

# Remoción biológica de nutrientes en SBR anaeróbico-aeróbico

▷ Juan Carlos Alzate Marín, Alejandro H. Caravelli y Noemí E. Zaritzky

## RESUMEN

El nitrógeno y el fósforo son dos elementos que aceleran la eutrofización del agua. La descarga de efluentes con altas concentraciones de N que causa excesiva demanda de oxígeno en cuerpos de agua receptores, tiene un efecto tóxico sobre peces y otros organismos, y provoca eutrofización. Se considera que la remoción biológica de nutrientes es la técnica más económica y sustentable para satisfacer requerimientos de descarga rigurosos.

El objetivo del presente trabajo es evaluar la factibilidad de lograr un sistema de remoción biológica de nutrientes basado en dos fases de reacción: anaeróbica y aeróbica sin el requerimiento de una etapa anóxica y focalizado en lograr el proceso de desnitrificación en la etapa aeróbica. Para ello, se utilizó un reactor discontinuo secuencial (SBR) alimentado con acetato de sodio como fuente de carbono y energía, sulfato de amonio como fuente de N y sales de fosfato como fuente de P. Se evaluaron tres condiciones operativas que estuvieron determinadas por la duración del ciclo, la relación anaeróbica/aeróbica, el pH y la concentración de oxígeno disuelto en la fase aeróbica.

## ABSTRACT

Nitrogen and phosphorus are two elements that accelerate the eutrophication of water. The discharge of effluents with high concentrations of N that causes excessive oxygen demand in water bodies, has a toxic effect on fish and other organisms, and causes eutrophication. It is considered that biological nutrient removal is the most economical and sustainable technique to meet stringent discharge requirements. The aim of this study was to evaluate the feasibility of achieving a system of biological nutrient removal based on two phases of reaction: anaerobic and aerobic without the requirement of an anoxic stage and focused on achieving the denitrification process in the aerobic stage. For this, a sequencing batch reactor (SBR) fed with sodium acetate as carbon and energy source, ammonium sulphate as N source and phosphate salts

as a source of P, were used. Three operating conditions were tested, determined by the cycle duration, anaerobic/aerobic ratio, pH and dissolved oxygen concentration in the aerobic phase.

## INTRODUCCIÓN

El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son dos elementos claves que aceleran la eutrofización del agua (Xu y col., 2013). La descarga de efluentes con altas concentraciones de N es indeseable, ya que causa excesiva demanda de oxígeno en cuerpos de agua receptores, tiene un efecto tóxico sobre peces y otros organismos, provoca eutrofización en ríos y lagos e incrementa la formación de nitrosaminas, un compuesto carcinogénico (Dapena y col., 2004, 2006). Por lo tanto, la remoción de N y P es de vital importancia para el control de la polución del agua. La remoción biológica de nutrientes (RBN) es considerada la técnica más económica y sustentable para satisfacer requerimientos de descarga rigurosos (Xu y col., 2013).

La remoción de fósforo de las aguas residuales se realiza comúnmente mediante precipitación química o remoción biológica (Cloete y Oosthuizen, 2001).

La remoción biológica incrementada de fósforo (EBPR, *enhanced biological phosphorus removal*) es llevada a cabo por organismos acumuladores de polifosfatos (PAOs, *polyphosphate accumulating organisms*) también llamadas bacterias poly-P, que tienen la capacidad de remover fósforo en cantidades mayores a los requerimientos nutricionales.

El proceso consta de una secuencia de dos etapas alternantes en el reactor: anaeróbica y aeróbica. El agua residual se introduce en la fase anaeróbica (Wagner y Loy, 2002). Bajo condiciones anaeróbicas, las bacterias convierten los sustratos orgánicos (principalmente ácidos grasos volátiles) en compuestos de reserva, tales como polihidroxialcanoatos (PHA) los cuales son almacenados intracelularmente.

La energía necesaria para la síntesis de PHA se obtiene de la hidrólisis de gránulos de polifosfatos, con la consecuente liberación de ortofosfatos. También se requiere poder reductor, que se produce mediante la glucólisis de glucógeno almacenado (Mino *et al.*, 1998).

En la etapa aeróbica, el PHA es utilizado para el mantenimiento y crecimiento celular, reposición de las reservas de glucógeno y síntesis de polifosfatos (Oehmen *et al.*, 2007). Además de oxígeno, pueden ser utilizados como aceptores de electrones (condiciones anóxicas) el nitrato o el nitrito, lo cual representa una ventaja, pues tanto el N como el P son removidos en el mismo proceso (Kuba y col., 1993).

La remoción biológica incrementada de fósforo constituye un proceso biotecnológico eficiente y sustentable (Vargas y col., 2009). Este proceso se aplica en numerosas plantas de tratamiento de

**Palabras clave:** Remoción biológica, nutrientes, reactor discontinuo secuencial, nitrificación, desnitrificación, nitrógeno, fósforo

**Keywords:** Biological nutrient removal, nutrients, sequential batch reactor, nitrification, denitrification, nitrogen, phosphorus

**Trabajo presentado al 19 Congreso Argentino de Saneamiento y Medio Ambiente, Buenos Aires, Mayo 2014.**

aguas residuales (Oehmen y col., 2007) no obstante, es un proceso muy inestable.

