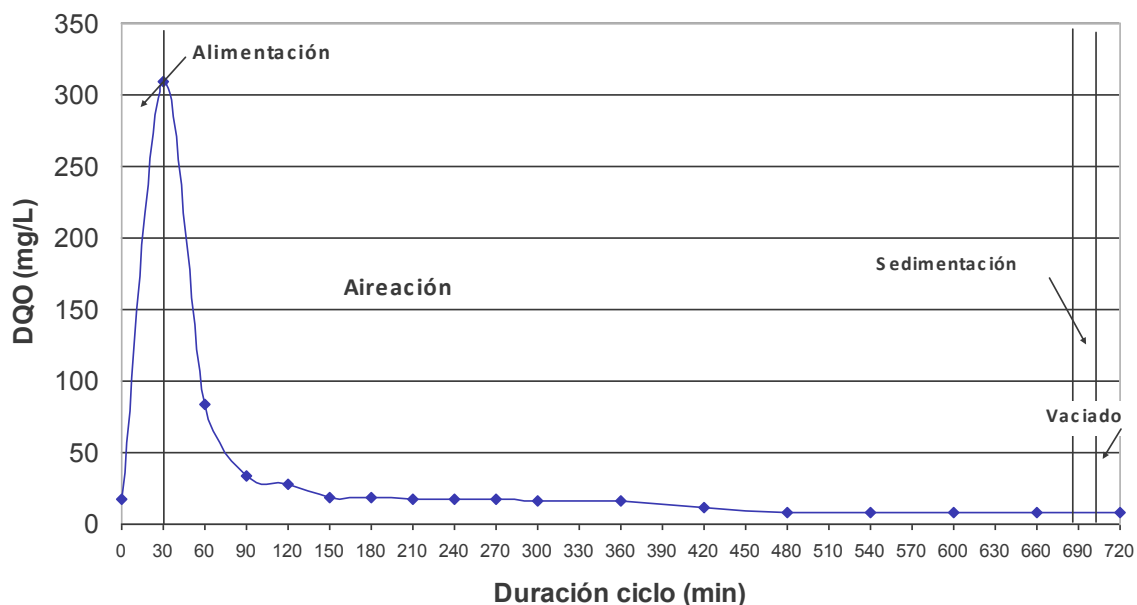


Figura 5.12. Perfil de DQO realizado en el ciclo de 12 horas

En este ciclo representativo de 12 h una gran parte de los compuestos orgánicos externos se remueven en la primera hora de cada ciclo, el 91 % del tiempo del ciclo está sujeto a la condición de carencia de sustrato lo que de acuerdo a Lie *et al.* (2008) podría provocar un decaimiento microbiano significativo obteniendo un bajo coeficiente de rendimiento. El perfil de la figura 5.15 muestra que prácticamente al finalizar la etapa de abundancia de sustrato se inicia la oxidación del amonio, el 95% del amonio se remueve después de 2 horas de haber iniciado el ciclo.

En el ciclo de 6 h también se puede observar que en la etapa de alimentación, la DQO va incrementando hasta obtener una concentración máxima de 281 mg/L. Después de 20 minutos de iniciar la etapa de aireación se obtiene una concentración de 50 mg/L y paulatinamente, disminuye hasta obtenerse una concentración de 23 mg/L. La Figura 5.13 muestra que la fase de abundancia de sustrato tiene una duración de 60 minutos (minuto 0 al minuto 60) con una concentración promedio de OD de 0.49 mg/L, una vez que la DQO disminuye hasta 52 mg/L el OD incrementa a 4.1 mg/L y mantiene una concentración en el rango de 5.1 a 6.3 mg/L en el resto del ciclo.

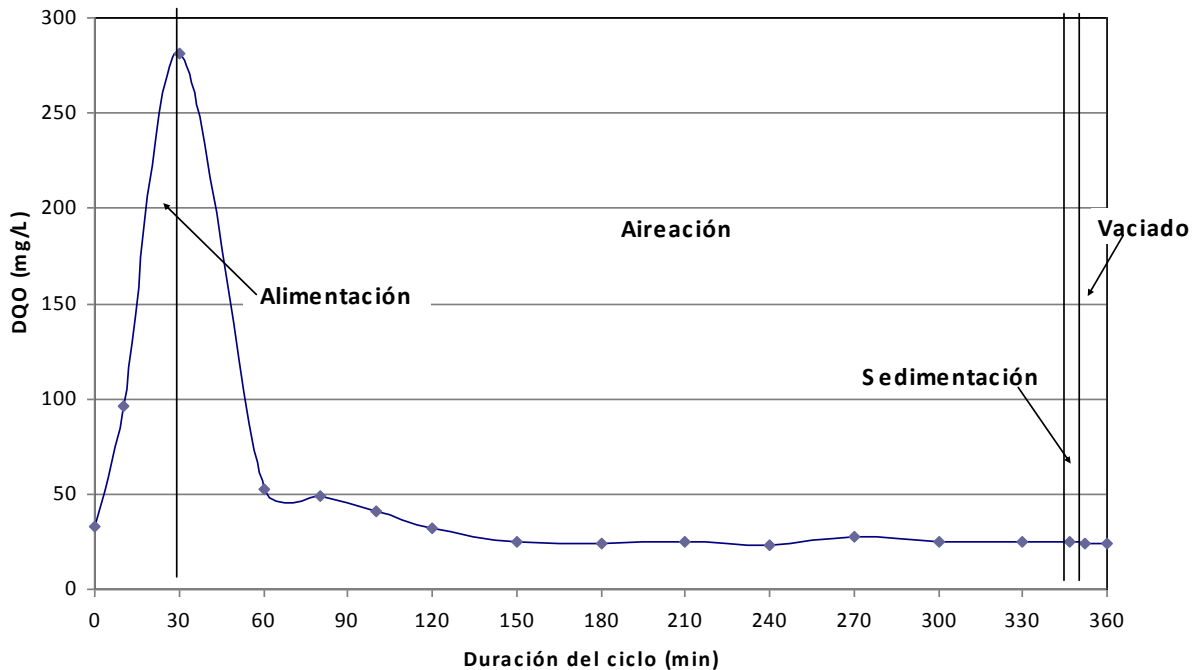


Figura 5.13. Perfil de DQO realizado en el ciclo de 6 horas

En este ciclo la fase de carencia de sustrato inicia también después de una hora de aireación (ver figura 5.13). Al iniciar esta fase empieza la oxidación del amonio removiéndose el 90 % después de dos horas y media de haber iniciado el ciclo (figura 5.17).

La fase de carencia de sustrato inicia después de una hora y tiene una duración de 11 horas (Ver figura 5.12). El perfil muestra que casi al finalizar la etapa de abundancia de sustrato se inicia la oxidación del amonio, el 95% del amonio se remueve después de 2 horas de haber iniciado el ciclo.

En el primer ciclo con una etapa de aireación de 680 min se obtiene una eficiencia de remoción de materia orgánica, como DQO del 97 % y al disminuir el tiempo de aireación a 320 min en el segundo ciclo la remoción disminuye a 90%. Por lo anterior, se puede asumir que al disminuir el tiempo de aireación la eficiencia de remoción de DQO disminuye. Sin embargo, se observó que en el

ciclo de 12 h no se logró estabilidad del sistema ya que los gránulos se desintegraban con frecuencia y los flóculos terminaban dominando el sistema. Es probable que en el primer ciclo con un tiempo de 12 horas los gránulos se hayan desintegrado debido a la baja carga orgánica aplicada, Tay *et al* (2002) reportaron que una carga orgánica baja produce una formación lenta de gránulos y se requiere un tiempo más largo para alcanzar un estado estacionario.

Antes de la primera desintegración de los gránulos en el ciclo de 12 horas estos tenían un tamaño de 2 a 3 mm el cual de acuerdo a Zheng *et al.* (2006) puede limitar la transferencia de nutrientes en el interior del gránulo debilitando a las bacterias que ahí se alojan provocando su desintegración.

