



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

Trabajo Final de Máster

**PUESTA A PUNTO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA
CALIBRACIÓN DE PARÁMETROS DEL MODELO DE
PROCESOS ANAEROBIOS**

MÁSTER EN INGENIERÍA AMBIENTAL

SILVIA GRESES HUERTA
Valencia, diciembre 2012

Directores:

Dra. Aurora Seco Torrecillas
Dr. Joaquín Serralta Sevilla

Agradecer a mis directores, la Dra. Aurora Seco Torrecillas y el Dr. Joaquín Serralta Sevilla, su dedicación, compromiso y apoyo, sin los cuales no habría sido posible el desarrollo de este proyecto final de máster.

A mis compañeros del grupo CALAGUA por toda la ayuda recibida y los conocimientos proporcionados a lo largo de toda la fase de experimentación.

A mis familiares y amigos por el apoyo y la comprensión que me han dad, y su ánimo en los buenos momentos y en los más difíciles.

En especial, a esa persona que quiero y siempre querré. Por estar siempre ahí.

Gracias.

RESUMEN

La depuración de aguas residuales requiere del desarrollo de muchos procesos de transformación de forma simultánea o consecutiva que dificultan su estudio. Además, la complejidad de los procesos de depuración va en aumento no sólo por la aparición de requisitos de vertido cada vez más exigentes sino también por las nuevas tendencias hacia el desarrollo sostenible aplicadas a este proceso y centradas fundamentalmente en el ahorro energético y la recuperación de nutrientes de las aguas residuales para mejorar su ciclo de vida. Por este motivo, se hace necesario el uso de herramientas de simulación que tengan en cuenta todos estos procesos mediante un modelo matemático adecuado y que ayuden a determinar y prever el comportamiento de distintos esquemas de tratamiento. Estos simuladores se han convertido en una herramienta necesaria tanto en el diseño como en el control y optimización del funcionamiento de estaciones depuradoras de aguas residuales (EDAR).

Con el fin de que un modelo represente fielmente la realidad y de esta manera pueda emplearse para simular distintos procesos, los parámetros de mayor influencia de dicho modelo deben ser calibrados.

El objetivo fundamental de este trabajo final de máster es establecer el montaje y el protocolo experimental para llevar a cabo la calibración de los parámetros correspondientes a las bacterias sulfato reductoras (SRB), con el fin de obtener una metodología que permita conocer los parámetros de todos los procesos que tienen lugar en un tratamiento anaerobio. Para ello se han llevado a cabo distintos ensayos en *batch*, tanto en botellas individuales como en reactores anaerobios a escala de laboratorio, en los que se ha medido el consumo que se produce a lo largo del tiempo de los ácidos grasos volátiles (AGV) y sulfatos.

Llevar a cabo una calibración en procesos anaerobios es una tarea compleja puesto que no existe un parámetro tan fiable y fácil de medir como el oxígeno. Por ello, se hace necesario el establecimiento de un protocolo de manipulación de muestras anaerobias y de las técnicas analíticas a emplear.

La medición de sulfatos es un problema tener en cuenta pues se altera cuando la muestra entra en contacto con la atmósfera, debido a que los sulfuros presentes se oxidan químicamente. Para lograr una correcta medida del SO_4^{-2} se probaron distintas formas de extraer la muestra, empleando finalmente una sal metálica para precipitar los sulfuros presentes.

La validez de esta puesta a punto de la metodología de calibración de bacterias se ha demostrado obteniendo el valor de la constante de semisaturación (K_{SO_4}) y el valor del rendimiento de las bacterias sulfato reductoras (Y_{SRB}), pudiendo obtener en un futuro otros parámetros de las bacterias SRB como puede ser la velocidad de crecimiento ($\mu_{\text{SRB-ac}}$).

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Tratamiento de aguas residuales urbanas	2
1.1.1. Tratamientos biológicos de las aguas residuales	4
1.1.2. Microbiología de los procesos biológicos	5
1.1.3. Tratamientos aerobios de aguas residuales para la eliminación de MO	6
1.1.4. Tratamientos anaerobios de aguas residuales para la eliminación de MO	10
1.2. Procesos implicados en la degradación anaerobia de materia orgánica	14
1.2.1. Hidrólisis	16
1.2.2. Acidogénesis	17
1.2.3. Acetogénesis	17
1.2.4. Metanogénesis	19
1.2.5. Procesos llevados a cabo por las bacterias SRB	19
1.2.6. Parámetros que afectan al proceso anaerobio	22
1.3. Modelos matemáticos para el tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas	27
1.3.1. Crecimiento microbiano	28
1.3.2. Estequiometría y cinética de los procesos biológicos	29
1.3.3. Formato y notación	30
1.3.4. Modelos existentes para el proceso de fangos activos	31
1.3.5. Modelos existentes para el proceso de digestión anaerobia de fangos	32
1.3.6. Modelación biológica integrada	38
1.4. Calibración de modelos de tratamiento de aguas residuales	39
1.4.1. Metodologías de calibración	40
2. OBJETIVO	45
3. MATERIALES Y MÉTODOS	47
3.1. Montaje experimental	47
3.1.1. Ensayos en botellas	47
3.1.2. Ensayos en reactor	47
3.2. Fango utilizado para los experimentos	48
3.3. Diseño de experimentos	50
3.3.1. Procedimiento experimental en botellas	51
3.3.2. Procedimiento experimental en reactores	53
3.4. Métodos analíticos	53

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1. Ensayos en botellas	55
4.1.1. Resultados obtenidos	55
4.2. Ensayos en reactor	69
4.2.1. Resultados obtenidos	69
5. CONCLUSIONES	75
6. BIBLIOGRAFÍA	77

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

El agua es un constituyente esencial en todos los seres vivos, por eso a la hora de abordar los problemas medioambientales, el agua y la gestión de los recursos hídricos constituyen uno de los puntos más importantes, teniendo una importancia capital en el equilibrio económico, social y medioambiental.

La calidad del agua está sujeta a fluctuaciones debido a que el uso de los recursos naturales provoca un efecto sobre los ecosistemas de donde se extraen así como en los ecosistemas donde se utiliza. La concentración demográfica, el establecimiento de focos industriales y la demanda cada vez mayor de servicios generan volúmenes de aguas residuales que, tanto por cantidad como por calidad, amenazan con desequilibrar la integridad de acuíferos, de ríos y de aguas litorales, resultando claro que la prevención de la contaminación y la rehabilitación de fuentes de agua ya contaminadas deben ser acciones prioritarias con respecto al desarrollo de tecnologías de purificación puesto que éstas son cada vez más complejas y su coste aumenta a medida que el número de contaminantes crece. Por esta razón, las soluciones *end of pipe* deben ser sustituidas por prácticas de reciclado y reutilizado.

En el caso del agua, todo lo que se encuentra en ella y no es agua es una impureza, considerándose éstas como contaminantes cuando su concentración alcanza un nivel tal que pueda dañar la vida acuática, la salud pública o afectar negativamente a los distintos usos del agua. De esta forma, puede definirse el agua residual como la combinación de residuos líquidos procedentes tanto de usos domésticos como industriales y aguas de uso agrícola, pudiendo agregarse eventualmente aguas pluviales si el sistema de alcantarillado es unitario.

Las aguas residuales procedentes de las actividades domésticas están constituidas en su mayoría por sustancias biodegradables, siendo su composición poco variable y dependiendo básicamente del nivel de vida, las costumbres, la localización geográfica, la climatología, la disponibilidad y el coste del agua. Por el contrario, las aguas residuales industriales presentan unas características muy diversas dependiendo de las distintas clases de industrias que las generan y variando incluso dentro de un mismo tipo de industria en función los procesos de fabricación y con las materias primas que se utilicen.

Aunque debido a las diferentes naturalezas del agua residual existe una gran variedad de sustancias contaminantes del agua, éstas pueden clasificarse en función de las características que alteren en tres categorías:

- *Contaminantes físicos*. Aquellos contaminantes que alteran las características físicas del medio como pueden ser sólidos suspendidos, turbidez, color, transmitancia, olor y sabor, temperatura, densidad, espumas, grasa y aceites. Este tipo de contaminación es la que causa un mayor impacto y rechazo por parte del ciudadano.

- *Contaminantes químicos.* Aquellos contaminantes que alteran las características químicas del medio, pudiendo ser tanto orgánicos como inorgánicos. El aspecto fundamental de la contaminación de productos orgánicos es la disminución del oxígeno disuelto existente en el medio receptor como resultado de su utilización en el proceso de degradación biológica, mientras que en el caso de compuestos inorgánicos la consecuencia más importante es su posible efecto tóxico. Sin embargo, es necesario tener en cuenta que existen casos en los que los compuestos inorgánicos presentan demanda de oxígeno y que no todos los compuestos tóxicos son inorgánicos.

- *Contaminantes biológicos.* Aquellos contaminantes que alteran las características biológicas del medio, dando lugar a una gran variedad de microorganismos cuyo tamaño y presencia dependerá de las condiciones ambientales.

En muchas ocasiones los vertidos de aguas residuales urbanas superan la capacidad de dilución y autodepuración de los cauces y medios receptores, lo que conlleva a un deterioro progresivo de la calidad de los mismos, e imposibilita la reutilización posterior del agua. La acumulación y estancamiento del agua residual junto con la elevada presencia de microorganismos patógenos y la elevada concentración de nutrientes que contiene, produce una descomposición de la materia orgánica presente dando lugar a olores producidos por los gases generados y a una proliferación excesiva de microorganismos y algas que pueden crear a un problema de eutrofización del medio.

Es por todo ello que la evacuación inmediata del agua residual de sus fuentes, seguida de su tratamiento y posterior evacuación, es necesaria para toda sociedad desarrollada e industrializada.