La proliferación de organismos acumuladores de glucógeno (GAO, *glycogen accumulating organisms*) que compiten con los PAOs por la fuente de carbono, es considerada una causa posible del deterioro del proceso de remoción biológica de fósforo. Los GAOs son capaces de utilizar ácidos grasos en ausencia de oxígeno y almacenarlo como PHA, pero utilizan glucógeno como fuente de energía en lugar de polifosfatos (Muszyński y col., 2013). El nitrógeno puede ser removido de las aguas residuales mediante procesos físico-químicos y biológicos. La remoción biológica de nitrógeno es más efectiva y relativamente económica, siendo por lo tanto, ampliamente adoptada (USEPA, 1993).

La remoción biológica de nitrógeno implica dos procesos: nitrificación y desnitrificación.

La nitrificación es un proceso aeróbico realizado por bacterias autótrofas, en el cual el amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) es oxidado a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) por medio de bacterias oxidantes de amonio (BOA) y luego el nitrito es oxidado a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) mediante bacterias oxidantes de nitrito (BON). Ambos grupos de bacterias utilizan  $\text{CO}_2$  como fuente de carbono y amonio o nitrito como fuente de energía.

La desnitrificación es un proceso anóxico llevado a cabo por bacterias heterótrofas que utilizan nitrito y/o nitrato en lugar de oxígeno como aceptor de electrones y materia orgánica como fuente de carbono y energía (Ahn, 2006). En este proceso, los nitratos son reducidos a nitrito, luego a óxido nítrico (NO) a óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ) y finalmente, a nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ) que es liberado a la atmósfera (Rodríguez y col., 2011).

La desnitrificación ocurre casi exclusivamente bajo condiciones anaeróbicas facultativas o microaerófilas. Sin embargo, se ha observado desnitrificación completa bajo condiciones de elevada concentración de oxígeno disuelto. La mayoría de los desnitrificantes aeróbicos son heterótrofos. El proceso de desnitrificación aeróbica puede ofrecer varias ventajas, pues ocurre en reactores aireados en presencia de compuestos rápidamente biodegradables (Ahn, 2006).

Ambos nutrientes (N y P) pueden ser removidos simultáneamente mediante procesos biológicos (Winkler y col., 2011). Para ello se requiere un sistema de lodos con diferentes etapas (anaeróbica, aeróbica y anóxica) o dos sistemas de lodos. En este último caso, se separan los nitrificantes de los PAO desnitrificantes conduciendo al requerimiento de tanques adicionales (Lee y col., 2001).

Generalmente, en plantas de tratamiento de efluentes con remoción biológica de nutrientes basadas en un único sistema de lodos, la etapa anóxica se ubica previamente a la etapa aeróbica, resultando un proceso de desnitrificación previo a la etapa aeróbica (por ejemplo, proceso anaeróbico/anóxico/aeróbico,  $\text{A}^2/\text{O}$ ). En estos sistemas se requieren altas tasas de reciclo del licor mixto de lodos activados para proveer de nitrato y/o nitrito a la zona anóxica, debido a que la desnitrificación depende de la oxidación de amonio en la zona aeróbica (Xu y col., 2013).

Dicha configuración permite lograr altas tasas de desnitrificación, sin embargo, presenta varias desventajas debidas al reciclo desde la zona aeróbica a la anóxica, tales como mayores costos de energía, aporte de oxígeno disuelto hacia la zona anóxica, dilución del carbono del agua de desecho (Winkler y col., 2011) e incompleta remoción de nitrógeno (Tchobanoglous y col., 2003). Por otra parte, el proceso de desnitrificación anóxico post-aeróbico, no requiere de reciclo debido a que el tanque anóxico es posterior al tanque aeróbico nitrificante, pudiendo producir

efluentes con concentraciones de N total inferiores a 3 mg/L (Tchobanoglous y col., 2003).

Esta configuración aeróbica/anóxica conduce comúnmente a un consumo completo de DQO, que es frecuentemente el sustrato limitante del agua de desecho. En sistemas no diseñados para la remoción biológica incrementada de P, se suministra comúnmente una fuente de carbono externa para llevar a cabo la desnitrificación post-aeróbica (Winkler y col., 2011).

Este enfoque no puede ser aplicado a sistemas EBPR por dos razones: la adición de carbono en el tanque anóxico afecta el metabolismo normal de los PAOs, pues promueve la liberación de P en lugar de su consumo (Kuba y col., 1994) y conduce a la proliferación de organismos heterótrofos ordinarios que no realizan remoción incrementada de P (Winkler y col., 2011). En sistemas EBPR, una configuración anaeróbica/aeróbica/anóxica basada en un único sistema de lodos, permitiría utilizar las reservas de carbono (PHA y/o glucógeno) para llevar a cabo la desnitrificación (Coats y col., 2011).

Dicho sistema, operado en forma continua (Vocks y col., 2005) o como reactor discontinuo secuencial (SBR, *sequencing batch reactor*) (Winkler y col., 2011) ha logrado buenas eficiencias de remoción de P y N. No obstante, en estos procesos basados en diferentes etapas, puede ser necesario implementar algún sistema de control *on-line* de pH y ORP (potencial óxido-reducción) para ajustar la duración de cada fase frente a posibles variaciones de la calidad del agua de desecho y actividad biológica (Lee y col., 2001).