De acuerdo a los resultados de los perfiles de remoción de DQO en ambos ciclos puede apreciarse que la duración total del ciclo podría reducirse hasta 4 horas obteniendo excelentes remociones de materia orgánica y amonio. Tay *et al.* (2002) investigó el efecto del TRH en el desarrollo de gránulos nitrificantes y reportó que las bacterias no-nitrificantes en un reactor discontinuo operan a ciclos no mayores de 24 horas y con ciclos menores a 3 horas las bacterias nitrificantes no se desarrollan. Excelentes gránulos nitrificantes se desarrollan con ciclos entre 4 y 12 horas.

La temperatura es un parámetro importante en los sistemas de tratamiento biológicos de aguas residuales. La importancia estriba porque los cambios de temperatura en el agua residual pueden modificar la velocidad de las reacciones que se llevan a cabo en el proceso y en el desarrollo de los microorganismos además de afectar la difusividad de nutrientes y la solubilidad del oxígeno (Metcalf & Eddy, 2003). El manual de la EPA (1993) reporta que la temperatura óptima para el desarrollo de los organismos nitrificantes es de 30 °C y su actividad disminuye conforme se aleja de este valor hasta inhibirse cuando es menor a 7 °C o superior a 40 °C.

En la Figura 5.14 se muestra el comportamiento de la temperatura durante un ciclo completo de 6 h. Al inicio del ciclo la temperatura del reactor se encuentra en 21 °C e incrementa en la etapa de llenado hasta llegar a 24 °C, el incremento se debe a que el agua potable con la que se prepara el agua residual sintética previamente se mantiene a una temperatura de aproximadamente 27 °C con un calentador y la temperatura del concentrado es de 4°C. En la etapa de reacción se registra una temperatura máxima de 24°C y desciende paulatinamente hasta 21 °C al finalizar la etapa. En la etapa de sedimentación y vaciado se mantiene constante la temperatura.

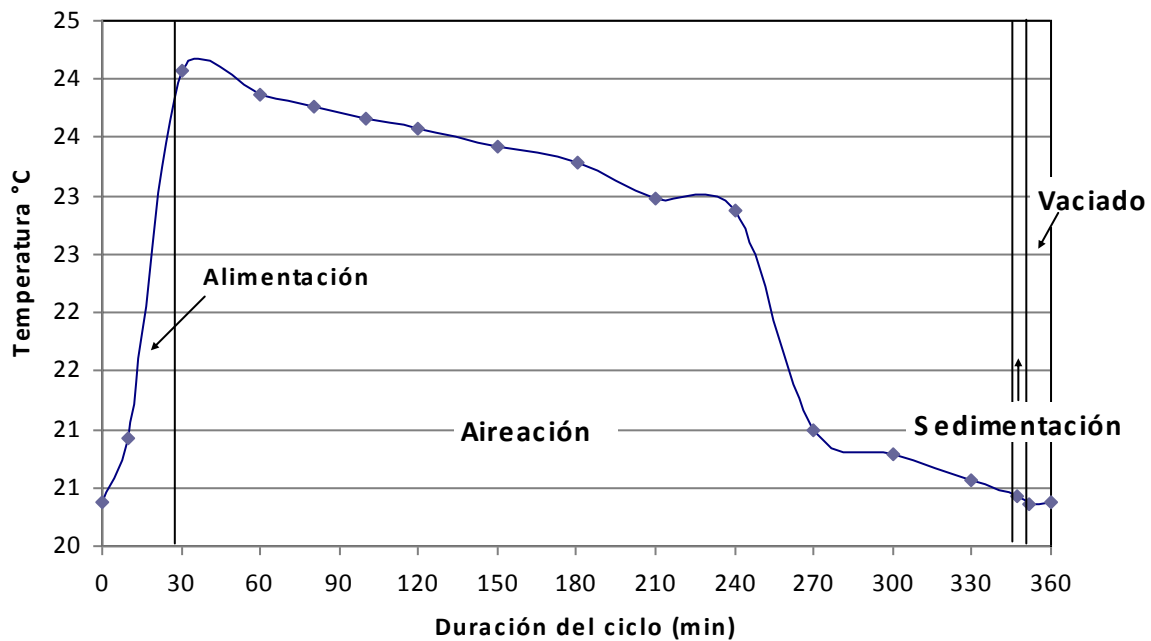


Figura 5.14. Perfil de temperatura realizado en el ciclo de 6 horas.

En el proceso de nitrificación la carga orgánica y el oxígeno disuelto son algunos de los factores principales que lo limitan. En la grafica del perfil de amonio para el ciclo de 12 h se observa que al inicio de la fase de aireación las bacterias heterótrofas, de rápido crecimiento, compiten con las bacterias nitrificantes por el

oxígeno disuelto ya que una vez que se ha removido el 66% de la DQO inicia la oxidación de amonio y al cabo de 3 horas se remueve el 90% de amonio. Así mismo cuando la DQO disminuye a 105 mg/L, se tiene el mínimo de oxígeno disuelto. En los 15 minutos incrementa el oxígeno disuelto hasta 4.09 mg/L y permanece en una concentración cercana a 6 mg/L el resto del ciclo (ver Figuras 5.15 y 5.16). Liu *et al.* (2007) obtuvieron una remoción de DQO de 90% en un tiempo aproximado de 30 minutos en un reactor de gránulos aerobios con un tiempo de aireación de 227 minutos.

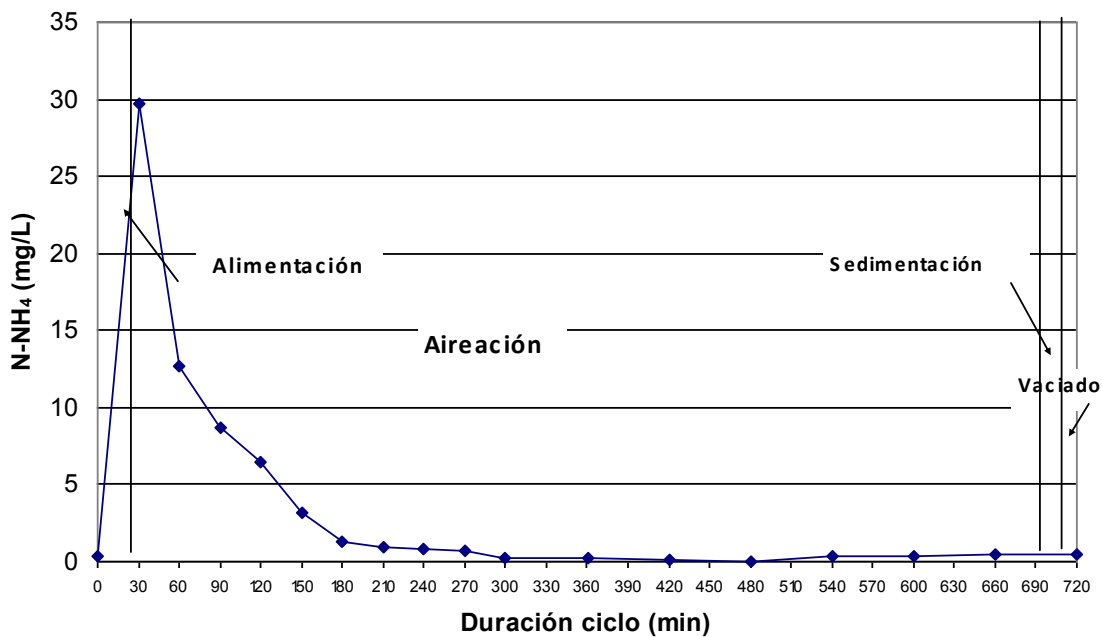


Figura 5.15. Perfil de N-NH₄ realizado en el ciclo de 12 horas.