1.1. Tratamiento de aguas residuales urbanas

El tratamiento de las Aguas Residuales Urbanas (ARU) permite reducir o eliminar los diferentes contaminantes presentes en el agua que proviene del uso humano, de forma que el efluente tratado cumpla los límites de vertido impuestos por la legislación vigente y pueda ser asimilado de forma natural por el medio receptor. Así mismo, el proceso de depuración genera un residuo sólido denominado *fango* que debe ser convenientemente tratado para su posterior disposición o reutilización.

El tipo y grado de tratamiento aplicado al agua residual depende del lugar donde se vaya a realizar la descarga del efluente. Por ello, es conveniente analizar las condiciones y necesidades locales de cada caso, considerando la legislación correspondiente para así poder aplicar los métodos de tratamiento más adecuados.

Entre los contaminantes presentes en las aguas residuales cabe destacar los que se citan a continuación:

- Sólidos en suspensión.
- Materia orgánica biodegradable. Compuesta principalmente por carbohidratos, proteínas y lípidos.
- Materia orgánica no biodegradable. Como pueden ser agentes tensioactivos, fenoles y pesticidas.
- Microorganismos patógenos. Aquellos que habitan en el aparato intestinal humano o que proceden de ciertos residuos industriales y son causantes de enfermedades.
- Contaminantes prioritarios. Engloban compuestos orgánicos o inorgánicos con carácter cancerígeno, mutagénico o tóxico.
- Metales pesados. Procedentes de actividades industriales y que han de eliminarse si se pretende reutilizar el agua o el fango tras el proceso de depuración.
- Nutrientes. Principalmente nitrógeno y fósforo, necesarios para el crecimiento de los microorganismos, pero que en cantidades excesivas generan graves problemas en el medio acuático.

Para conseguir el nivel adecuado de eliminación de los contaminantes, las Estaciones Depuradoras de Aguas Residuales (EDAR) emplean un conjunto de operaciones o procesos unitarios para llevar a cabo el tratamiento, dependiendo éstos de la composición de las aguas a tratar. En función del agente responsable del cambio de calidad del agua, estas operaciones se pueden clasificar de la siguiente forma:

- **Operaciones físicas unitarias.** Aquellas que modifican la calidad del agua mediante la aplicación de fuerzas físicas para producir la separación de los contaminantes del medio acuoso. Este tipo de procesos permiten la eliminación de los sólidos presentes en el agua residual siendo los tratamientos más comúnmente empleados la eliminación de sólidos gruesos, mediante enrejados, tamices o desarenadores, y la sedimentación, en la que se eliminan los sólidos suspendidos del agua por acción de la gravedad.

- **Procesos unitarios químicos.** Procesos que se basan en la adición de compuestos químicos para la modificación de la calidad del agua. La eliminación de los contaminantes en este tipo de procesos, se lleva a cabo por la reacción química del contaminante con el compuesto químico adicionado al agua residual, siendo las operaciones unitarias químicas más importantes la adsorción, la precipitación de fósforo mediante la adición de sales metálicas y la desinfección.

- **Procesos unitarios biológicos.** Procesos que se basan en las reacciones bioquímicas que llevan a cabo determinados microorganismos para su propio crecimiento. Estos microorganismos tienen la capacidad de tomar algunos de los

principales contaminantes presentes en las aguas residuales (MO, P, N, S), para la síntesis de nuevo tejido celular y como fuente de energía para su metabolismo. Entre los procesos biológicos cabe destacar el proceso de fangos activados y la digestión de fangos.

Toda esta serie de operaciones y procesos unitarios se combinan físicamente en las EDAR de tal forma que, según el orden de aplicación sobre el agua a tratar, se pueden agrupar en:

- Pretratamientos. Incluyen las operaciones unitarias destinadas a la eliminación de los sólidos de mayor tamaño que pueden atascar o dañar las instalaciones posteriores, así como las gravas, grasas y arenas. El pretratamiento consta de dos etapas principalmente: el desbaste y el desarenado-desengrasado.
- Tratamientos primarios. Engloban las operaciones unitarias destinadas a la eliminación de una fracción de los sólidos suspendidos y de la materia orgánica y nutrientes asociados a ellos. Se emplean *decantadores* donde la materia en suspensión sedimentable, sedimenta por acción de la gravedad junto con una buena parte de la contaminación. El proceso de decantación puede potenciarse con reactivos químicos para aumentar la fracción de sólidos sedimentables mediante procesos de coagulación-floculación.
- Tratamientos secundarios. Engloban todas aquellas operaciones y procesos que tienen como objeto la eliminación de los sólidos suspendidos no eliminados en el tratamiento primario, de la materia orgánica biodegradable y, en algunos casos, de los nutrientes. En este tratamiento se emplean fundamentalmente procesos biológicos seguidos de un proceso de sedimentación puesto que en los procesos biológicos, la materia orgánica disuelta es degradada por microorganismos y transformada en sólidos sedimentables que son separados del efluente mediante decantadores secundarios. La eliminación de nutrientes puede conseguirse variando las condiciones ambientales de los reactores empleados para favorecer el crecimiento de determinadas poblaciones de microorganismos.
- Tratamientos terciarios. Se aplican con la finalidad de obtener un efluente de alta calidad que pueda ser reutilizado. Dentro de estos tratamientos destacan las etapas de desinfección mediante radiación ultravioleta, con ozono y la eliminación de sólidos mediante filtros de arena. También pueden incluirse en los tratamientos terciarios la precipitación de fósforo.

1.1.1. Tratamientos biológicos de las aguas residuales

Los tratamientos biológicos persiguen, como principal objetivo, la eliminación bioquímica de la materia orgánica presente en las aguas residuales. Esta materia orgánica es eliminada del agua por la acción de diversos grupos de microorganismos (biomasa) a través de reacciones bioquímicas, en las que éstos utilizan la materia orgánica como fuente de carbono (sustrato) para la síntesis de nueva materia celular y

como fuente de energía para su metabolismo. Debido al consecuente crecimiento de la biomasa, el proceso biológico va unido necesariamente a un proceso de separación física, cuya finalidad es tanto la clarificación del efluente del proceso biológico como la retención de la biomasa obtenida en el mismo.

Con el paso del tiempo, debido al aumento de la problemática relativa a la eutrofización como consecuencia de un exceso de nutrientes en los vertidos, se han desarrollado también sistemas biológicos para la eliminación de nutrientes, puesto que una variable fundamental que determina el tipo de tratamiento a implementar para un agua determinada es el tipo de medio receptor del agua efluente de la EDAR.

Los tratamientos biológicos de aguas residuales pueden clasificarse en función de varios criterios, siendo uno de los más extendidos el tipo de soporte sobre el cual se lleva a cabo el crecimiento de la biomasa. A partir de este criterio, los tratamientos se pueden clasificar como:

- **Procesos biológicos de cultivo en suspensión.** Los microorganismos se encuentran suspendidos en medio líquido, pudiéndose distinguir cuatro clásicos grandes grupos: fangos activados, lagunas aireadas, lagunaje y tratamiento de fangos.
- **Procesos de soporte sólido.** La biomasa se encuentra fijada en un soporte sólido inerte formando una película de pequeño espesor. El medio soporte puede encontrarse fijo en una columna, fluyendo el agua a través de la misma, o puede girar alrededor de un eje, moviéndose dentro del fluido. Esto dan lugar a dos tipos fundamentales de tratamiento mediante cultivo fijo: filtros percoladores y contactores biológicos rotatorios.

El tipo de tratamiento seleccionado para la EDAR, proporcionará las condiciones controladas que fomenten la correcta proliferación de la biomasa necesaria para la eliminación de los contaminantes seleccionados. Por ello, un factor determinante del éxito del proceso biológico seleccionado, es el conocimiento exhaustivo de la biomasa involucrada en dichos procesos y el adecuado conocimiento de aquellas condiciones que favorecen su crecimiento.

1.1.2. Microbiología de los procesos biológicos

Los microorganismos que intervienen en los procesos biológicos se pueden clasificar en función del tipo de fuente de carbono y en función del tipo de aceptor de electrones que interviene en el metabolismo microbiano.

La clasificación de la biomasa en función de la fuente de carbono utilizada es la siguiente:

- *Biomasa heterótrofa:* Microorganismos cuya fuente de carbono es de origen orgánico, es decir, precisan de compuestos orgánicos como fuente de carbono para

llevar a cabo el crecimiento celular. Esta fuente de carbono es utilizada por este tipo de microorganismos tanto para la síntesis de nuevo tejido celular como a modo de compuesto dador de electrones. Al necesitar compuestos orgánicos, estos microorganismos, son capaces de realizar la eliminación de la MO presente en el agua residual.

- *Biomasa autótrofa*: Microorganismos que no precisan de fuente de carbono de origen orgánico, llevando a cabo su crecimiento a partir del carbono inorgánico presente en el medio (fundamentalmente CO₂). Generalmente su crecimiento está menos limitado por la existencia o no de carbono en el medio, ya que si se trata de sistemas abiertos a la atmósfera, el equilibrio *aire-medio acuoso* mantendrá de forma permanente una cantidad determinada de CO₂ disuelto en el fluido. Sin embargo, a diferencia de los microorganismos heterótrofos, estos precisan de otros compuestos que actúen como dadores de electrones. Entre los organismos autótrofos que participan en los procesos biológicos cabe destacar las bacterias amonioxidantes (responsables de la oxidación del amonio a nitrito) y las bacterias nitritooxidantes (responsables de la oxidación del nitrito a nitrato) que utilizan el amonio y el nitrito como dador de electrones respectivamente.

La clasificación de la biomasa en función del aceptor de electrones es la siguiente:

- *Biomasa aerobia*: Microorganismos que crecen necesariamente en condiciones aerobias, siendo el oxígeno el elemento utilizado como aceptor de electrones.