El objetivo del presente trabajo es evaluar la factibilidad de lograr un sistema de RBN más simple, basado en dos fases de reacción: anaeróbica y aeróbica sin el requerimiento de una etapa anóxica y focalizado en lograr el proceso de desnitrificación en la etapa aeróbica.

Para ello, se utilizó un SBR alimentado con acetato de sodio como fuente de carbono y energía, sulfato de amonio como fuente de N y sales de fosfato como fuente de P.

Se evaluaron tres condiciones operativas que estuvieron determinadas por la duración del ciclo, la relación anaeróbica/aeróbica, el pH y la concentración de oxígeno disuelto en la fase aeróbica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactor y medio de cultivo

Se empleó un SBR con un volumen de trabajo de 1,2 L, operado con una secuencia temporal de dos fases de reacción, anaeróbica y aeróbica, una fase de sedimentación de la biomasa y purga final del sobrenadante.

El SBR presentó mezcla completa mediante un agitador vertical, excepto durante las fases de sedimentación y purga.

El SBR se inoculó con lodos activados obtenidos de una planta de tratamiento de efluentes convencional a escala laboratorio, del Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) La Plata, Buenos Aires, Argentina.

El agua residual se introducía en la fase anaeróbica. El SBR se operó durante 9 meses a  $25 \pm 0,5^\circ \text{C}$  con un tiempo de residencia celular (TRC) de 10 días.

El reactor se desarrolló en el Laboratorio de Electrónica del CIDCA y consta de controladores automáticos de temperatura, pH, oxígeno disuelto (OD) velocidad de agitación, llenado, vaciado y purga del reactor, así como duración de las diferentes fases de operación.

La concentración de oxígeno disuelto se midió utilizando un

electrodo de oxígeno (Ingold Mettler Toledo, Bedford, MA, USA). El pH se midió con un electrodo de pH (Phoenix, Houston, TX, USA).

El SBR se alimentó con medio de cultivo sintético compuesto básicamente por acetato de sodio,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ . La operación del SBR se analizó a través de diferentes condiciones operativas:

**Condición operativa 1:** el SBR presentó 4 ciclos por día, de 6 h cada uno. La relación de duración de las fases anaeróbica/aeróbica fue de 1,0:1,0. El tiempo de sedimentación fue de 45 minutos. El pH se mantuvo en  $7,0 \pm 0,1$  durante las fases de reacción. En la fase aeróbica, la concentración de oxígeno disuelto se mantuvo entre 0,8 y 2,4 mg  $\text{O}_2/\text{L}$ . El tiempo de residencia hidráulica (TRH) fue de 21,8 h. El medio de cultivo presentó las siguientes características: DQO=400 mg/L, N=40 mg/L y P=20 mg/L, resultando una relación DQO:N:P=100:10:5.

**Condición operativa 2:** se procedió igual que en la condición operativa 1, excepto que se duplicó la concentración de sustrato orgánico. Para ello, el medio de cultivo presentó las siguientes concentraciones: DQO=800 mg/L, N=80 mg/L y P=40 mg/L, manteniéndose la misma relación DQO:N:P=100:10:5 utilizada en la condición operativa 1.

**Condición operativa 3:** el SBR presentó 2 ciclos por día. La relación anaeróbica/aeróbica fue de 0,5:1,0. El tiempo de sedimentación fue de 45 minutos. El pH se mantuvo en  $7,5 \pm 0,1$  durante las fases de reacción. En la fase aeróbica, la concentración de oxígeno disuelto fue mayor que 4,0 mg  $\text{O}_2/\text{L}$ . El tiempo de residencia hidráulica (TRH) fue de 41,8 h. Estas condiciones fueron impuestas con el propósito de mejorar el desempeño del reactor. El medio de cultivo presentó las mismas concentraciones de DQO, N y P que la condición operativa 2.

Cada condición operativa se mantuvo al menos durante 4 TRC.

#### Análisis químico y detección de PHA y polifosfato

El funcionamiento del reactor se monitoreó mediante los siguientes parámetros físico-químicos a lo largo de los ciclos: ortofosfato ( $\text{PO}_4\text{-P}$ , mg P/L) amonio ( $\text{NH}_3\text{-N}$ , mg N/L) nitrito ( $\text{NO}_2\text{-N}$ , mg N/L) nitrato ( $\text{NO}_3\text{-N}$ , mg N/L) sustrato orgánico como demanda química de oxígeno (DQO) soluble ( $\text{DQO}_s$ , mg/L) y concentración de biomasa determinada como DQO ( $\text{DQO}_B$ , mg/L).

La  $\text{DQO}_B$  correspondió a la diferencia entre DQO total ( $\text{DQO}_T$ ) y  $\text{DQO}_s$ . El nitrógeno inorgánico (Ni) correspondió a la suma de las concentraciones de amonio, nitrito y nitrato.

La presencia de gránulos de PHA y polifosfato intracelulares se detectó mediante tinción específica y observación microscópica. Las concentraciones de ortofosfato, nitrógeno amoniacal, nitrito, nitrato y DQO, se determinaron por espectrofotometría (Kits Hach).

Para determinar ortofosfato, nitrógeno amoniacal, nitrito, nitrato y DQO soluble, se centrifugaron muestras del SBR (13.000 rpm, 10 min) y se filtró el sobrenadante con membranas de 0,45  $\mu\text{m}$  de tamaño de poro (GE Osmonics).