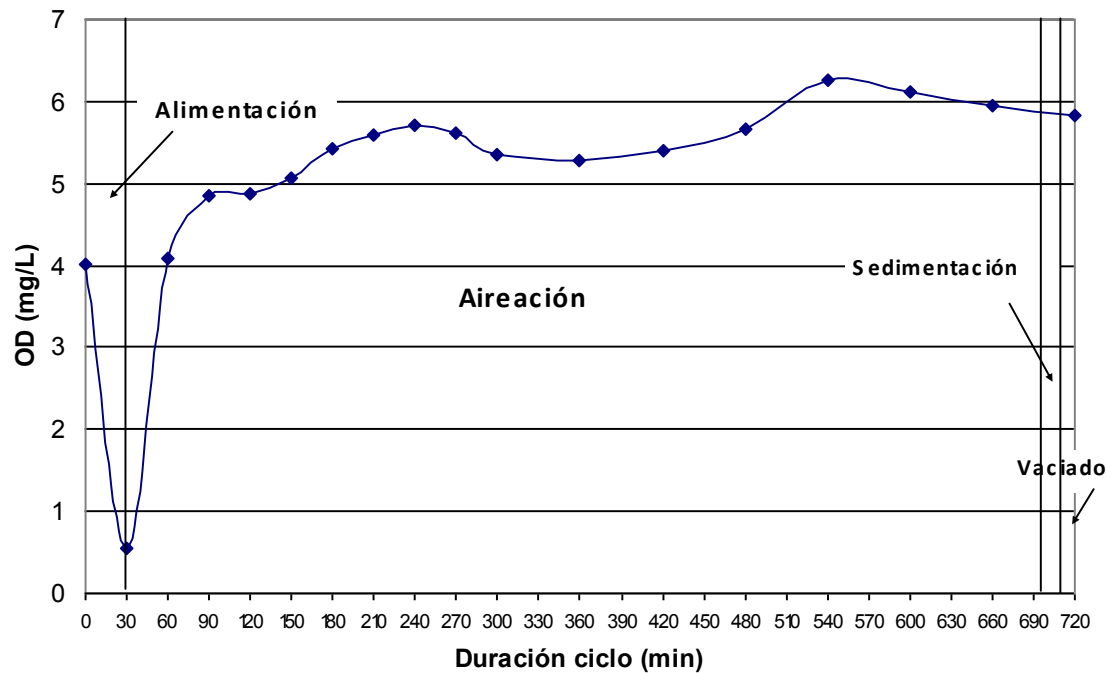


Figura 5.16. Perfil de oxígeno disuelto realizado en el ciclo de 12 horas.

Para el ciclo de 6 horas se observó un comportamiento similar donde después de disminuir la concentración de DQO hasta 52 mg/L inicia la oxidación de amonio y al cabo de 3 horas se remueve el 90% de amonio. Así mismo cuando la DQO disminuye en un 80% el oxígeno disuelto incrementa hasta 4 mg/L y permanece en una concentración entre 5.5 y 6.25 mg/L el resto del ciclo (ver Figuras 5.17 y 5.18). Debido a que en este ciclo se obtuvo una mayor estabilidad y mayor tamaño de los gránulos aerobios el presente trabajo recomienda operar los reactores de gránulos aerobios con tiempos de ciclos entre 6 y 4 horas.

No fue posible observar el consumo de oxígeno por respiración endógena porque el caudal de aireación se mantuvo constante y en exceso a los requerimientos.

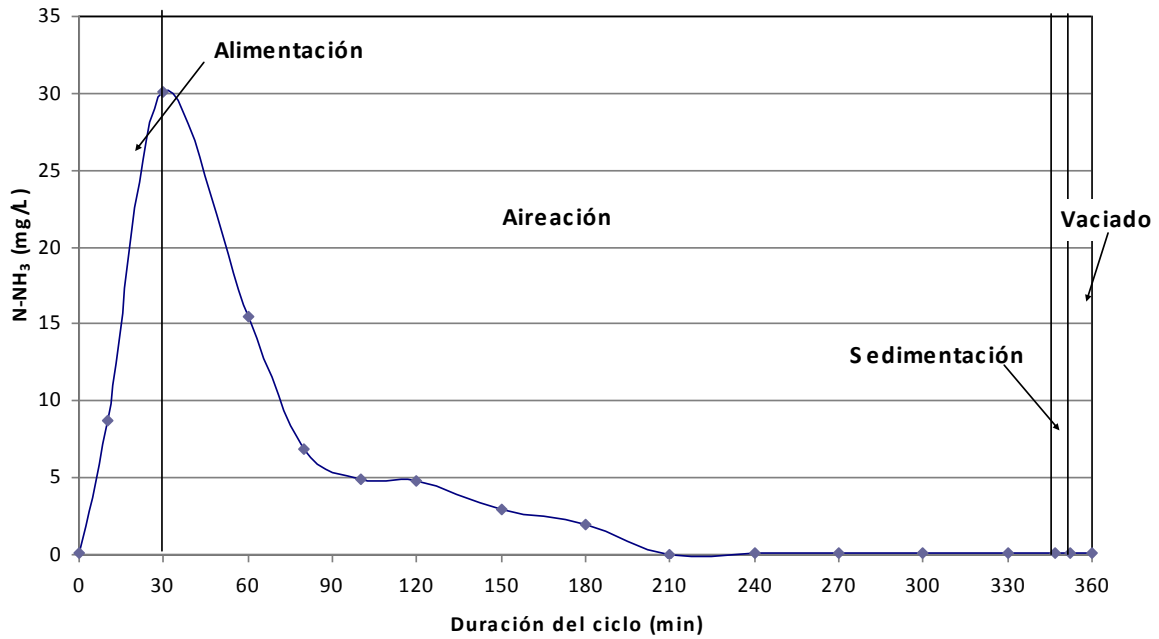


Figura 5.17. Perfil de N-NH₄ realizado en el ciclo de 6 horas.

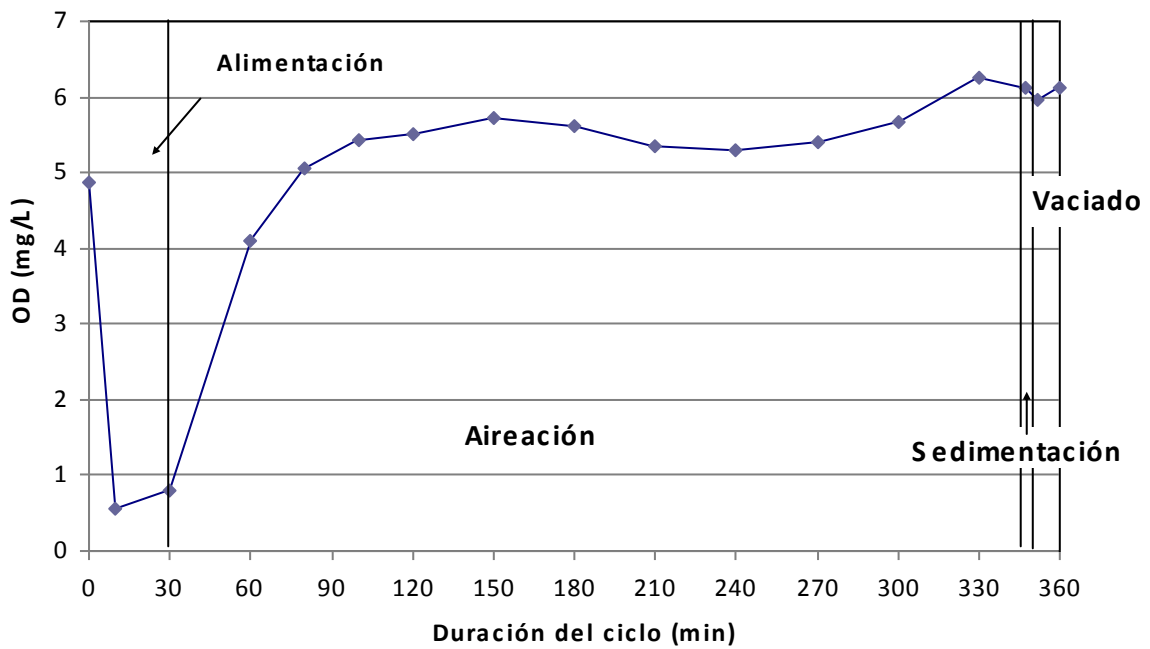
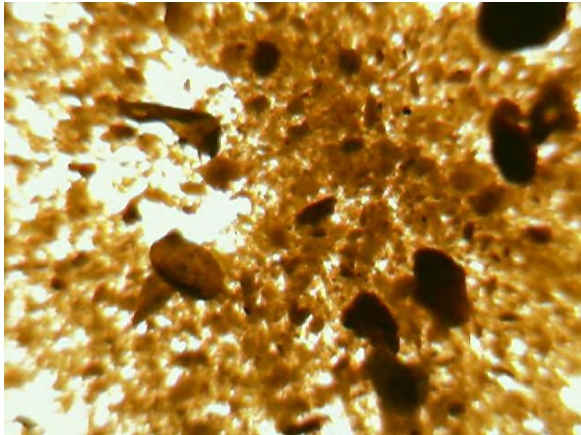


Figura 5.18. Perfil de oxígeno disuelto realizado en el ciclo de 6 horas.