- *Biomasa facultativa*: Microorganismos que presentan una mayor capacidad de adaptación a las variaciones de las condiciones del medio que los anteriores. Son capaces de crecer utilizando oxígeno como aceptor de electrones, y en déficit de éste, utilizan otros compuestos como aceptores de electrones como son el nitrito o el nitrato. Estos microorganismos son los responsables de los procesos de desnitrificación en los que reducen el nitrito o nitrato a nitrógeno gas.

- *Biomasa anaerobia*: Microorganismos que no pueden utilizar el oxígeno como aceptor de electrones, siendo la presencia en el medio de este componente, inhibitoria para la mayor parte de estos microorganismos. Este conjunto de microorganismos utiliza como aceptores de electrones diversos compuestos orgánicos, así como el protón o el sulfato entre otros.

1.1.3. Tratamientos aerobios de aguas residuales para la eliminación de MO

Los diferentes tipos de tratamientos nombrados han ido evolucionando según las necesidades surgidas. Actualmente, los tratamientos aerobios de mayor aplicación en el sector de la depuración de aguas de origen urbano son los mostrados a continuación, detallándose las características fundamentales de algunos de los procesos de tratamiento, de mayor implementación, para la eliminación de la materia orgánica presente en las aguas residuales.

○ *Fangos activos*

Los fangos activados son procesos aerobios de cultivo en suspensión que han sido empleados tradicionalmente para la eliminación de la materia orgánica. Puesto que son los de mayor implementación, estos procesos han ido desarrollándose de forma que en la actualidad, son empleados no sólo para la eliminación de la materia orgánica, sino también para la eliminación de nutrientes, gracias a la combinación de cámaras de tipo aerobio con otras de tipo anóxico o anaerobio.

Como puede observarse en la *Figura 1.1*, un sistema convencional de fangos activados está compuesto por un reactor biológico, en el cual se mantiene la biomasa en suspensión durante un periodo de tiempo que permita la eliminación de la materia orgánica, y un decantador secundario donde se produce la separación física de la biomasa del efluente clarificado. Una parte de esta biomasa es eliminada del proceso mediante una corriente de purga mientras el resto de fangos se recirculan al reactor biológico, permitiendo así que el tiempo de permanencia de los microorganismos en el sistema sea mayor que el tiempo de retención del agua residual.

El aporte de oxígeno se realiza por medios mecánicos con el fin de proporcionar la concentración de oxígeno que garantice la eliminación de la MO y/o nutrientes por parte de la biomasa. El tiempo de retención celular determina tanto el rendimiento en la eliminación de materia orgánica como la cantidad de oxígeno requerida en el proceso, llevándose a cabo el control de este parámetro con la cantidad de fangos que se elimina del sistema a través de la corriente de purga.

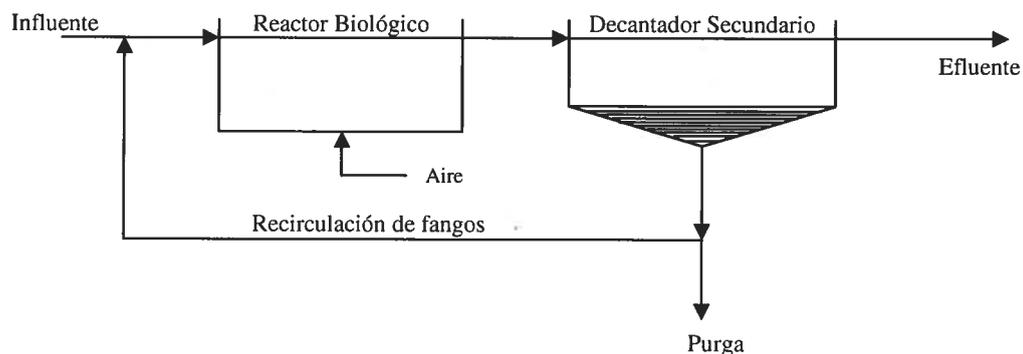


Figura 1.1. Esquema general del proceso de fangos activados.

○ *Reactores biológicos de membranas (MBR)*

Los Reactores Biológicos de Membranas (MBR) combinan el proceso de fangos activos convencional con un sistema físico de separación por membranas, con el objetivo de minimizar el volumen de reacción necesario. El proceso de separación física por membranas se caracteriza por una mayor capacidad de retención de sólidos, obteniendo un efluente con una concentración de sólidos despreciable y, en función del tamaño de poro de la membrana seleccionada, exento de bacterias y de patógenos.

Estos reactores pueden adoptar dos configuraciones básicas: MBR de flujo tangencial y MBR de membranas sumergidas.

En un principio, los MBR consistían en reactores de membranas de flujo tangencial (*Figura 1.2a*). La separación por flujo tangencial obliga a trabajar a elevadas velocidades de flujo a través de las membranas, con el fin de reducir la acumulación de sólidos sobre la superficie de la membrana (*fouling*) y mantener una presión transmembrana (PTM) adecuada para llevar a cabo la filtración. Estas elevadas velocidades de flujo se establecen mediante la generación de un elevado caudal de circulación sobre la superficie de las membranas, producido por la bomba de recirculación de fangos entre el tanque de reacción y el módulo de membranas. Por ello, el mayor inconveniente de este modo de operación, es el gran consumo energético necesario para conseguir estos elevados flujos.

Un importante avance para esta tecnología fue el desarrollo de la disposición MBR con membranas sumergidas (SMBR), ya que esta disposición de MBR opera a PTM muy inferiores a las establecidas para los sistemas de flujo tangencial, minimizando así los consumos energéticos derivados del proceso de filtración. En los sistemas SMBR, las membranas pueden estar integradas directamente en el reactor de fangos (caso que ilustra la *Figura 1.2b*) o situadas en tanques externos. La tecnología SMBR permite por tanto minimizar el consumo energético asociado a la bomba de recirculación (siendo posible su completa eliminación en el caso de integrar directamente las membranas en el reactor de fangos), ya que no se requieren elevadas velocidades de circulación sobre la superficie de las membranas para generar el flujo de permeado (éste se obtiene por filtración a vacío). Con el objetivo de minimizar el *fouling* en sistemas SMBR, las membranas pueden ser agitadas mediante la introducción de aire (para el caso de MBR aerobios) al tanque donde se localizan. La agitación del fango que rodea la membrana mediante la difusión de aire a baja presión favorece la formación de esfuerzos cortantes sobre la superficie de las membranas, favoreciendo la eliminación de la torta de sólidos formada sobre la superficie de las mismas durante el proceso de filtración. Por tanto, esta difusión de aire cubre tres objetivos básicos: suministrar la concentración de oxígeno necesaria para el proceso biológico de degradación aerobia de MO, proporcionar un grado de mezcla adecuado para aproximar el sistema a un RCTA (Reactor Continuo de Tanque Agitado) y minimizar la formación de la torta sobre las membranas. Además, la difusión de aire mejora las características del flóculo en el licor mezcla, ya que se minimiza la desestabilización y rotura de flósculos que se producían en los anteriores procesos de flujo tangencial, como consecuencia de las elevadas velocidades de flujo de operación requeridas [Van Der Roest *et al.*, 2005].

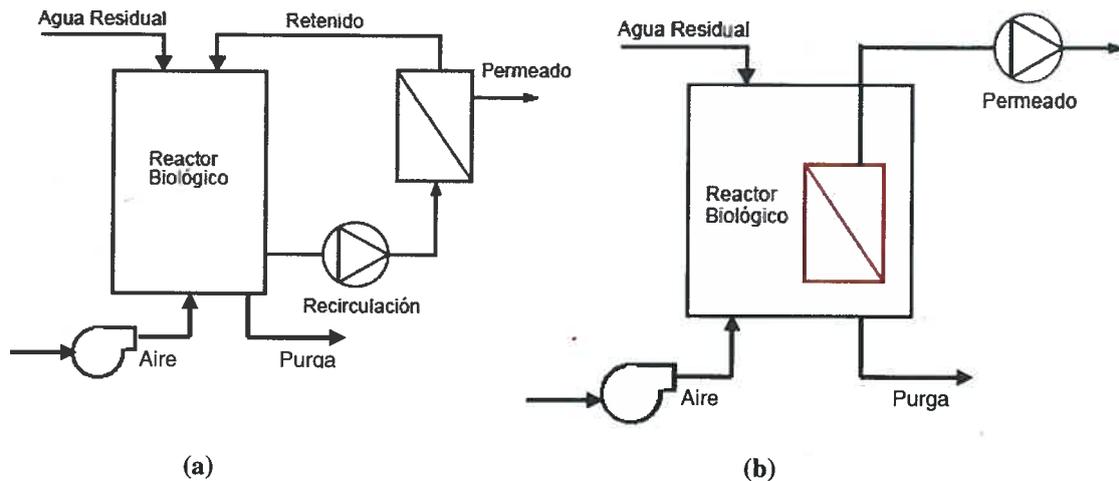


Figura 1.2. Tipos fundamentales de MBR. (a): Flujo tangencial; (b): Membranas sumergidas.

Los principales beneficios de la tecnología MBR frente al sistema clásico de fangos activados se resumen en:

- Obtención de un efluente completamente clarificado y prácticamente desinfectado.
- Minimización considerablemente la extensión de terreno necesaria para la EDAR.
- Reducción de la problemática asociada a la producción de espumas gracias al nuevo sistema de separación de los fangos del efluente clarificado.
- Independencia del Tiempo de Retención Hidráulico (TRH) y TRC, ya que se hace posible un incremento del TRC sin necesidad de aumentar el volumen de reacción.
- Intensificación del proceso de eliminación de materia orgánica gracias a la retención de gran parte de los microorganismos presentes en el licor mezcla. Esta característica permite una mayor diversidad microbiológica debido a la retención de aquellas especies que presentan un crecimiento más lento.