La concentración de ortofosfato se determinó después de reaccionar con molibdato en medio ácido (Método Hach N° 8114, adaptado de Métodos Estándar).

El nitrógeno amoniacal se midió por el método de Nessler (Método Hach N° 8038) y expresado como N ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ).

El nitrito y el nitrato se midieron por los métodos HACH N° 8153 y 8039, respectivamente.

La presencia de polifosfato intracelular se determinó mediante la tinción de Neisser; la detección de gránulos intracelulares de PHA se realizó mediante la tinción con el colorante lipofílico Sudan Black (Serafim y col., 2002).

Los preparados fueron observados por microscopía de contraste de fases (1.000X) utilizando un microscopio Leica DMLB con cámara fotográfica.

La remoción de nitrógeno inorgánico se evaluó mediante la siguiente expresión:

$$\text{Remoción } N_i \% = \frac{N_{io} - N_{if}}{N_{io}} \times 100 \quad [1]$$

Donde:

$N_{io}$ =concentración de  $N_i$  al inicio de la fase anaeróbica, proveniente del agua de desecho afluente

$N_{if}$ =concentración de  $N_i$  del efluente del reactor, considerando las diferentes especies químicas de N ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ , y  $\text{NO}_3\text{-N}$ ).

La concentración de nitrato al inicio del ciclo, proveniente del sobrenadante residual del ciclo previo, no fue considerada en la determinación de la concentración de  $N_{io}$ .

## RESULTADOS

El SBR fue inicialmente operado con ciclos de 6 h, relación anaeróbica (AN)/aeróbica (AE)=1,0:1,0, TRH=21,8 h, pH=7,0  $\pm$  0,1 y concentración de OD=0,8-2,4 mg  $\text{O}_2/\text{L}$  (condiciones operativas 1 y 2). En la **condición operativa 1**, las cargas orgánica, de nitrógeno y fósforo del reactor fueron 400 mg DQO/(L día) 40 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$ /(L día) y 20 mg P/(L día) respectivamente. El sustrato orgánico fue casi completamente removido en la fase anaeróbica (>95%). El SBR alcanzó una concentración de biomasa de  $1.251 \pm 187$  mg  $\text{DQO}_B/\text{L}$ .

El amonio fue removido en un 99,3%, casi exclusivamente en la fase AE. Aproximadamente el 70,1% del amonio que ingresó en fase AE fue nitrificado, es decir, que fue utilizado como fuente de energía por bacterias nitrificantes resultando la formación de nitrato; el amonio restante se utilizó como fuente de N para el crecimiento de bacterias nitrificantes y heterótrofas en dicha fase.

El nitrito no fue acumulado en el sistema. Debe destacarse que el proceso de nitrificación no resultó limitado por los relativamente bajos niveles de OD (0,8-2,4 mg  $\text{O}_2/\text{L}$ ).

No se observó desnitrificación en fase aeróbica. Al final del ciclo, el efluente final presentó una concentración de nitrato de  $4,75 \pm 0,25$  mgN/L. En el siguiente ciclo, el nitrato fue completamente removido por bacterias desnitrificantes en los primeros 90 minutos de la Fase AN. En la condición operativa 1, la remoción de nitrógeno inorgánico fue de aproximadamente 41% (**Figura 1a**). No se registraron cambios significativos en la concentración de ortofosfato (**Figura 1a**) y la tinción de polifosfato intracelular resultó negativa, indicando que el proceso EBPR no tuvo lugar.

En la **condición operativa 2** se duplicó la concentración de sustrato orgánico, manteniéndose el mismo régimen hidráulico con TRH de 21,8 h. Las cargas orgánicas de nitrógeno y fósforo del reactor fueron de 800 mg DQO/(L día) 80 mg  $\text{NH}_3\text{-N}$ /(L día) y 40 mg P/(L día) respectivamente, las cuales fueron el doble de las correspondientes a la **condición operativa 1**, por lo tanto, no resultó modificada la relación DQO:N:P (100:10:5). Las demás

condiciones operativas fueron las descritas para la condición operativa 1: ciclo=6 h, relación AN/AE=1,0:1,0, pH=7,0 ± 0,1 y OD=0,8-2,4 mg O<sub>2</sub>/L.

El sustrato orgánico fue removido en la Fase AN. El SBR en estado estable alcanzó una concentración de biomasa de 1.839 ± 120 mg DQO<sub>8</sub>/L, la cual fue significativamente mayor que la alcanzada en la **condición operativa 1**.

A lo largo del ciclo de operación, se removió tan solo un 15,3% del amonio afluente. Sólo un 7% del amonio que ingresó en fase AE fue nitrificado, resultando la formación de nitrato.

No tuvo lugar el proceso de desnitrificación; el nitrato no se acumuló en el reactor. El efluente final presentó una concentración de 3,5 mg N/L como nitrato, siendo descargado al final del ciclo. El nitrato residual, aproximadamente 2,5 mg N/L, fue rápidamente desnitrificado al inicio de la Fase AN del siguiente ciclo. La remoción de N inorgánico fue de solo el 8% (**Figura 1b**). Esta baja eficiencia se asoció a un pobre proceso de nitrificación que condujo a bajos niveles de nitrato y en consecuencia, a una baja actividad desnitrificante que solamente fue evidente en la fase AN. Las condiciones operativas no favorecieron el crecimiento de bacterias nitrificantes debido, probablemente, a que la mayor disponibilidad de sustrato carbonáceo favoreció el desarrollo de bacterias heterótrofas, estableciéndose una mayor competencia por el oxígeno en el microambiente de los flocúlos de lodos activados.