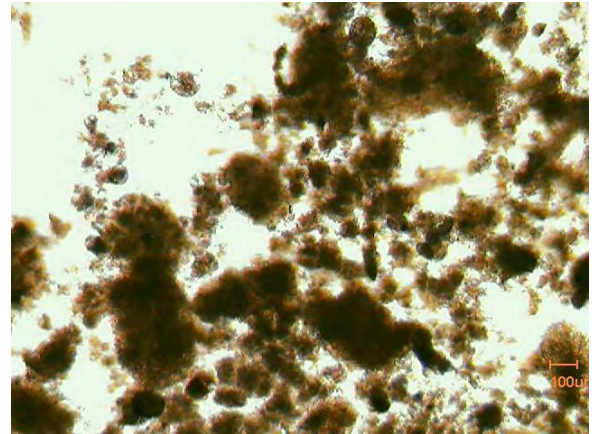
5.7 Formación de gránulos

Durante el ciclo de 12 h se realizaron observaciones al microscopio con el propósito de dar seguimiento a la formación del gránulo. Como se muestra en la figura 5.19 (a), los lodos inoculados son flóculos de forma irregular y los lodos anaerobios son compactos y de color negrozco. Las partículas comenzaron a unirse para formar agregados de la biomasa y al cabo de 25 días se formaron flóculos abultados de mayor tamaño no compactos (figura 5.19b).

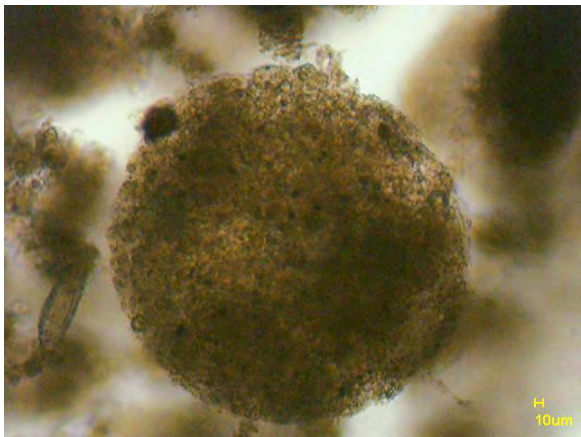
Alrededor del día 40 se observaron formaron gránulos con una estructura semi-esférica con textura suave y superficie con pocos filamentos (figura 5.19 c y d). Las características morfológicas fueron observadas en un microscopio óptico marca OLYMPUS modelo SZX9. Se observó que a partir del día 40 hay una colonización casi completa de gránulos semiesféricos en forma de huevo casi libre de filamentos.



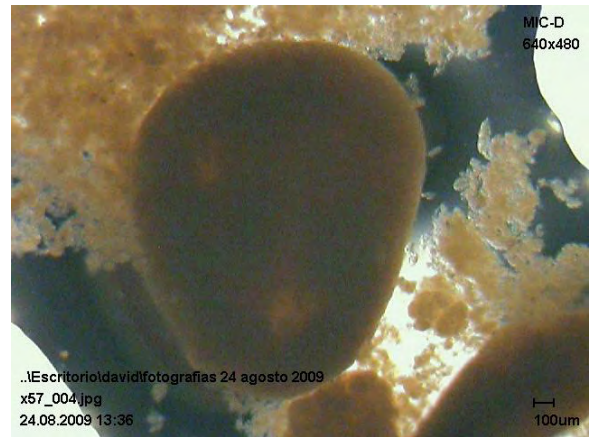
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 5.19. Formación del gránulo aerobio durante el primer ciclo. (a) lodos activados con gránulos anaerobios (día 5), (b) obtención del flóculo (día 17), (c) crecimiento de gránulo (día 25) y (d) gránulo aerobios (día 40).

El tamaño de los gránulos durante el ciclo de 12 h osciló entre 2 y 3 mm. La bibliografía menciona que el diámetro de los gránulos oscila entre 0.5 y 4 mm Tay *et al.* (2006). Liu *et al.* (2006) obtuvieron gránulos entre 0.4 y 0.75 mm para un ciclo de 4 horas. Por lo tanto, los gránulos obtenidos en este experimento se encuentran en el rango reportado en la bibliografía (figura 5.20).

Como se mencionó anteriormente, se notó que durante el ciclo de 12 horas de duración total se logró la formación de gránulos pero la estabilidad no permaneció más de una semana en que los gránulos se desintegraran. Probablemente el aumento en su tamaño (Zheng *et al.*, 2006). También pudo deberse, al largo tiempo de carencia de sustrato, Liu *et al.* (2008) observaron un decaimiento microbiano significativo al prolongar la aireación con carencia de sustrato.

En el segundo ciclo con una carga orgánica entre 0.27 y 0.47 kgDQO/kgSST·d se obtuvieron gránulos con un tamaño entre 3 y 4 mm en el cambio de ciclo, con una estructura compacta de forma definida casi esférica, estos gránulos permanecieron estables hasta que por un evento operativo se desintegraron volviéndose a formar nuevamente pero con un tamaño entre 0.8 y 0.9 mm (figura 5.21). De la figura 5.22 a la 5.27 se presentan los gránulos aerobios obtenidos para un tamaño entre 2 y 3 mm en microscopia electrónica de barrido.



Figura 5.20. Gránulo aerobio obtenido en el ciclo de 12 horas (día 40).

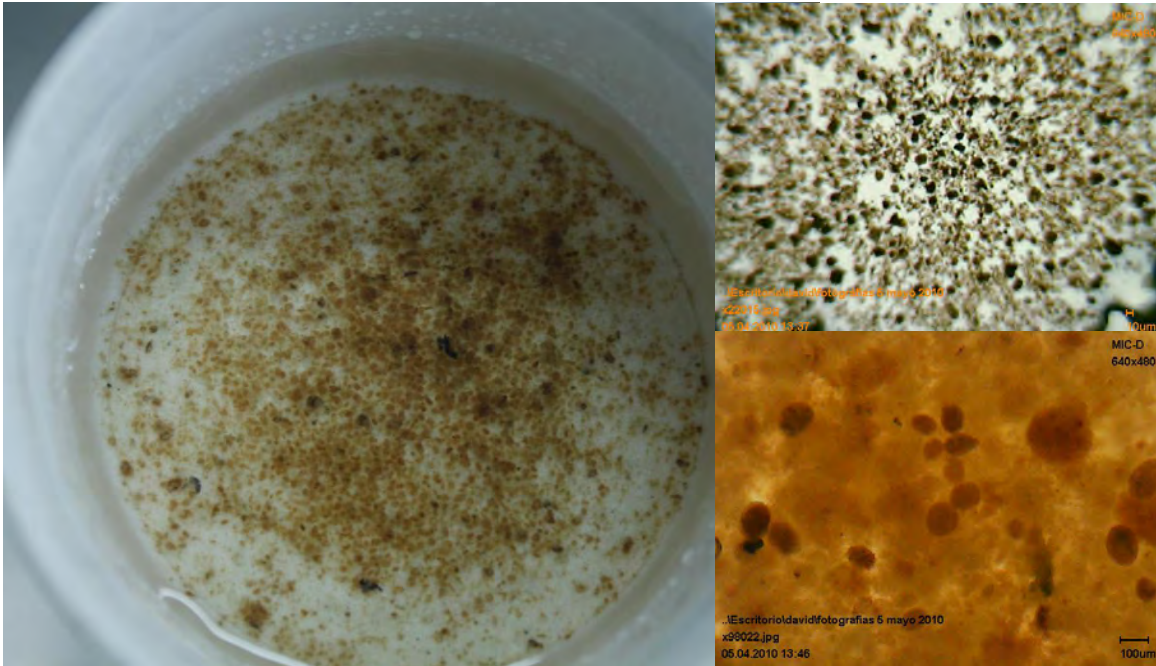


Figura 5.21. Gránulos aerobios obtenidos en el ciclo de 6 horas (día 170).