○ *Procesos de soporte sólido*

Estos procesos se caracterizan por tener fijada la biomasa sobre algún tipo de soporte o medio sólido, pudiendo ser dichos soportes estáticos o móviles. Los sistemas de tratamiento por soporte sólido más extendidos son los filtros percoladores y los contactores biológicos rotatorios, así como el sistema integrado de fangos activados y biomasa fija (IFAS, *Integrated Fixed-film/Activated Sludge*).

- *Filtros percoladores:* Esta tecnología consiste en lechos estáticos de un determinado medio poroso sobre los que se irriga el agua residual a tratar, creándose una biopelícula bacteriana en las paredes de dicho medio. La aireación, que suministra el oxígeno necesario para que tenga lugar el

proceso biológico, se realiza en contracorriente con flujo ascensional, ya que se trata de sistemas en régimen de no saturación. La operación correcta de estos filtros implica el desprendimiento continuo y uniforme de los fangos que posteriormente son recogidos en un decantador secundario, pudiendo operar con recirculación del sobrenadante o sin ella.

- *Contactores biológicos rotatorios*: Esta tecnología consiste en cilindros (biocilindros) o discos (biodiscos) de material plástico, ensamblados sobre un eje horizontal. Mediante rotación, la biomasa entra en contacto alternativamente con el agua residual a tratar y con la atmósfera, de la que absorbe el oxígeno. A su vez, la rotación de los discos sirve para desprender el exceso de biomasa y para mantener los flóculos en suspensión.

- o *IFAS (Integrated Fixed Film Activated Sludge)*

Tecnología híbrida de fango activado/biomasa fija que permite incrementar la concentración de biomasa en un sistema de fangos activados tradicional, sin necesidad de incrementar el volumen de reacción necesario. Este incremento en la biomasa se obtiene mediante la incorporación a los reactores aireados de un lecho móvil donde se produce el crecimiento bacteriano adherido. Este sistema presenta las siguientes ventajas técnicas:

- Mejora el rendimiento del proceso de depuración.
- Permite tratar efluentes de mayor carga orgánica.
- Genera una gran estabilidad del fango y disminuye su producción.
- Reduce los problemas de decantación que conlleva trabajar con fangos activados de elevada concentración de sólidos.

1.1.4. Tratamientos anaerobios de aguas residuales para la eliminación de MO

En los tratamientos anaerobios se produce la descomposición de la materia orgánica e inorgánica en ausencia de oxígeno molecular y nitratos, siendo sus principales aplicaciones la estabilización de fangos concentrados producidos en el tratamiento de aguas residuales y, en una menor proporción pero con una tendencia de aumento significativa, para el tratamiento de residuos orgánicos diluidos como es el caso de las aguas residuales domésticas.

Las ventajas e inconvenientes del tratamiento anaerobio de un residuo orgánico en comparación al tratamiento aerobio, son las siguientes:

- Desventajas:
 - Son necesarios elevados tiempo de retención. El lento crecimiento de las bacterias formadoras de metano obliga a trabajar con tiempos de retención más elevados para conseguir una adecuada estabilización de los residuos.
 - Son necesarios elevados volúmenes. En los tratamientos anaerobios convencionales no hay recirculación de fangos siendo iguales el TRH y el TRC, por lo que emplear elevados tiempos de retención conlleva también a la necesidad de incrementar los volúmenes.
 - Temperatura elevada. Normalmente los tratamientos anaerobios, a fin de reducir los elevados volúmenes necesarios, trabajan en un intervalo mesofílico de temperatura (30-38°C) lo que implica el coste energético de calentar el agua hasta esa temperatura.
- Ventajas:
 - Bajas producciones de fango. El bajo crecimiento de estos microorganismos implica que sólo una parte del residuo orgánico biodegradable está siendo sintetizado en forma de nuevas células, produciéndose menor cantidad de fango que en un tratamiento aerobio.
 - Menor consumo energético. En los tratamientos aerobios la aireación supone un porcentaje elevado del gasto energético total. En el caso de los tratamientos aerobios los costes energéticos son inferiores puesto que carecen de esta aireación, y el consumo que puedan tener por las necesidades propias de operación puede ser abastecido gracias a la generación de metano. Mediante la acción de las arqueas metanogénicas, la mayor parte del residuo orgánico se transforma en metano, que es un gas combustible a partir del cual se puede obtener energía.

A causa de la baja tasa de crecimiento celular y de la conversión de la materia orgánica en metano y CO₂, la materia sólida resultante suele estar bien estabilizada, esto la convierte, tras el proceso de deshidratación o secado, en un material apto para su evacuación a vertedero, para el compostaje o para su aplicación sobre el terreno.

Por todo ello, el éxito de la implementación de un determinado tratamiento anaerobio de aguas residuales, pasa por la consideración de las características que diferencian a estos de un sistema de tratamiento aerobio:

- Los sistemas anaerobios son muy sensibles a las variaciones de temperatura y pH.
- Son necesarios tiempos de retención celular elevados.

- La separación física por sedimentación se hace extremadamente compleja debido a que los flóculos formados son mucho más pequeños, siendo menor su velocidad de sedimentación y dificultando la recirculación del fango tras la decantación para aumentar el TRC.

Para la eliminación anaerobia de la materia orgánica, presente tanto en las aguas residuales de alta carga como en las aguas residuales de media/baja carga, los procesos de tratamiento empleados de mayor implementación son los detallados a continuación:

- *Reactores Mono-etapa*

Consiste en un único reactor de tanque agitado, sin separación del clarificado y del licor mezcla, siendo por tanto la concentración de cualquier componente del efluente igual a la del interior del reactor (RCTA). Este tipo de reactor solamente es apropiado para el tratamiento de efluentes muy concentrados, como pueden ser los efluentes industriales que contienen entre un 2% y un 8 % en sólidos, necesitando de un tratamiento posterior para separar el efluente y decantar los sólidos presentes. La homogenización puede llevarse a cabo de diferentes formas:

- Recirculando el contenido del reactor.
- Recirculando biogás.
- Mediante agitación mecánica.

En la *Figura 1.3a* se muestra el esquema fundamental de un reactor anaerobio mono-etapa.

- *Proceso de contacto*

En el proceso anaerobio de contacto, los residuos que se quiere tratar se mezclan con fango digiriéndose en un reactor cerrado para evitar la entrada de aire y favorecer la recolección de biogás. El contenido del reactor se mezcla completamente y, tras la digestión, la mezcla se separa en un clarificador o una unidad de flotación al vacío, de donde el fango anaerobio sedimentado se recircula para mantener una mayor cantidad de biomasa en el sistema. En la *Figura 1.3b* se muestra el esquema de un proceso anaerobio de contacto.

Este sistema permite trabajar con cargas orgánicas mayores al anterior, encontrándose esta carga limitada por la cantidad de biomasa que se puede retener en el reactor que, a su vez, depende de la eficacia de los sistemas de recirculación y decantación de los lodos [Ferrer y Seco, 2003].

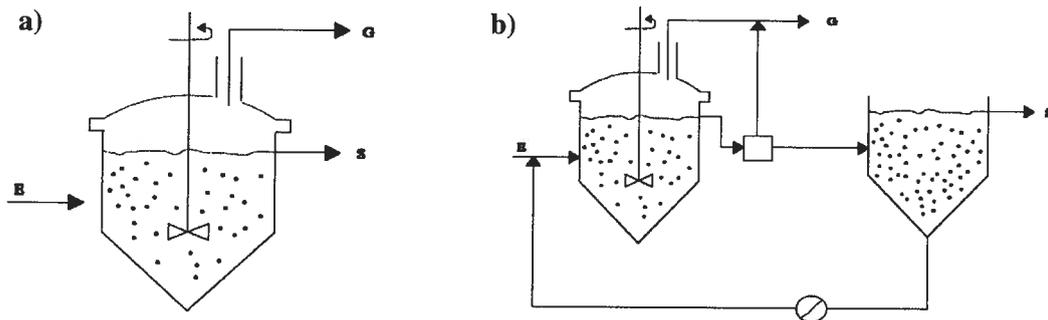


Figura 1.3. Reactor Mono-Etapa (a) y Proceso de contacto (b)

○ *Filtros anaerobios (USSB, Upflow Static Sludge Bed)*

Reactor relleno de diversos tipos de medios sólidos que se utiliza para el tratamiento anaerobio del agua residual, cuyo esquema se muestra en la *Figura 1.4a*. El agua a tratar fluye en sentido ascendente, entrando en contacto con el medio sobre el que se desarrollan y fijan las bacterias anaerobias quedando el material de relleno completamente sumergido en el agua residual y, por ello, carente de aire. Dado que las bacterias están adheridas al medio y no son arrastradas por el efluente, se pueden obtener tiempos medios de retención celular elevados con bajos tiempos de retención hidráulicos.

La aplicación de este sistema es adecuada para el tratamiento de corrientes con poca cantidad de sólidos en suspensión, ya que presentan las mismas problemáticas que el resto de reactores de lecho fijo: creación de caminos preferenciales, obstrucción y colmatación a causa de los sólidos, etc.

○ *Reactores de lecho fluidizado (AUFB Anaerobic Upflow Fluidized Bed Reactor)*

En el proceso de lecho fluidizado el agua residual a tratar se bombea a través de un lecho de material adecuado (arena, carbón activado) en el que se ha desarrollado un cultivo biológico, tal y como se muestra en la *Figura 1.4b*. El efluente se recircula para mantener un caudal adecuado que asegure que el medio se halle expandido, ayudándose con el caudal ascensional de gas generado.