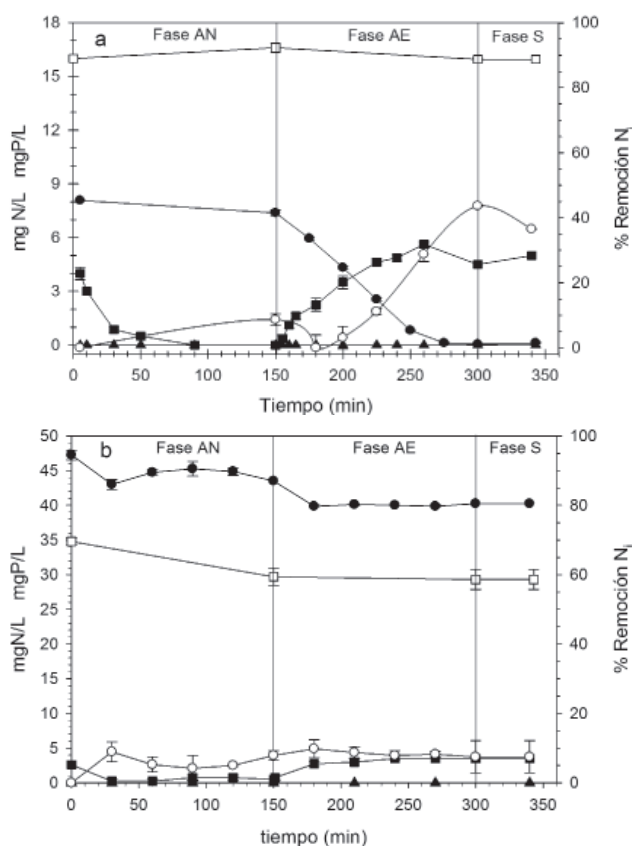
A pesar de la mayor carga de N durante la **condición operativa**

2 del SBR, el crecimiento de las bacterias nitrificantes no resultó estimulado. Es bien conocido que, en sistemas de lodos activados, las bacterias nitrificantes crecen mucho más lentamente que las bacterias heterótrofas, y la competencia entre ambos grupos de organismos es por el oxígeno. Además, el mayor crecimiento de las bacterias heterótrofas limita la capacidad de los nitrificantes para obtener nutrientes (Wang, 2012).

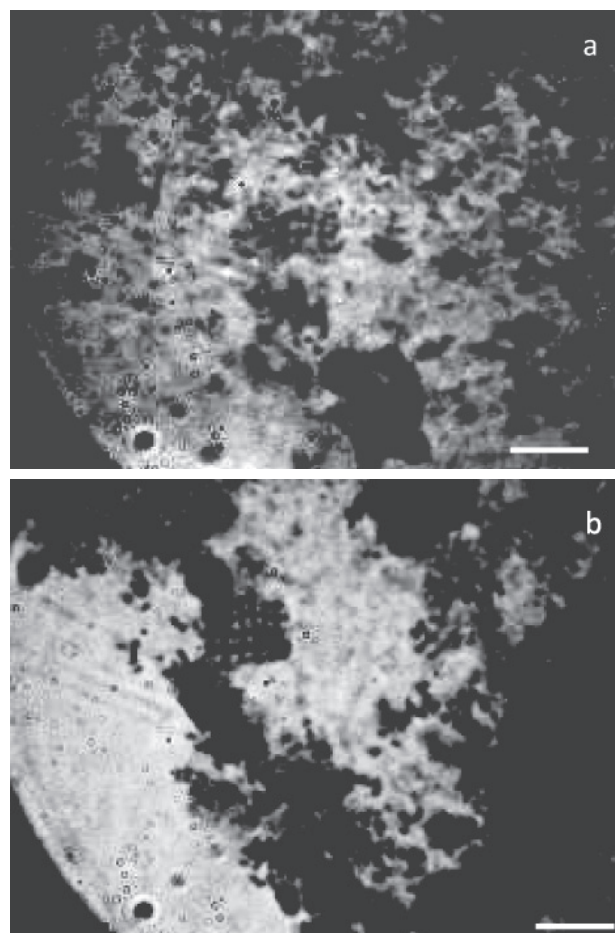
En el presente trabajo, se puede argumentar que durante la **condición operativa 2**, las bacterias nitrificantes fueron desplazadas competitivamente por las bacterias heterótrofas bajo condiciones de carga orgánica relativamente alta y baja concentración de oxígeno disuelto.

Respecto a la concentración de ortofosfato, se observó una ligera disminución en la Fase AN, sin cambios significativos en la fase AE posterior (**Figura 1b**). Estos resultados, conjuntamente con una tinción de polifosfato intracelular negativa (**Figura 2 a**) indican que no tuvo lugar el proceso EBPR.