La morfología y la estructura de la superficie de los gránulos se observaron en un microscopio electrónico de barrido. Las muestras de gránulos se lavaron cuidadosamente con solución tampón fosfato y se dejaron reposar de forma natural, posteriormente los gránulos se fijaron con una solución de glutaraldehído al 2.5%.

Los gránulos fijos fueron deshidratados en soluciones sucesivo del 10 %, 20%, 30%, 40, 50%, 60 y 70% de etanol. Antes de realizar el cambio de una solución a otra las muestras se colocaron por 10 minutos a una temperatura de 4 °C. Se continuó pasando las muestras en soluciones sucesivas de etanol al 80, 90 y 100% pero los cambios de soluciones se realizaron a temperatura ambiente. Los gránulos deshidratados se secaron con un secador de punto crítico de CO₂, y finalmente fueron observadas al microscopio.

La figura 5.22 muestra una estructura bacteriana muy compacta, en el que las células se combinan entre sí y se unen por medio de bacterias con forma de bastón que tienden a predominar.

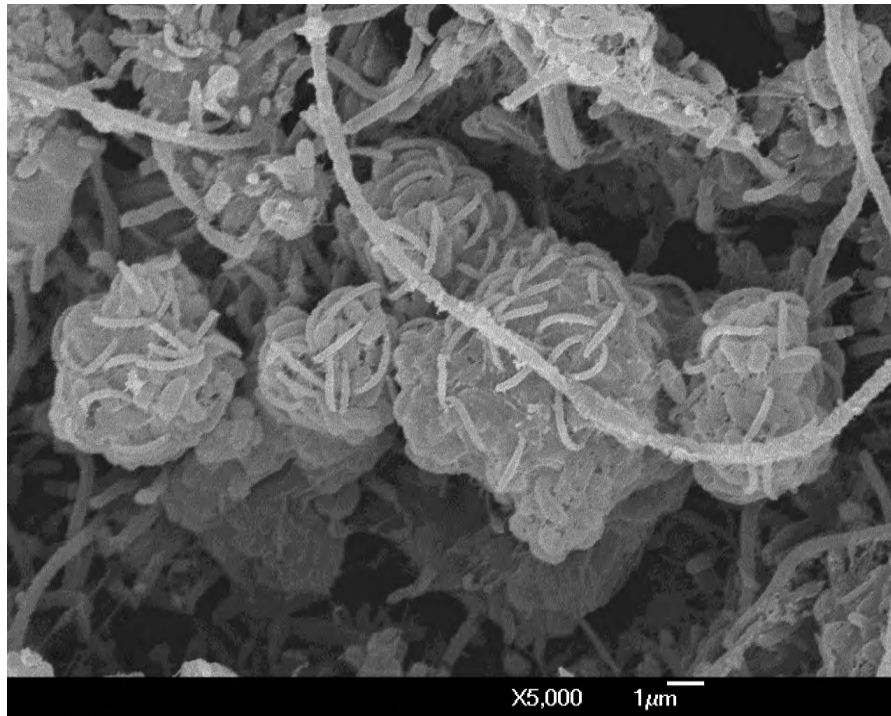


Figura 5.22. Estructura bacteriana observada al día 75 en el reactor experimental.

La figura 5.23 se puede observar que en la superficie del gránulo existen bacterias en forma de bacilos y cocos donde los bacilos son predominantes. Se pueden apreciar algunas cavidades las cuales de acuerdo a Zheng *et al.* (2006) y Tay *et al.* (2001) pueden mejorar la transferencia de substrato del licor mezclado al gránulo y transferir los productos metabólicos de la parte interna del gránulo al licor mezclado.

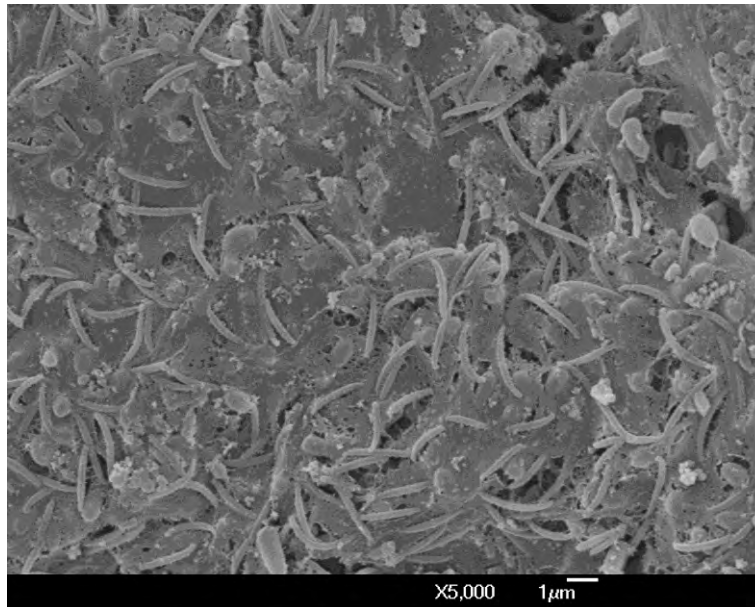


Figura 5.23. Superficie granular observado en un gránulo extraído del reactor, el día 75.

La figura 5.24 muestra la parte interna del gránulo el cual tiene una estructura densa donde predominan las bacterias cocoidales agrupadas en microcolonias individuales que pueden ser fácilmente distinguidas. *Linlin et al.* (2005) reportó que en el interior de gránulo debido a las limitaciones en la difusión y transporte de masa la disponibilidad de nutrientes es escasa, por lo que, las bacterias empiezan a morir y son consumidas por las bacterias externas. En esta figura se puede observar que no hubo una mortandad significativa de bacterias ya que no se observan grandes estructuras huecas en el centro del gránulo.

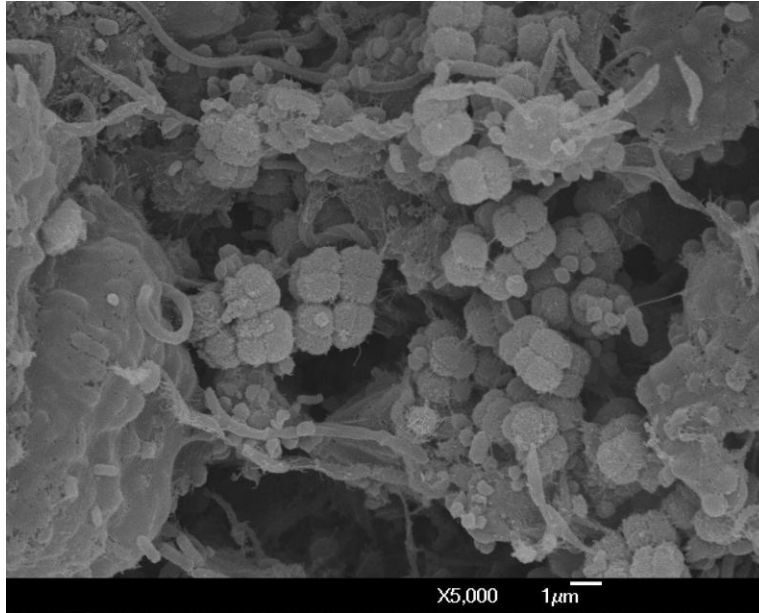


Figura 5.24. Parte interna del gránulo formada por microcolonias bacterianas observados en el día 75.

Se observa que las bacterias filamentosas también participan en la estructura granular (Figura 5.25). En la figura 5.26 se muestra la morfología general del gránulo.