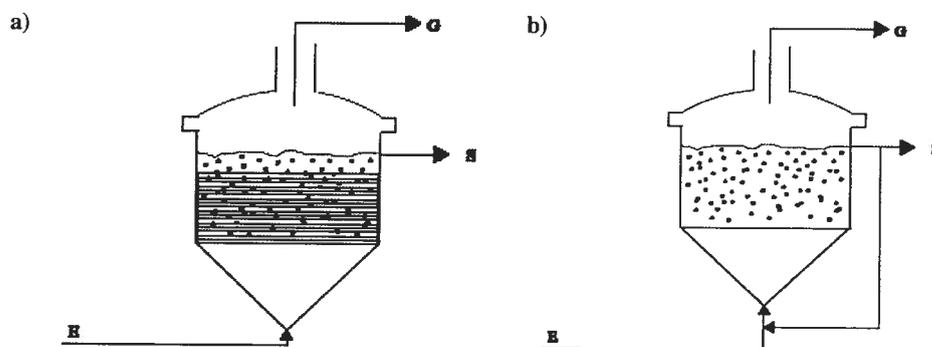


Figura 1.4. Filtro anaerobio (a) y Reactor de lecho fluidizado (b)

○ *Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB)*

En este tipo de reactor, el afluente es bombeado hacia el sistema de distribución interno por la parte inferior, entrando en contacto con el lecho de lodo anaeróbico. La reducción del DQO genera de biogás lo que provoca, junto con la velocidad del líquido, la expansión/fluidización de la cama de lodo. Cuando el gránulo libera el biogás adherido a su superficie, el lodo vuelve a caer a la zona inferior del reactor, el biogás es colectado en las cámaras para tal fin, y el agua residual tratada abandona el reactor por rebose. Así mismo, el biogás generado da lugar a una agitación interior que interviene en la formación y mantenimiento de los gránulos, removiendo la cama de lodos y permitiendo el intercambio de estos con el agua residual. El elemento donde se separan biogás, agua residual tratada y lodo es llamado separador trifásico y consta de varias cámaras separadas por deflectores, en las que el gas es recolectado.

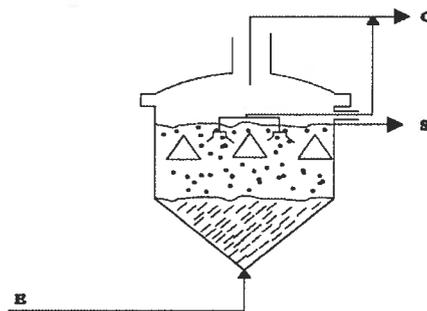


Figura 1.5. Reactor UASB.

○ *Reactores biológicos Anaerobios de membranas (AnMBR)*

El funcionamiento de un AnMBR es similar a un MBR con la excepción de que en este caso, el sistema permanece herméticamente cerrado para el almacenamiento y recolección del biogás producido. La combinación de un proceso anaerobio de degradación de la materia orgánica y de un proceso de filtración y separación mediante membranas, evita la salida incontrolada de biomasa del bioreactor lo cual permite:

- Obtener TRC lo suficientemente elevados para el completo desarrollo de la biomasa anaerobia, sin necesidad de incrementar los volúmenes de reacción.
- Mejorar la calidad del efluente. El efluente carece de sólidos así como de microorganismos debido al paso por un pequeño diámetro de poro.

1.2. Procesos implicados en la degradación anaerobia de materia orgánica

Un proceso biológico se define como anaerobio cuando no están presentes ni el oxígeno ni el nitrato, siendo este tipo de procesos llevado a cabo por un amplio grupo de

microorganismos que actúan de forma simbiótica. La mayor parte de bacterias que intervienen son estrictamente anaerobias, por lo que la presencia en el medio de oxígeno inhibe su actividad.

La degradación anaerobia de las aguas residuales es un proceso complejo que se caracteriza por la cantidad de reacciones bioquímicas necesarias para transformar la materia orgánica compleja hasta metano y dióxido de carbono, que son generalmente los productos finales. Asociados a este conjunto de reacciones existen diversos grupos de microorganismos que interactúan entre ellos de forma sintrófica, basándose en una interdependencia nutritiva, de manera que la actividad de un grupo es dependiente de la de otro, entendiéndose como una secuencia de etapas consecutivas y simultáneas donde los productos de una etapa se utilizan como sustratos de la etapa siguiente.

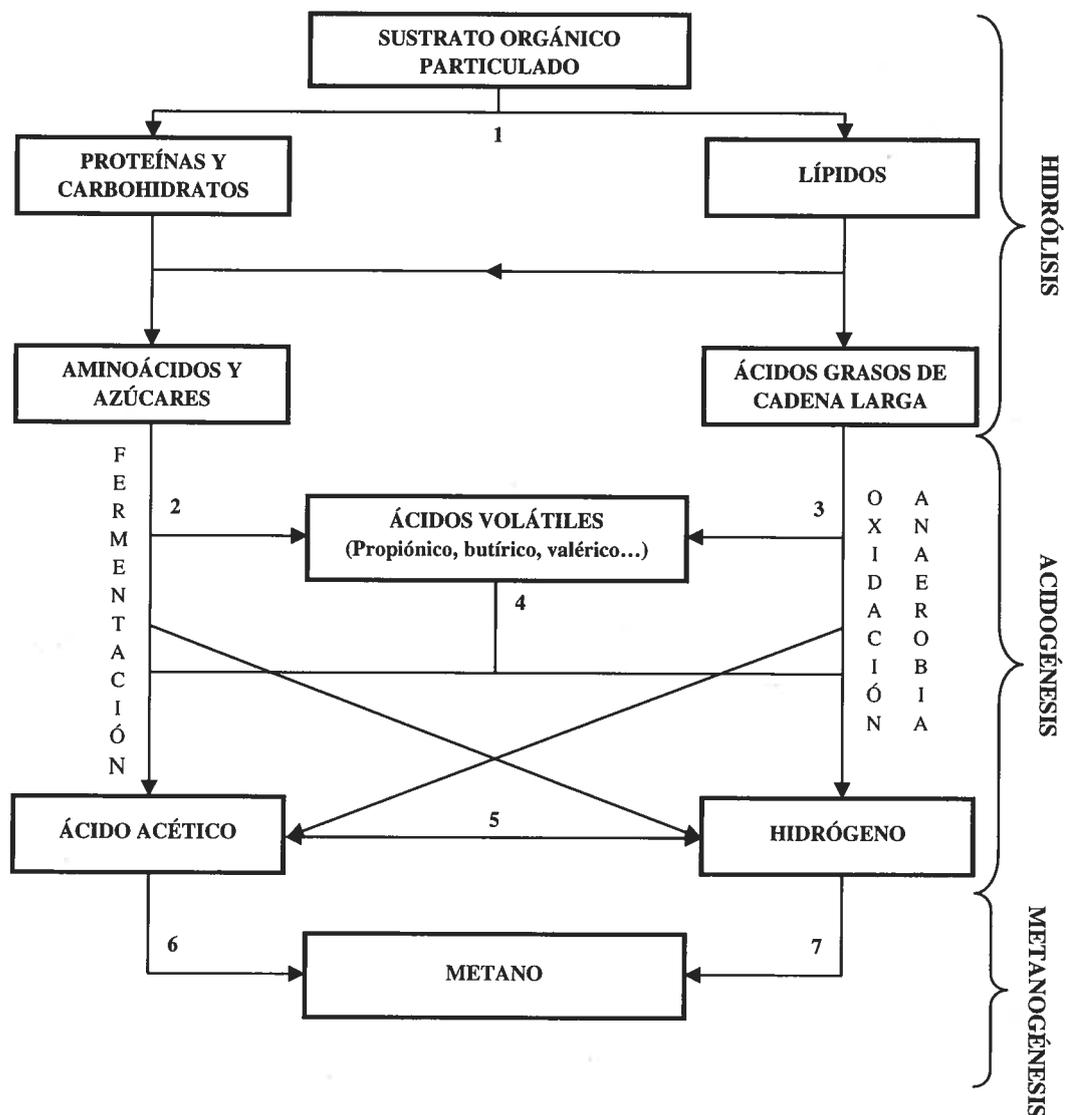


Figura 1.6. Transformaciones básicas de la MO compleja en un proceso anaerobio de degradación.

De manera general, en cualquier proceso anaerobio se suele hablar de 3 fases: hidrólisis, acidogénesis y metanogénesis. Dentro de estas fases se muestran las principales reacciones (enumeradas del 1 al 7) que dan lugar a las transformaciones básicas que sufre el sustrato orgánico hasta convertirse en los productos finales del proceso (*Figura 1.6*).

Inicialmente se produce la *hidrólisis* extracelular de los complejos orgánicos particulados de mayor tamaño hasta la obtención de moléculas más simples y de menor peso molecular, tales como azúcares simples, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga.

Posteriormente, se produce la *acidogénesis* de estos azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga para la producción de ácidos orgánicos y alcoholes. Esta etapa incluye la acetogénesis, que es el paso en el cual los ácidos orgánicos y alcoholes son transformados a elementos de menor peso molecular, como hidrógeno y ácido acético.

En último lugar, se lleva a cabo la *metanogénesis hidrogenotrófica*, en la cual el hidrógeno producido en el paso anterior es transformado a metano mediante la combinación con CO_2 , y la *metanogénesis acetotrófica*, en la cual el ácido acético producido en las etapas anteriores es transformado a CH_4 , proporcionando CO_2 como subproducto.

1.2.1. Hidrólisis

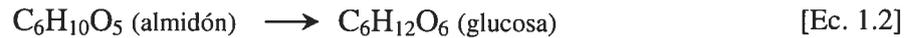
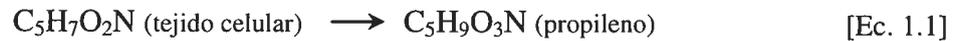
La primera etapa del proceso anaerobio (*Reacción 1* en la *Figura 1.6*) consiste en la degradación de la materia orgánica particulada y de las moléculas orgánicas solubles de mayor tamaño y peso molecular (carbohidratos, proteínas y lípidos). Como productos se obtienen moléculas orgánicas de menor tamaño y de estructura más simple (azúcares, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga) que pueden ser asimilados y utilizados por los microorganismos como fuente de energía y de carbono. Estos productos son tomados de forma directa por parte de la biomasa presente, facilitándose fundamentalmente el transporte de estos compuestos más simples a través de la membrana celular.