Durante la **condición operativa 2** del SBR, los lodos activados exhibieron acumulación de PHA en la fase anaeróbica y degradación de dicho polímero en la subsiguiente fase aeróbica, según lo observado por tinción y observación microscópica. Se encontraron bacterias con forma de coco dispuestas en tétradas, denominados organismos formadores de tétradas (TFOs, *tetrad-forming organisms*) (**Figura 2b**). Es sabido que diferentes subgrupos de *Alpha*



**Figura 1.** Remoción de especies químicas de nitrógeno (N) en un ciclo de operación del SBR. a) Condición operativa 1; b) Condición operativa 2 (□) Ortofosfato (PO<sub>4</sub>-P, mg P/L); (●) N amoniacal (NH<sub>3</sub>-N, mg N/L); (■) Nitrito (NO<sub>2</sub>-N, mg N/L); (▲) Nitrito (NO<sub>2</sub>-N, mg N/L); (○) % Remoción de N inorgánico (N<sub>i</sub>). Fase S=fase de sedimentación de la biomasa



**Figura 2.** Micrografías de lodos activados de la condición operativa 2 del SBR con tinciones: a) Neisser (polifosfato) final de fase AE; b) Sudan Black (PHA) final de la fase AN. — 10 µm.

*proteobacteria* y *Gammaproteobacteria* presentan morfología TFO y fenotipo GAO, siendo frecuentemente asociados a procesos EBPR con mal funcionamiento (Oehmen *et al.*, 2007; Muszyński *et al.*, 2013). Sobre la base de esta información y de los resultados encontrados, puede argumentarse que en el presente trabajo, los TFOs correspondieron a algún grupo de GAO típico de sistemas EBPR que presentan mal funcionamiento.

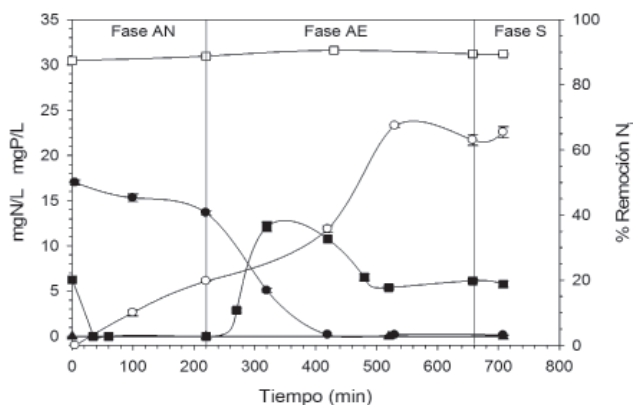
En la **condición operativa 3** la operación del SBR fue modificada a fin de recuperar el proceso de nitrificación. Las condiciones operativas fueron: ciclo=12 h, TRH=43,6 h, pH=7,5 ± 0,1 y OD>4,0 mg/L. La relación anaeróbica/aeróbica resultó de 0,5:1,0. Las cargas orgánica, de nitrógeno y fósforo del reactor, fueron 400 mg DQO/(L/día) 40 mg NH<sub>3</sub>-N/(L/día) y 20 mg P/(L/día) respectivamente, idénticas a las correspondientes a la etapa I con buena nitrificación.

La mayor longitud del ciclo y en consecuencia de la fase aeróbica, la disminución de la relación anaeróbica/aeróbica desde 1,0:1,0 hasta 0,5:1,0, la elevada concentración de oxígeno en la fase aeróbica y el pH mayor que 7,0 *a priori*, deberían favorecer el proceso de nitrificación.

El sustrato orgánico fue removido en la fase AN tal como ocurrió en las etapas previas. El reactor en estado estable presentó una concentración de biomasa de 1.157 ± 28 mg DQO<sub>B</sub>/L, la cual fue similar a la alcanzada en la **condición operativa 1**.

El amonio fue removido un 99,3%, siendo principalmente eliminado en la fase aeróbica (80,3%). Se observó la formación de nitrato mediante el proceso de nitrificación, alcanzándose una concentración de 12,1 mg N/L después de aproximadamente 2 h de iniciada la fase aeróbica. Luego se observó una reducción gradual del nivel de nitrato asociado al proceso de desnitrificación. Debe destacarse que los procesos de nitrificación y desnitrificación pudieron ocurrir conjuntamente durante la fase aeróbica, por lo tanto, no es factible determinar con certeza la magnitud de cada uno. Sin embargo, conforme a la máxima concentración de nitrato medida, pudo estimarse que al menos el 80% del amonio que ingresó en fase aeróbica fue nitrificado y al menos un 50% del nitrato generado fue eliminado por desnitrificación. A partir de los datos experimentales de nitrato, se calculó una velocidad de desnitrificación específica de 2,18 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/(g SSV h).

Al igual que bajo las condiciones operativas previas, no hubo acumulación de nitrito en el sistema. El amonio que no fue nitrificado se utilizó como fuente de N para el crecimiento de bacterias nitrificantes, desnitrificantes y heterótrofas ordinarias en la fase aeróbica. Al final del ciclo, el efluente final presentó



**Figura 3.** Remoción de especies químicas de nitrógeno (N) en la condición operativa 3 del SBR

una concentración de nitrato de 5,7 mg N/L. El nitrato presente al inicio del siguiente ciclo, fue rápidamente desnitrificado en la fase anaeróbica. La remoción de N inorgánico fue de aproximadamente un 65% (**Figura 3**).