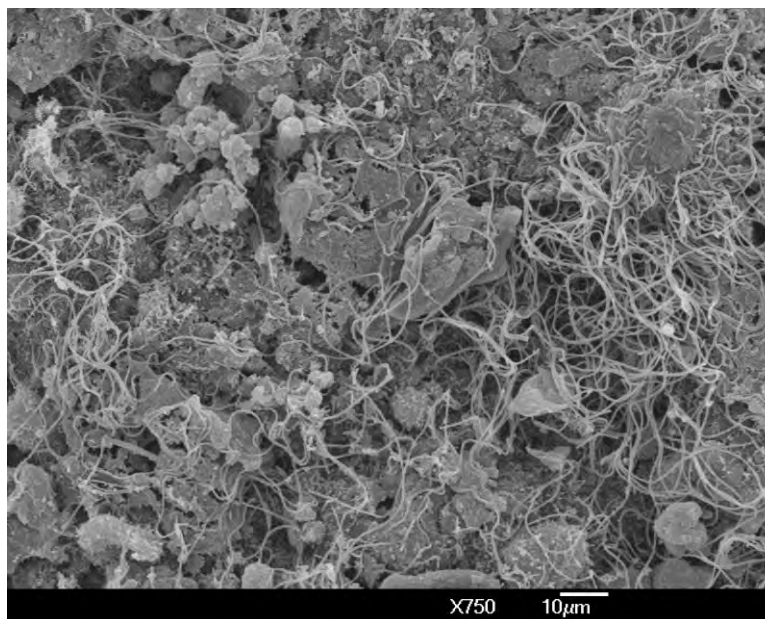


Figura 5.25. Microorganismos filamentosos de un gránulo del día 75.

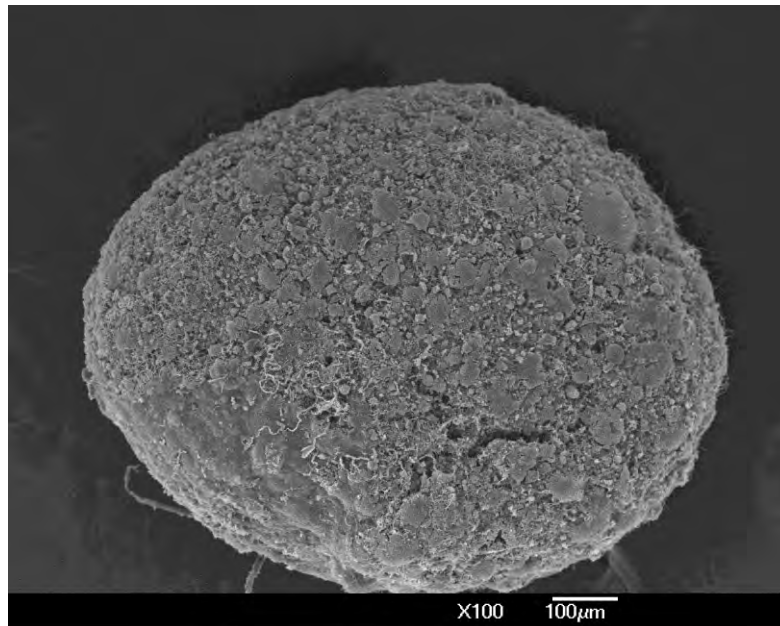


Figura 5.26. Morfología general del gránulo del día 75.

6. CONCLUSIONES

En este estudio fue posible llevar a cabo la granulación aerobia en un reactor con modo de operación discontinua inoculando gránulos anaerobios y lodos activados. El tiempo de sedimentación fue un parámetro clave para lograr la granulación.

En las dos corridas experimentales se obtuvo formación de gránulos aerobios. En el ciclo de 12 horas se obtuvieron gránulos con un diámetro de 2 a 3 mm pero no fueron estables ya que se desintegraban continuamente. En el ciclo de 6 horas se obtuvieron gránulos estables con un tamaño menor a 1mm.

Se asume que el medio fue colonizado con biomasa en forma granular, ya que los gránulos obtenidos cumplen con las características físicas mencionadas en la literatura como:

- Forma esférica u ovalada;
- Diámetros entre 0.5 y 4.0 mm;
- Índice volumétrico de lodos de 20 a 80 ml/gSST

Las fotografías del microscopio óptico mostraron que en ambos ciclos se obtuvieron gránulos con una forma semiesférica, color café claro, una textura suave y pocos filamentos en su superficie. De acuerdo a la microscopía electrónica de barrido el gránulo estuvo formado por una estructura bacteriana muy compacta donde dominan, principalmente, bacilos y cocos. Los organismos filamentosos también estuvieron presentes envolviendo la estructura general del gránulo.

Los dos ciclos presentaron buena sedimentabilidad registrándose para el ciclo de 12 h valores de IVL entre 20 y 45 ml/gSST y en el ciclo de 6 h, IVL entre 25 y 45 ml/gSST. Estos valores comparados con los reportados en la literatura indican que el sistema en ambos ciclos tuvo buena sedimentabilidad y gran consistencia. El tamaño del gránulo varió con respecto a la carga orgánica cuando se incrementó la carga orgánica aumentó el tamaño del gránulo.

En la remoción de materia orgánica, como DQO soluble, se obtuvieron remociones del 95% para el ciclo de 12 h y para el ciclo de 6 h, remociones del 91 %. En este estudio se observó que al disminuir el tiempo de aireación la eficiencia de remoción de DQO disminuyó, aunque, para ambos ciclos se obtuvieron altas remociones.

El tiempo de aireación afectó la formación del gránulo, se observó que en el primer ciclo con un tiempo de aireación mayor no se logró estabilidad del sistema ya que los gránulos se desintegraban continuamente y los flóculos terminaban dominando el sistema.

De acuerdo a los perfiles de remoción de materia orgánica y amonio, en ambos ciclos se observó que la fase de carencia de sustrato inicia después de una hora de aireación, que coincide con un aumento en el oxígeno disuelto y el inicio de la oxidación del amonio, removiéndose más del 90 % después de dos y media horas de haber iniciado el ciclo. Por lo anterior puede concluirse que la duración total del ciclo podría reducirse a cuatro horas y obtener excelentes remociones de materia orgánica y amonio.

Con respecto a la remoción de N-NH_4^+ , en ambos ciclos se logró una nitrificación casi completa, en el ciclo de 12 h se obtuvo una eficiencia de remoción promedio del 99.54%. Para el ciclo de 6 h el sistema obtuvo remociones de amonio del 99.27 %. En un periodo de tres horas, en ambos ciclos se removió el 90% de amonio, por lo que los reactores de gránulos aerobios son eficientes en la remoción de amonio y si se operan bajo condiciones que favorezcan la desnitrificación es posible llevar a cabo la remoción de nitrógeno total.

En la remoción de fósforo en el ciclo de 12 h se obtuvo una remoción promedio de ortofosfatos (P-PO_4^{-3}) de 61% y en el segundo ciclo de 6 h se alcanzó una remoción promedio del 86%. Se esperaban remociones similares a los sistemas convencionales de tratamiento secundario donde el consumo de fósforo es utilizado para la síntesis de biomasa durante la remoción de carbono ya que el reactor no fue operado bajo condiciones anaerobias que favorecieran mayores remociones.

En este estudio los resultados mostraron que el tiempo total del ciclo podría reducirse a cuatro horas y obtener excelentes remociones de materia orgánica y amonio. Con la reducción del tiempo de aireación en la fase de carencia de sustrato podría reducirse efectivamente el consumo de energía total. Sin embargo, es necesario realizar investigaciones futuras, para determinar cuantitativamente los requerimientos de oxígeno para obtener mayor estabilidad de los gránulos aerobios. Asimismo, es necesario determinar el comportamiento cinético de los gránulos aerobio con relación al tiempo de aireación recomendado en este estudio, para evaluar sus ventajas y desventajas ya que un ciclo corto no es aconsejable para la estabilidad del gránulo.

7. BIBLIOGRAFÍA

Aoi, Y., Tsuneda.S., y Hirata. A. (2004). Transition of bacterial spatial organization in a biofilm monitored by FISH and subsequent image analysis. *Water Sci. Technol.* 49, 365-370.