Esta etapa se caracteriza por la generación, al igual que en condiciones aerobias, de enzimas extracelulares por parte de los microorganismos presentes en el medio, específicamente por parte de las bacterias fermentativas o acidogénicas. Así mismo, en el proceso de hidrólisis del fango también suele formarse una fracción de compuestos que no pueden ser asimilados en condiciones anaerobias por los microorganismos, denominados *material inerte*.

La velocidad de hidrólisis dependerá fundamentalmente del pH, de la temperatura, del tipo y naturaleza de sustrato, y de la concentración de material biodegradable [Martí, 2007]. Diversos estudios han mostrado que la hidrólisis se puede considerar como la etapa limitante del proceso de degradación anaerobia de MO [Teichgräber,

2000], fundamentalmente para aquellos procesos en los cuales no se haya llevado a cabo una actividad enzimática anterior.

La estequiometría de las reacciones asociadas a la hidrólisis de determinados sustratos, sin incluir el agua, son las siguientes:



1.2.2. Acidogénesis

En esta etapa se lleva a cabo la degradación de los azúcares y de los aminoácidos producidos en la etapa de hidrólisis, dando lugar, a partir del proceso de fermentación (*Reacción 2 de la Figura 1.6*), a un elevado número de compuestos mucho más simples. Los principales productos de estas reacciones son ácidos grasos de cadena corta (propiónico, butírico, valérico, etc.) y los precursores directos de metano: hidrógeno, dióxido de carbono y acético. Estas reacciones producen hidrógeno en menor proporción que el proceso de oxidación anaerobia (acetogénesis), y siempre a partir de procesos de des-hidrogenación.

1.2.3. Acetogénesis

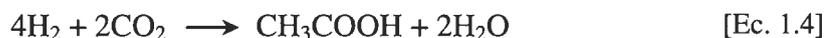
La acetogénesis es un proceso que engloba las reacciones de degradación de los diferentes ácidos grasos formados en etapas anteriores, y que, a su vez, mantienen una determinada sinergia con procesos posteriores:

La degradación de los ácidos grasos de cadena larga y ácidos grasos volátiles de cadena corta (AGV) con más de dos átomos de carbono (*Reacciones 3 y 4 de la Figura 1.6*), resultantes de la etapa anterior, se lleva a cabo mediante procesos de oxidación anaerobia. Los principales productos de estas reacciones son ácidos grasos de cadena corta (propiónico, butírico, valérico, etc.) y precursores directos de metano: hidrógeno, dióxido de carbono y acético.

A diferencia de los procesos de fermentación, estas reacciones producen la mayor proporción de hidrógeno del proceso, a partir de la reducción de los iones hidrógeno (H^+) que actúan como aceptor de electrones. La proporción de H_2 formado en esta fase cobra una gran relevancia para el proceso global debido a dos factores: por una parte, este compuesto es uno de los precursores de metano, y por otra parte, la proporción de éste determinará si el acético, otro precursor del metano, es o no el compuesto mayoritario del proceso.

Para que este proceso pueda producirse deben coexistir, en una relación sinérgica, las bacterias acetogénicas con las bacterias metanogénicas hidrogenotróficas.

El ácido acético también se puede producir a partir de la reducción del CO₂ con hidrógeno molecular, mediante un proceso que recibe el nombre de **homoacetogénesis** (*Reacción 5 en la Figura 1.6*):



En condiciones normales de operación (mesofílicas a 35°C), las bacterias homoacetogénicas necesitan concentraciones de H₂ mucho más elevadas (520-950 ppm) que las metanogénicas. Por tanto, estos microorganismos no pueden proliferar en ambientes donde se desarrolle la biomasa metanogénica hidrogenotrófica [Batstone *et al.*, 2002] o las bacterias sulfato-reductoras hidrogenotróficas.

A continuación se muestra la estequiometría de las reacciones asociadas a los procesos de acetogénesis (Agua no incluida):

Acetogénesis (propionato como sustrato):



Acetogénesis (butirato como sustrato):



La elevada producción de H₂ y el hecho de que las reacciones del proceso de oxidación anaerobia de los ácidos grasos sean termodinámicamente desfavorables a elevadas presiones parciales de H₂, convierten al hidrógeno en uno de los mayores inhibidores del proceso. Por ello, es necesaria una baja presión parcial del hidrógeno, del orden de 10⁻⁴-10⁻⁵ atm, para que este proceso tenga lugar.

Como se detalla en la etapa de metanogénesis, la biomasa metanogénica (MA, *Methanogenic Archaea*) hidrogenotrófica es la que toma el H₂ como sustrato para su crecimiento eliminándolo del sistema y haciendo que sea posible mantener las bajas presiones parciales necesarias para llevar a cabo el proceso.

Del mismo modo, y tal y como se detalla en apartados posteriores, las llamadas bacterias sulfato-reductoras (SRB) hidrogenotróficas consumen hidrógeno como sustrato para su crecimiento, compitiendo de forma directa por éste, con las MA hidrogenotróficas, siempre que exista sulfato en el medio.

Las reacciones incluidas en las etapas de acidogénesis y acetogénesis se caracterizan por la utilización de compuestos orgánicos tanto como fuente aceptora, como fuente dadora de electrones, obteniéndose como resultado un conjunto de elementos oxidados y reducidos de forma indistinta. A pesar de ello, es el hidrógeno el principal aceptor de electrones de este conjunto de reacciones.

1.2.4. Metanogénesis

La última etapa del proceso anaerobio consiste (*Reacciones 6 y 7 en la Figura 1.6*) en la conversión de los ácidos orgánicos volátiles y el hidrógeno en metano y otros productos simples, por acción de bacterias anaerobias estrictas, las arqueas metanogénicas. A continuación se enumeran los dos procesos de formación de metano existentes, en función del tipo de microorganismo y del sustrato utilizado por cada una de estas:

- Metanogénesis hidrogenotrófica: Proceso en el que tiene lugar la reducción del CO_2 empleando H_2 como dador de electrones y obteniéndose metano.



- Metanogénesis acetotrófica: Proceso principal de la metanogénesis donde se obtiene metano a partir de ácido acético.



Generalmente, el proceso de metanogénesis hidrogenotrófica genera una tercera parte del metano total producido en el proceso, siendo las dos terceras partes restantes producidas a partir de ácido acético.

Como se mencionó anteriormente, esta etapa es vital para la regulación de la presión parcial de hidrógeno del proceso, el cual es inhibitorio para etapas anteriores. Es por ello, que los procesos asociados a las MA productoras de hidrógeno en la acidogénesis (vía fermentativa) y en la acetogénesis (vía oxidación anaerobia), presentan una sinergia con los procesos asociados a las MA hidrogenotróficas.

Existe un grupo de bacterias, las cuales en condiciones anaerobias, y bajo la presencia de sulfatos en el medio, son capaces de competir por la toma de sustratos, fundamentalmente con MA, y con acidogénicas y acetogénicas en menor medida. Dichas bacterias son las denominadas Bacterias Sulfato Reductoras (SRB, *Sulfate-Reducing Bacteria*).

1.2.5. Procesos llevados a cabo por las bacterias SRB

Las bacterias sulfato reductoras son microorganismos capaces de transformar, bajo condiciones anaerobias, el azufre presente en el medio en forma de sulfato y sulfito, hasta especies más reducidas como el sulfuro.

Las bacterias sulfato reductoras se pueden dividir en tres grupos fundamentales en función de su capacidad de oxidación: El género que puede llevar a cabo la oxidación total del sustrato orgánico a CO_2 , el grupo de bacterias que pueden oxidar el sustrato parcialmente y que tienen como productos finales el acetato y el grupo de bacterias autótrofas que emplean H_2 como fuente de energía. Las especies capaces de oxidar

completamente las fuentes orgánicas de carbono, en general utilizan como fuente de energía ácidos grasos volátiles, mientras que las bacterias que llevan a cabo la oxidación incompleta utilizan sustratos simples como piruvato y alcoholes primarios.

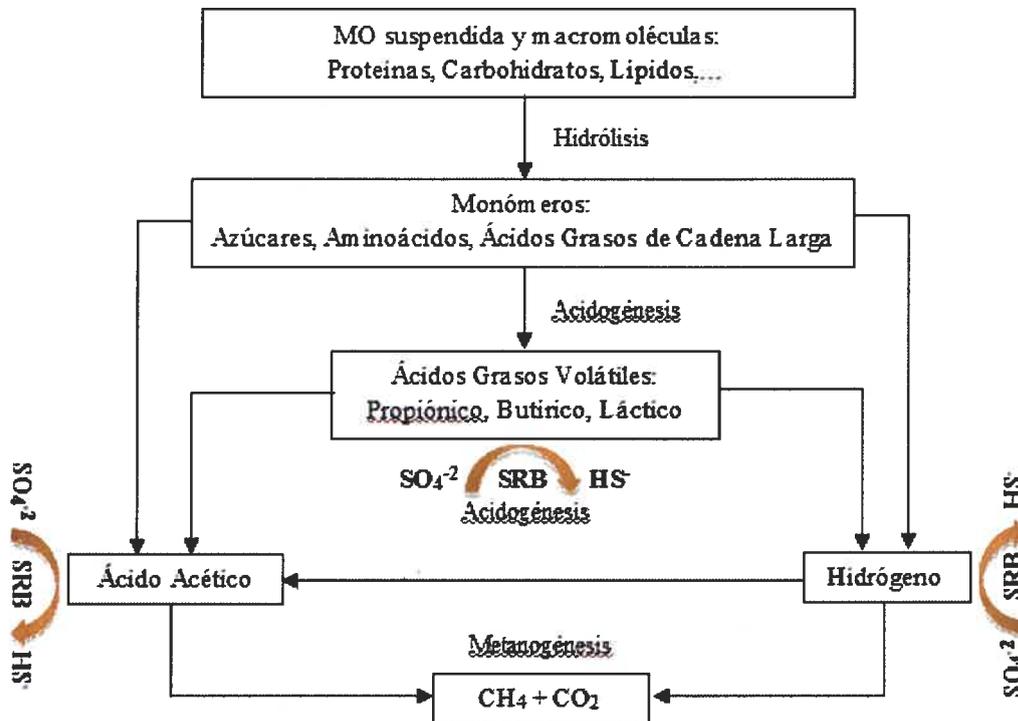


Figura 1.7. Transformaciones básicas de la MO en un proceso anaerobio de degradación, incluidas SRB.