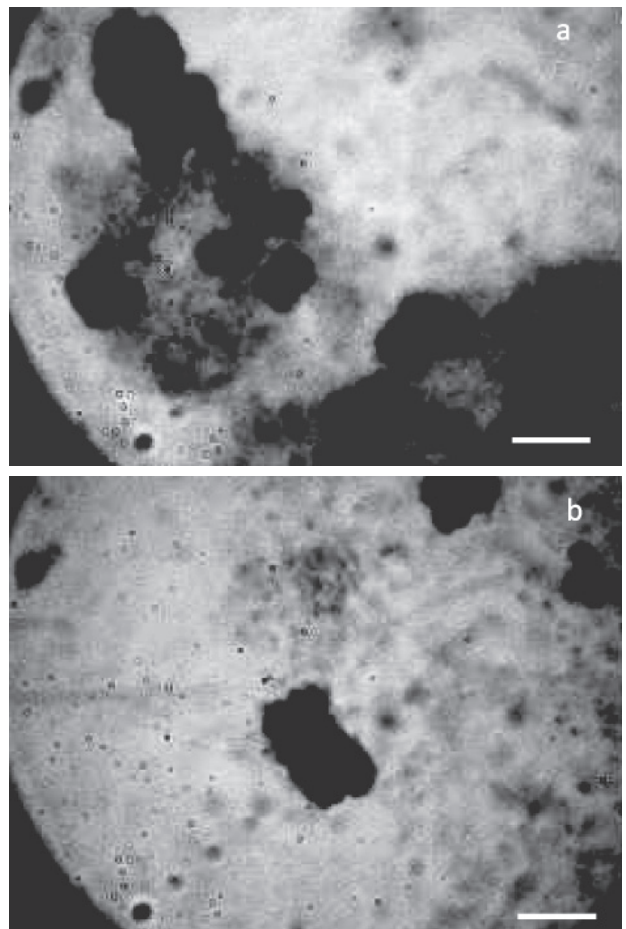
No se registraron cambios significativos en la concentración de ortofosfato durante la **condición operativa 3** del SBR (**Figura 3**) y la tinción de polifosfato intracelular resultó negativa, indicando que no tuvo lugar el proceso EBPR.

En esta última condición operativa, la comunidad microbiana fue dominada por TFOs. Estos microorganismos presentaron acumulación de PHA en la fase anaeróbica y degradación de dicho polímero en la siguiente fase aeróbica (**Figura 4**).

La velocidad de desnitrificación específica (2,18 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/(g SSV h)) en la fase aeróbica, fue mucho mayor que los valores típicos producidos por decaimiento endógeno, los cuales se encuentran en el rango 0,2-0,6 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/(g SSV h) (Kujawa y Klapwijk, 1999).

Debido a que el sustrato orgánico externo (acetato) fue completamente consumido en la fase anaeróbica, el carbono requerido en el proceso de desnitrificación debe provenir de fuentes celulares internas.

El proceso anaeróbico/aeróbico puede enriquecer dos tipos de organismos: PAO y GAO (Mino *et al.*, 1998) los cuales son capaces de almacenar internamente carbono como PHA y glucógeno. Considerando que no se observó actividad PAO durante la operación del reactor, se puede argumentar que la desnitrificación



**Figura 4.** Micrografías de lodos activados de la condición operativa 3 del SBR con tinción Sudan Black (PHA) al final de la fase AN. — 10 µm

observada durante la fase aeróbica, fue llevada a cabo por GAO desnitrificantes (DNGAO) con morfología TFO.

## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se operó un SBR a escala laboratorio con una secuencia temporal de dos fases de reacción: anaeróbica y aeróbica, lográndose una buena remoción de DQO y aceptable remoción de nitrógeno inorgánico.

La adecuada aireación aseguró una buena nitrificación. Una fase de aireación prolongada permitió lograr un proceso de desnitrificación acoplado al de nitrificación. Esta condición operativa junto, probablemente, a la relativamente alta concentración de nitrato generado, favorecieron el establecimiento de una comunidad microbiana con buena actividad desnitrificante aunque sin capacidad de remover fósforo.

La velocidad de desnitrificación medida en fase aeróbica, fue significativamente superior a los valores típicos causados por decaimiento endógeno de la biomasa microbiana.

Ante la ausencia de sustrato orgánico disuelto en la fase aeróbica, la fuente de carbono utilizada en el proceso de desnitrificación fue presumiblemente derivada de reservas intracelulares de PHA y/o glucógeno.

La desnitrificación fue realizada, probablemente, por organismos acumuladores de glucógeno (GAOs) con morfología TFO.