Chiesa, S.C. y Irvine, R.L. (1985). Growth and control of filamentous microbes in activated sludge: an integrated hipotesis. *Water Res.* 19(4), 471-479.

Chiesa, S.C., Irvine, R.L. y Manning, J.F. (1985). Feast/famine growth environments and activated sludge population selection. *Biotechnol and bioeng.* 27, 562-569.

Beun, J.J., Hendriks, A., van Loosdrecht, M.C.M., Morgenroth, E., Wilderer, PA., Heijnen, JJ. (1999). Aerobic granulation in a sequencing batch reactor. *Water Res.* 33, 2283-2290.

Beun, J.J., van Loosdrecht, M.C.M. y Heijnen, J.J. (2000). Aerobic Granule formation. *Water Sci. Technol.* 41 (4-5), 41-48.

Beun, J.J., van Loosdrecht, M.C.M. y Heijnen, J.J. (2001). N-removal in a granular sludge sequencing batch airlift reactor. *Biotechnol. Bioeng.* 75(1), 82-92.

Beun, J.J., van Loosdrecht, M.C.M. y Heijnen, J.J. (2002). Aerobic granulation in a sequencing batch airlift reactor. *Water Res.* 36(3), 702-712.

Bossier, P., Verstraete, W. (1996). Triggers for microbial aggregation in activated sludge?. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45, 1-6.

Cobos, L. (2009). Eliminación de nitrógeno amoniacal y nitratos usando gránulos aerobios. Tesis de maestría. Instituto de Ingeniería de la UNAM.

De Kreuk, M.K., van Loosdrecht, M.C.M. (2006). Formation of Aerobic Granules with Domestic Sewage. *J. Environ. Eng.* 132 (6), 694-697.

De Kreuk, M.K. (2006). Aerobic granular sludge scaling up a new technology. Ph. D. thesis, Delft University of Technology, Delft, The Netherland.

Dudler, R., y Eberl. L. (2006). Interactions between bacteria and eukaryotes via small molecules. *Curr. Opin. Biotechnol.* 17, 268-273.

El-Mamouni, R., Leduc, R., Costerton. J.W. y Guiot, S.R. (1995). Influence of the microbial content of different precursory nuclei on anaerobic granulation dynamics. *Water Sci. Technol.* 32, 173-177.

Etterer, T., Wilderer, P.A. (2001). Generation and properties of aerobic granular sludge. *Water Sci. Technol.* 43 (3), 19-26.

Fried, J., y Lemmer, H. (2003). On the dynamics and function of ciliates in sequencing batch biofilm reactors. *Water Sci. Technol.* 47, 189-196

Guest, R. K., y Smith, D.W. (2002). A potential new role for fungi in a wastewater MBR biological nitrogen reduction system. *J. Environ. Eng.* 1, 433-437.

Grotenhuis, J.T.C., van Lier, J.B., Plugge, C.M., Stams, A.J.M. y Zehnder, A.J.B. (1991). Effect of ethylene glycol-bis (h-aminoethylether)-N, N-tetraacetic acid (EGTA) on stability and activity of methanogenic granular sludge. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36, 109-14.

Jiang, H.L., Tay, J.H., Tay, S.T.L. (2002). Aggregation of immobilized activated sludge cells into aerobically grown microbial granules for the aerobic biodegradation of phenol. *Let. Appl. Microbiol.* 35, 439-445.

Jiang, H.L., Tay, J.H., Liu, Y., Tay, S.T.L. (2003). Ca_2^+ augmentation for enhancement of aerobically grown microbial granules in sludge blanket reactors. *Biotechnol. Lett.* 25, 95-9.

Joao, X., de Kreuk, M., Picioreanu, C., Van Loosdrecht, M. (2007). Multi-scale individual-based model of microbial and bioconversion dynamics in aerobic granular sludge. *Environ. Sci. Technol.* 41, 6410-6417.

Kiely G. Environmental Engineering (1997). Mc Graw Hill, Singapore

Kos, B., Suskovic, J., Vukovic, S., Simpraga, M., Frece, J., Matosic, S. (2003). Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 94, 981-7.

Lettinga, G., Hushoff, P., Koster, I.W., Weigant, W.M., de Zeeuw, W., Rinzema A., Grinn, D.C., Rersma, R. y Hobma, S. (1984). High-rate anaerobic wastewater treatment using the UASB reactor under a wide range of temperature conditions. *Biotechnol. Genet. Energ. Rev.* 253-284.

Li, Z.H., Kuba, T., Kusuda, T. (2006b). The influence of starvation phase on the properties and the development of aerobic granules. *Enzyme Microb. Technol.* 38, 670-674.

Li, Y., Liu, Y., Xu, H. (2008). Is sludge retention time a decisive for aerobic granulation in SBR. *Bioresource Technol.* 99, 7672-7677.

Lin, Y.M., Liu, Y., Tay, J.H. (2003). Development and characteristics of phosphorous-accumulating granules in sequencing batch reactor. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 62 (4), 430-435.

Linlin, H., Jianlong, W., Xianghuna, W. y Yi, Q. (2005). The formation and characteristic of aerobic granules in sequencing batch reactor (SBR) by seeding anaerobic granules. *Process Biochem.* 40, 5-11.

Liu, 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, Q.S., Tay, J.H., Liu, Y. (2003). Substrate concentration-independent aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. *Environ. Sci. Technol.* 24, 1235-42.

Liu, Y., Lin, Y.M., Yang, S.F., Tay J.H. (2003). A balanced model for biofilms developed at different growth and detachment forces. *Process Biochem.* 38, 1761-1765.

Liu, Y., Yang, S.F., Tay, J.H. (2003). Elemental compositions and characteristics of aerobic granules cultivated at different substrate N/C ratios. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 61, 556-561.

Liu, Y., Lin, Y.M., Yang, S.F., Tay, J.H. (2003). A balanced model for biofilms developed at different growth and detachment forces. *Process Biochem*, 38, 1761.

Liu, Y., Lin, Y.M., Yang, S.F. y Tay, J.H. (2003c). A balanced model for biofilms developed at different growth and detachment forces. *Process Biochem.* 38, 1761-5.

Liu, Y. y Liu, Q.S. (2006). Causes and control of filamentous growth in aerobic granular sludge sequencing batch reactors. *Biotechnol Adv.* 36, 1653-1665.

Liu, Y.Q. y Tay, J.H. (2006). Variable aeration in sequencing batch reactor with aerobic granular sludge. *J. Biotechnol.* 124, 338-346.

Liu, Y., Tay, J. (2007). Influence of cycle on kinetic behaviors of steady-state aerobic granules in sequencing batch reactors. *Enzyme Microb. Technol.* 41, 516-522.

Liu, Y., Wu, W., Tay, J., Wang, J. (2007). Starvation is not a prerequisite for the formation of aerobic granules. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76, 211-216.

Liu, Y., Tay, J. (2008). Influence of starvation time on formation and stability of aerobic granules in sequencing batch reactors. *Bioresource Technol.* 99, 980-985.

Mannan, S., Fakhru'l-Raii, A., y Alam M.Z. (2005). Use of fungi to improve bioconversion of activated sludge. *Water Res.* 39, 2935-2943.

McSwain, B., Irvine, R. (2008). Dissolved oxygen as a keyparameter to aerobic granule formation. *Water Sci. Technol.* 58(4), 781-787.

Metcalf & Eddy, (2003). Wastewater engineering treatment and reuse. Fourth edition. Editorial Mc Graw Hill. United States.

Meyer, RL., Saunders, AM., Zeng, RJ., Keller, J., Blackall, LL. (2003). Microscale structure and function of anaerobic-aerobic granules containing glycogen accumulating organisms. *FEMS Microbiol Ecol.* 45, 253-261.

Mishimina, K. y Nakamura, M. (1991). Self-immobilization of aerobic activated sludge: a pilot study of the aerobic upflow sludge blanked process un municipal sewage treatment. *Water Sci. Technol.* 23, 981-90.

Morgenroth, E., Sherden, T., van Loosdrecht, M.C.M., Heijnen, J.J., Wilderer, P.A. (1997). Aerobic Granular Sludge in a sequencing Batch Reactor. *Water Res.* 31(12), 3191-3194.