Las bacterias SRB compiten de forma directa con el resto de microorganismos anaerobios para la toma de sustratos en el medio. La Figura 1.7 muestra esta competencia por la toma de los diferentes sustratos, e integra en un único diagrama simplificado las relaciones bioquímicas existentes en un proceso anaerobio. La Figura 1.7 muestra cómo, en presencia de sulfato en el medio, las SRB son capaces de competir por los ácidos grasos de cadena larga y los ácidos grasos volátiles (propiónico, lactato, butirato, etc.), y por compuestos más simples y de metabolización directa tales como hidrógeno y acético (estos compuestos son los que mayor competitividad presentan).

A continuación se muestran las estequiometrías de las reacciones de catabolismo, a las cuales hay asociado un crecimiento bacteriano y la reducción bioquímica de sulfato (agua no incluida) [Knobel and Lewis, 2002]:

Hidrógeno como sustrato:



Acético como sustrato:



Propiónico como sustrato (oxidación parcial):



Lactato como sustrato (oxidación parcial):



Butirato como sustrato (oxidación parcial):



Las SRB compiten fundamentalmente por el sustrato disponible con las MA (acético e hidrógeno). A pesar de ello, diversas fuentes bibliográficas han demostrado competencias por la toma de sustratos entre SRB y bacterias acidogénicas, en general. A continuación se comentan los resultados encontrados en la bibliografía al respecto de algunas de las competencias por la toma de sustrato, tanto entre las SRB y las MA, como entre SRB y acidogénicas (acidogénicas y acetogénicas):

- Laanbroek estableció, según el tipo de sustrato, el siguiente ranking de afinidad por parte de las SRB: $\text{H}_2 > \text{Propiónico} > \text{Otros sustratos}$. Por tanto, se establece un ranking de velocidad de crecimiento para este tipo de bacterias, siendo las de mayor velocidad aquellas que lo hagan a partir de hidrógeno como sustrato [**Laanbroek et al., 1984**].

- McCartney estableció que las SRB son capaces de competir con las MA, bacterias acetogénicas e incluso bacterias fermentativas, por la toma tanto de acético, como de H_2 , propiónico y butirato [**McCartney and Oleszkiewicz, 1993**].

- Parkin estableció que las SRB muestran una gran afinidad por la toma de propionato, con elevadas tasas de crecimiento por parte de este sustrato, siendo por tanto esta afinidad competencia directa con las bacterias acidogénicas [**Parkin et al., 1990**].

- Otros autores afirmaron que las MA hidrogenotróficas prácticamente no son capaces de competir con las SRB hidrogenotróficas debido a la superioridad competitiva, por el hidrógeno como sustrato, de las SRB frente a las MA [**ver e.g. Elferink et al., 1994, Colleran and Pender, 2002**].

- O'Flaherty determinó que las competencias entre MA y SRB acetoclásticas son contradictorias dependiendo de las condiciones del medio, siendo determinantes en la tendencia de la competencia factores como pH y relación DQO/SO₄. Las MA predominan con relaciones DQO/SO₄ superiores a 2.7, mientras que las SRB predominan con ratios inferiores a 1.7. Los valores de los parámetros cinéticos para el crecimiento dependen notablemente del pH del medio [**O'Flaherty et al., 1998**].

1.2.6. Parámetros que afectan al proceso anaerobio

El desarrollo de una adecuada población microbiana y el mantenimiento de unas condiciones que favorezcan su crecimiento, constituyen el principio fundamental en un proceso biológico tal como la degradación anaerobia.

El conocimiento de los parámetros, tanto ambientales como operacionales, y la influencia de éstos sobre el proceso, permiten el control del mismo evitando una desestabilización del sistema. En la operación de reactores anaerobios, la estabilidad es particularmente importante ya que, debido a la lenta dinámica del sistema, una desestabilización en su funcionamiento puede llevar a largos periodos de inactividad microbiana.

1.2.6.1. Temperatura

La temperatura es uno de los parámetros que mayor influencia tiene en el crecimiento de los microorganismos y en su metabolismo, afectando a las velocidades de todos los procesos biológicos. Los procesos anaerobios en particular, presentan una gran sensibilidad a las variaciones de dicho parámetro. En la *Figura 1.8* puede verse la velocidad de crecimiento de distintos tipos de microorganismos en función de las condiciones de temperatura, quedando reflejados en la figura los intervalos de temperatura óptima para cada una de dichas poblaciones. Las condiciones mesófilas son las más utilizadas, aunque en los últimos años se han desarrollado estudios del proceso de tratamiento anaerobio bajo condiciones psicrófilas [Bodík *et al.*, 2000; Gatti *et al.*, 2010].

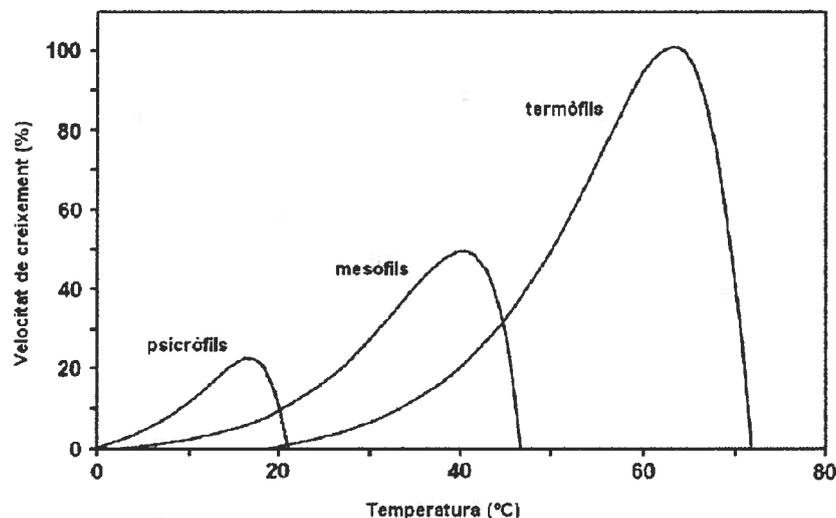


Figura 1.8. Dependencia de la constante de crecimiento de las metanogénicas con la temperatura [Van Lier *et al.*, 1997].

Se pueden observar tres intervalos de temperatura que proporcionan 3 comunidades de microorganismos de características diferenciadas (velocidades de crecimiento, sensibilidad ante cambios, etc.):

- Intervalo psicofílico: En este intervalo la biomasa anaerobia se desarrolla a temperaturas inferiores a los 25°C. Presentan una tasa de crecimiento baja.

- Intervalo mesofílico: Son las poblaciones más comunes en la depuración de aguas. En este intervalo la biomasa anaerobia se desarrolla a temperaturas inferiores a los 45°C y superiores a 20°C, presentan su óptimo de crecimiento sobre los 38°C. Presentan una tasa de crecimiento media.

- Intervalo termofílico: en este intervalo la biomasa anaerobia se desarrolla a temperaturas comprendidas en el intervalo entre los 30 y los 70°C, presentado su óptimo en torno a los 60°C. Presentan una tasa de crecimiento alta.

En general, un descenso de la temperatura provoca un descenso de la actividad metabólica de los microorganismos, requiriéndose un mayor volumen para alcanzar las mismas producciones que a temperaturas más elevadas.

La temperatura también afecta a la relación pH-alcalinidad-presión parcial de CO₂ y a la cantidad de energía neta producida o requerida por el sistema.

1.2.6.2. pH y alcalinidad

La biomasa anaerobia presenta una fuerte sensibilidad ante variaciones de pH, siendo 7 el pH óptimo para el desarrollo de ésta. Para que un proceso anaerobio proporcione resultados satisfactorios, debe existir una sinergia entre microorganismos productores y consumidores de especies acidificantes, fundamentalmente AGV. Uno de los principales problemas que se producen en los procesos anaerobios, es la acumulación de un exceso de éstos ácidos en el sistema, ya que puede ocasionar problemas de acidificación, provocando la disminución de la actividad metanogénica en incluso de la actividad de las SRB (si se trata de medios con fuente de sulfato o sulfito). Una disminución de la actividad genera un incremento paulatino de los ácidos en el reactor, disminuyendo todavía más el pH. La acidificación del medio puede llegar a ser tal, que se anule toda actividad metanogénica en el sistema.

En los procesos anaerobios que presentan elevados niveles de sulfhídrico total, para valores de pH comprendidos entre 7.2 y 8.5, son las SRB que degradan el ácido propionico las que muestran una mayor sensibilidad a la inhibición. Para valores de pH comprendidos entre 6.8 y 7.2, todos los grupos de microorganismos presentan inhibiciones del 50%, para concentraciones de sulfhídrico similares [O'Flaherty *et al.*, 1998]. Diversos autores han establecido que el pH óptimo para el crecimiento de la biomasa anaerobia, sometidas a la presencia de sulfhídrico en el medio, se sitúa entre 6.4 y 7.2 [Koster *et al.*, 1986].