Está previsto llevar a cabo estudios adicionales para establecer las condiciones operativas que permitan desarrollar PAOs desnitrificantes, en detrimento de GAOs, a fin de lograr la remoción biológica tanto de nitrógeno como de fósforo. El SBR anaeróbico-aeróbico propuesto, constituye un sistema alternativo de remoción potencial de nutrientes.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ahn Y. H. (2006). Sustainable nitrogen elimination biotechnologies: A review. *Process Biochemistry* 41, 1709–1721.
- [2] Cloete T.E., Oosthuizen D.J. (2001). The role of extracellular exopolymers in the removal of phosphorus from activated sludge. *Water Res.* 35, 3595–3598.
- [3] Coats E.R., Mockos A., Loge F.J. (2011). Post-anoxic denitrification driven by PHA and glycogen within enhanced biological phosphorus removal. *Biore-sour. Technol.* 102, 1019–1027.
- [4] Dapena A., Campos J.L., Mosquera A., Jetten M., Méndez R. (2004). Stability of the AMAMMOX process in a gas-lift reactor and a SBR. *J. Biotechnol.* 110, 159–170.
- [5] Dapena A., Campos J.L., Mosquera A., Méndez R. (2006). Anammox process for nitrogen removal from anaerobically digested fish canning effluents. *Water Sci. Technol.* 53, 265–274.
- [6] Kuba T., Smolders G., Vanloosdrecht M.C.M., Heijnen J.J. (1993). Biological phosphorus removal from waste-water by anaerobic-anoxic sequencing batch reactor. *Water Sci. Technol.* 27(5-6) 241–252.
- [7] Kujawa K., Klapwijk B. (1999). A method to estimate denitrification potential for predenitrification systems using NUR batch test. *Water Res.* 33, 2291–2300.
- [8] Lee D.S., Jeon C.O., Park J.M. (2001). Biological nitrogen removal with enhanced phosphate uptake in a sequencing batch reactor using single sludge system. *Water Research* 35, 3968–3976.
- [9] Mino T., Van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J. (1998). Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process. *Water Research* 32 (11) 3193–3207.
- [10] Muszyński A., Lebkowska M., Tabernacka A., Miłobędzka A. (2013). From macro to lab-scale: changes in bacterial community led to deterioration of EBPR in lab reactor. *Central European Journal of Biology* 8, 130–142.
- [11] Oehmen A., Lemos P.C., Carvalho G., Yuan Z., Keller J., Blackall L.L., Reis M.A.M. (2007). Advances in enhanced biological phosphorus removal: From micro to macro scale. *Water Research* 41, 2271–2300.
- [12] Rodríguez D.C., Ramírez O., Mesa G.P. (2011). Behavior of nitrifying and denitrifying bacteria in a sequencing batch reactor for the removal of ammoniacal nitrogen and organic matter. *Desalination* 273, 447–452.
- [13] - Serafim L.S., Lemos P.C., Levantesi C., Tandoi V., Santos H., Reis M.A.M. (2002). Methods for detection and visualization of intracellular polymers stored by polyphosphate-accumulating microorganisms. *Journal of Microbiological Methods* 51, 1–18.
- [14] Tchobanoglous G., Burton F.L., Stensel H.D. *Wastewater engineering: treatment and reuse*, 4th ed. McGraw Hill, 2003.
- [15] USEPA. *Process design manual of nitrogen control*. EPA 625/r-93/010, Cincinnati, Ohio; 1993.
- [16] - Vargas M., Casas C., Baeza J.A. (2009). Maintenance of phosphorus removal in an EBPR system under permanent aerobic conditions using propionate. *Biochemical Engineering Journal* 43, 288–296.
- [17] Vocks M., Adam C., Lesjean B., Gnirss R., Kraume M. (2005). Enhanced postdenitrification without addition of an external carbon source in membrane bioreactors. *Water Res.* 39, 3360–3368.
- [18] Wagner M., Loy A. (2002). Bacterial community composition and function in sewage treatment systems. *Curr. Opin. Biotechnol.* 13 (3) 218–227.
- [19] Wang J. (2012). Fundamentals of biological processes for wastewater treatment. In *Biological Sludge Minimization and Biomaterials/Bioenergy Recovery Technologies*, 1st ed. Edited by Etienne Paul, Yu Liu. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, 2012.
- [20] Winkler M., Coats E.R., Brinkman C.K. (2011). Advancing post-anoxic denitrification for biological nutrient removal. *Water Res.* 45, 6119–6130.
- [21] Xu D., Chen H., Li X., Yang Q., Zeng T., Luo K., Zeng G. (2013). Enhanced nutrient removal in sequencing batch reactors operated as static/oxic/anoxic (SOA) process. *Bioresource Technology* 143, 204–211.

## Sobre los autores:

**Juan Carlos Alzate Marín** es Ingeniero de Alimentos, egresado de la Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. Se desempeña como Becario doctoral del CONICET en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). CCT-La Plata-CONICET, Universidad Nacional de La Plata (UNLP) Argentina.

**Alejandro H. Caravelli** es Licenciado en Biología y Doctor en Ciencias Naturales de la UNLP. Se desempeña como Investigador Adjunto del CONICET en el CIDCA.

**Noemí E. Zaritzky** es Ingeniera Química, egresada de la UNLP y Doctora en Ciencias Químicas de la UBA. Se desempeña como docente en la Facultad de Ingeniería de la UNLP, e investigadora Superior del CONICET y Directora CIDCA).

Los autores pueden ser contactados en las direcciones electrónicas [ing.juankal@yahoo.es](mailto:ing.juankal@yahoo.es), [alejandrocavelli@hotmail.com](mailto:alejandrocavelli@hotmail.com) y [zaritzky@ing.unlp.edu.ar](mailto:zaritzky@ing.unlp.edu.ar), respectivamente.

SEGUINOS EN:



[https://twitter.com/AIDIS\\_ARGENTINA](https://twitter.com/AIDIS_ARGENTINA)