Moy, B.Y.P., Tay, J.H., Toh, S.K., Liu, Y., Tay, S.T.L. (2002). High organic loading influences the physical characteristics of aerobic sludge granules. *Lett. Appl. Microbiol.* 34, 407-12.

Ni, B.J., Xie, W.M., Liu, S.G., Yu, H.Q., Wang, Y.Z., Wang, G. y Dai, X.L. (2009). Granulation of activated sludge in a pilot-scale sequencing batch reactor for the treatment of low-strength municipal wastewater. *Water Res.* 43, 751-761.

Nicolau, A., Dias. N., Mota, M. y Lima, N. (2001). Trends in the use of protozoa in the assessment of wastewater treatment. *Res. Microbiol.* 152,621-630.

Ødegaard, H., Rusten, B. y Westrum, T. (1994). A new moving bed biofilm reactor- applications and results. *Water Sci. Technol.* 29, 10-1.

Okabe, S., Hirata, K., Watanabe, Y. (1995). Dynamic changes in spatial microbial distribution in mixed population biofilms: experimental results and model simulation. *Water Sci. Technol.* 32(8), 67-74.

Pastorelli, G., Andreottola, G., Canziani, R., Darriulat, C., Frangipane, E.D.F., y Rozzi, A. (1997). Organic carbon and nitrogen removal in moving bed biofilm reactors. *Water Sci. Technol.* 35(6), 91-99.

Peng, D., Bernet, N., Delgenes, J.P., Moletta, R. (1999). Aerobic granular sludge- a case report. *Water Res.* 33, 890-893.

Pérez, H. (2008). Gránulos aerobios en reactores discontinuos. Tesis de Maestría. Instituto de Ingeniería de la UNAM.

Qin, L., Tay, J.H., Liu, Y. (2004). Selection pressure is a driving force of aerobic granulation in sequencing batch reactors. *Process Biochem.* 39, 579-584.

Ratsak, C.H., Kooi, B.W. y van Verseveld, H.W. (1994). Biomass reduction and mineralization increase due to the ciliate *Tetrahymena pyriformis* grazing on the bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Water Sci. Technol.* 29, 119-128.

Roessink, R. y Eikelboom, D.H. (1997). Characterization of suspended slids in/out airlift biofilm reactors. *Water Sci. Technol.* 36, 237-245.

Schwarzenbeck, N., Erley, R., Wilderer, P.A. (2003). Growth of aerobic granular sludge in a SBR-system treating wastewater rich in particulate matter. 5th International conference on biofilm systems, 14– 19 September, Cape Town, South Africa.

Shi, X.Y., Yu, H.Q., Sun, Y.J. y Huang, X. (2009). Characteristics of aerobic granules rich in autotrophic ammonium-oxidizing bacteria in a sequencing batch reactor. *Chem. Technol. Biotechnol.* 147, 102-109.

Shin, H.S., Lim, K.H., Park, H.S. (1992). Effect of shear stress on granulation in oxygen aerobic upflow sludge reactors. *Water Sci. Technol.* 26, 601-605.

Surampalli, Y., Tyagi, R.D., Karl, S.O. y Heidman, A. (1997). Nitrification, denitrification and phosphorus removal in sequential batch reactors. *Bioresource Technol.* 61, 151-157.

Tay, J.H., Liu, Q.S., Liu, Y. (2001a). Microscopic observation of aerobic granulation in sequential aerobic sludge blanket reactor. *J. Appl. Microbiol.* 91, 168-175.

Tay, J.H., Liu, Q.S., Liu, Y. (2001b). The role of cellular polysaccharides in the formation and stability of aerobic granules. *Lett. Appl. Microbiol.* 33, 222-6.

Tay, J.H., Liu, Q.S. y Liu, Y. (2001c). The effects of shear force on the formation, structure and metabolism of aerobic granules. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 227-233.

Tay, J.H., Ivanov, V., Pan, S., y Tay, S.T.L. (2002). Specific layers in aerobically grown microbial granules. *Lett. Appl. Microbiol.* 34, 254-257.

Tay, J.H., Yang, S.F., Liu, Y. (2002a). Hydraulic selection pressure-induced nitrifying granulation in sequencing batch reactors. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 59, 332-337.

Tay, J.H., Liu, Q.S., Liu, Y. (2002b). Characteristics of aerobic granules grown on glucose and acetate in sequential aerobic sludge blanket reactors. *Environ Technol.* 23, 931-6.

Tay, J.H., Ivanov, V., Pan, S., Tay, S.T.L. (2002c). Specific layers in aerobically grown microbial granules. *Lett. Appl. Microbiol.* 34, 254-257.

Tay STL., Ivanov V., Yi S., Zhuang WQ., Tay JH. (2002d). Presence of anaerobic Bacteroides in aerobically grown microbial granules. *Microb. Ecol.* 44, 278-285.

Tay, J.H., Liu, Q.S. y Liu, Y. (2003a). Biomass and porosity profile in microbial granules used for aerobic wastewater treatment. *Lett. Appl. Microbiol.* 36, 297-301.

Tay, J.H., Pan, S., He, Y.X., Tay, S.T.L. (2004). Effect of organic loading rate on aerobic granulation. I: reactor performance. *J. Environ. Eng.* 130, 1094-1101.

Tijhuis, L., van Loosdrecht, M.C.M. y Heijnen, J.J. (1994). Formation and growth of heterotrophic aerobic biofilms on small suspended particles in airlift reactors. *Biotechnol. Bioeng.* 44, 595-608.

Third, K.A., Burnett, N., Cord-Ruwisch, R. (2003). Simultaneous nitrification and denitrification using stored substrate (PHB) as the electron donor in an SBR. *Biotechnol. Bioeng.* 83(6), 706-720.

Toh, S.K., Tay, J.H., Moy, B.Y.P., Ivanov, V., Tay, S.T.L. (2003). Size-effect on the physical characteristics of the aerobic granule in a SBR. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 60, 687-695.

Tsuneda, S., Nagano, T., Hoshino, T., Ejiri, Y., Noda, N., Hirata A. (2003). Characterization of nitrifying granules produced in an aerobic upflow fluidized bed reactor. *Water Res.* 37, 4965-4973.

Vanderhaegen, B., Ysebaert, E., Favere, K., van Wambeke, M., Peeters, T. y Panic, V. (1992). Acidogenesis in relation to in-reactor granule yield. *Water Sci. Technol.* 25, 21-30.

Van der Hoek, J.P. (1988). Granulation of denitrifying sludge. In: Lettinga, G., Zehnder, A.B.J., Grotenhuis, J.T.C. y Hulshoff, Pol. editors, *Granular Anaerobic Sludge*. Wageningen, The Netherlands. 203-10.

Van Loosdrecht, M.C.M. (1995). Biofilm structures. *Water. Sci. Technol.* 32(8), 35-43.

Weber, SD., Ludwig, W., Schleifer, K.H. y Fried, J. (2007). Microbial composition and structure of aerobic granular. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 73(19), 6233-6240.

Wilderer, P., Irvine, R. y Goronszy, M. (2001). *Sequencing batch reactor technology*. IWA Publishing, United Kingdom.

Yang, SF., Liu, Y., Tay, JH. (2003). A novel granular sludge sequencing batch reactor for removal of organic and nitrogen from wastewater. *J. Biotechnol.* 106, 77-86.

Yang, S.F., Liu, Q.S., Tay, J.H., Liu, Y. (2004). Growth kinetics of aerobic granules developed in sequencing batch reactors. *Lett. Appl. Microbiol.* 38, 106-12.

Yi, S., Tay, J.H., Maszenan, A.M., Tay, S.T.L. (2003). A culture-independent approach for studying microbial diversity in aerobic granules. *Water Sci. Technol.* 47, 283-90.

Zheng, Y.M., Yu, H.Q., Liu, S.J. y Liu, X.Z. (2006). Formation and instability of aerobic granules under high organic loading conditions. *Chemosphere.* 63, 1791-1800.

Zhu, J., Wilderer, P.A. (2003). Effect of extended idle conditions on structure and activity of granular activated sludge. *Water Res.* 37, 2013-2018.