Este tipo de estados no deseables pueden producirse más lentamente o incluso evitarse, si el sistema tiene una adecuada alcalinidad capaz de amortiguar las variaciones de pH. La alcalinidad o, capacidad tampón del medio, puede ser proporcionada por un amplio conjunto de sustancias. A pH próximos a la neutralidad, el

sistema químico que controla mayoritariamente el pH es el formado por dióxido de carbono/bicarbonato. Otros equilibrios ácido-base, tales como el sistema amonio-amoniaco, también influyen en el mantenimiento del pH. Valores de la alcalinidad entre 2000 y 2500 mg/l, aseguran un buen control del pH y una adecuada estabilidad del sistema [Zhao *et al.*, 2004].

El pH afecta también a los diferentes equilibrios químicos presentes en el sistema por lo que influye directamente en la formación o disolución de precipitados. Por tanto, es una variable muy importante a tener en cuenta para minimizar la precipitación en digestores anaerobios.

1.2.6.3. Potencial redox

El potencial redox es indicador de la concentración de oxígeno disuelto presente en el medio, ya sea en forma de O₂, NO₃, NO₂, u otras fuentes.

Las metanogénicas requieren ambientes fuertemente reductores, asegurándose una actividad de la biomasa anaerobia óptima con potenciales de oxidación-reducción comprendidos entre los -300mV y -330mV, que garantizan las condiciones anaerobias en el sistema [Martí, 2007].

1.2.6.4. Tiempo de retención

El tiempo de retención celular (TRC) se define como el tiempo medio de permanencia de los sólidos en el reactor. La biomasa anaerobia presenta velocidades de crecimiento muy inferiores a la biomasa aerobia, por lo que es indispensable un TRC elevado para el desarrollo de ésta. En un proceso de digestión anaerobia de fangos, se establecen TRC comprendidos entre 15 y 20 días, mientras que si se desea alcanzar una digestión más completa y un fango totalmente estabilizado, el TRC ha de establecerse entre 20 y 25 días. Al aumentar el TRC, aumenta la proporción de materia orgánica degradada así como la producción de metano, aunque este último valor comenzará a estabilizarse una vez alcanzado el óptimo.

Para el caso del tratamiento anaerobio de ARU, los valores de los TRC encontrados en la bibliografía difieren de los valores habituales para la digestión anaerobia. Las menores cargas orgánicas de entrada, y el objetivo de reducir en número de unidades de proceso (estabilización de fangos), incrementan notablemente los TRC utilizados en una digestión anaerobia convencional. Por ello, en el tratamiento anaerobio de ARU, es habitual encontrar valores de TRC en torno a los 60 días o inclusive superiores [Jeison, 2007]. Se ha de tener en cuenta, la necesidad de establecer una configuración de tratamiento que permita, tanto alcanzar tiempos de retención celular elevados, como efluentes que cumplan los requisitos de vertido establecidos para la MO.

1.2.6.5. Velocidad de carga orgánica

La velocidad de carga orgánica es la cantidad de materia orgánica introducida diariamente en el reactor por unidad de volumen, siendo directamente dependiente de la concentración de sustrato y del tiempo de retención celular fijado [Martí, 2007]. La biomasa metanogénica se ve altamente afectada por las variaciones de pH y alcalinidad del sistema. Un exceso de velocidad de carga orgánica en el proceso podría traducirse en una acumulación de ácidos grasos volátiles sin consumir en el sistema, debido a la mayor tasa de crecimiento de las bacterias acidogénicas frente a la biomasa metanogénica, provocando el consiguiente descenso de pH en el reactor. Además, la estabilidad de los procesos anaerobios depende de la capacidad tamponante del licor mezcla, la cual viene condicionada por su alcalinidad. Valores en la relación *ácidos grasos volátiles/alcalinidad* inferiores a 0.25 permiten mantener una adecuada capacidad tamponante en el sistema. Valores de esta relación por encima de 0.3 indican que existen problemas y deben tomarse acciones correctoras, mientras que valores por encima de 0.8 indican una inhibición de la población metanogénica y la acidificación del sistema [Ferrer y Seco, 2007]. En cambio, la problemática que conlleva un exceso en la velocidad de carga orgánica para el caso de la digestión anaerobia, pierde peso en un sistema anaerobio de tratamiento de ARU. En este caso, las cargas orgánicas introducidas al sistema son menos fluctuantes y de menor concentración. Por ello, se minimiza la problemática que podría acarrear una carga puntual elevada que, inclusive, podría conllevar la completa acidificación del sistema.

1.2.6.6. Agitación

Un factor fundamental para la optimización de la velocidad de reacción del proceso es que se lleve a cabo una agitación homogénea del sistema. Una agitación adecuada, minimiza la estratificación, sedimentación y formación de zonas muertas, mejora el contacto entre biomasa y sustrato, y permite unas condiciones homogéneas en todo el volumen de reacción, evitando la formación de gradientes en el sistema (temperatura, concentración, velocidades de transferencia, etc.).

En este tipo de sistemas la agitación se realiza, bien mediante la reintroducción del propio biogás producido por la parte inferior del sistema, o bien por algún sistema de agitación mecánica. La agitación por medio de la recirculación al sistema del propio biogás presenta diversas ventajas, tales como:

- Favorece el contacto gas-líquido y por tanto los procesos de transferencia de compuestos entre ambas fases.
- Favorece la obtención de un pH estable de operación gracias al arrastre y extracción de los gases disueltos desde la fase líquida, y al equilibrio gas-líquido de los componentes del biogás producido.
- Minimiza la fricción que un sistema de agitación mecánica aporta al medio, reduciéndose por tanto la rotura de los flóculos formados.

1.2.6.7. Tóxicos e inhibidores

Se denomina compuesto inhibidor a toda aquella sustancia, que en concentraciones determinadas, provoca una disminución de la velocidad de un proceso determinado, así como la disminución de la velocidad máxima de crecimiento de la biomasa. Si una sustancia inhibitoria alcanza concentraciones lo suficientemente elevadas como para producir una parada total del proceso o para provocar la muerte de los microorganismos asociados a éste, recibe el nombre de tóxico.

Los sistemas anaerobios presentan cierta sensibilidad a la inhibición del proceso en presencia de determinados compuestos. Estos compuestos, pueden formar parte del agua residual o ser generados por la propia actividad metabólica de los microorganismos. Entre los inhibidores de mayor importancia se pueden mencionar: cationes y metales pesados, ácido sulfhídrico, amoníaco y ácidos grasos. La *Tabla 1.1* muestra la concentración establecida en la bibliografía, como estimulante, inhibitoria moderada y fuertemente inhibitoria, para diversos compuestos y para diferentes tipos de microorganismos anaerobios:

Componente	Bacteria	Concentración estimulante	Concentración inhibitoria moderada	Concentración fuertemente inhibitoria	Fuente
Na	GENERAL	100 - 200 (mg Na/L)	3500 - 5500 (mg Na/L)	8000 (mg Na/L)	McCartney (1964)
Na	GENERAL		3500 - 5500 (mg Na/L)	8000 (mg Na/L)	Appels (2008)
Na	MPB	100 (mg Na/L)			Perski (1982)
Na	MPB (Ac)	230 (mg Na/L)			Kugelmann & Chin (1971)
Na	MPB (H ₂)	350 (mg Na/L)			Patel & Roth (1977)
Ca	GENERAL	100 - 200 (mg Ca/L)	2500 - 4000 (mg Ca/L)	8000 (mg Ca/L)	Appels (2008)
Ca	MPB		2500 - 4000 (mg Ca/L)	8000 (mg Ca/L)	McCartney (1964)
K	GENERAL	200 - 400 (mg K/L)	2500 - 4000 (mg Ca/L)	12000 (mg K/L)	Appels (2008)
Mg	GENERAL	75 - 150 (mg Mg/L)	1000 - 1500 (mg Ca/L)	3000 (mg Mg/L)	Appels (2008)
NH ₄	GENERAL	< 200 (mg N/L)			Lui & Sung (2002)
NH ₄	GENERAL		800 - 900 (mg N/L)		Vavilin (1994)
NH ₄	GENERAL		1200 - 4700 (mg N/L)	2500 (mg N/L)	Appels (2008)
NH ₃	GENERAL			3500 - 8200 (mg N/L)	Jarel (1987)
NH ₃	ACIDOGENICAS		3300 - 4700 (mg N/L)		Koster & Lettinga (1988)
NH ₃	MPB			3300 - 4700 (mg N/L)	Koster & Lettinga (1988)
NH ₄ - NH ₃	MPB			1700 - 14000 (mg TAN/L)	Kroscan (1978)
VFA	GENERAL			2100 (mg DQOL)	Siggast (2005)
SO ₄	MPB	1 - 25 (mg S/L)		1600 (mg S/L)	Karhadkar (1986)
H ₂ S	GENERAL		200 (mg S/L)	200 (mg S/L)	Appels (2008)
H ₂ S	MPB		50 (mg S/L)	125 (mg S/L)	Parkin (1983)
H ₂ S	MPB		60 (mg S/L)	250 (mg S/L)	Koster & Lettinga (1988)
H ₂ S	MPB			90 (mg S/L)	McCartney (1993)
H ₂ S	MPB		50 (mg S/L)	100 - 400 (mg S/L)	Parkin (1983)
H ₂ S	MPB		51 (mg S/L)	200 (mg S/L)	Kroiss (1984)
H ₂ S	MPB (P _{max})		50 - 170 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)
H ₂ S	MPB (Ac)		175 - 250 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)
H ₂ S	MPB (H ₂)		200 - 250 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)
H ₂ S	ACIDOGENICAS		185 - 310 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)
H ₂ S	SEB (P _{max})		115 - 300 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)
H ₂ S	SEB (Ac)		180 - 200 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)
H ₂ S	SEB (H ₂)		235 - 270 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)
H ₂ S	SEB (Pro)		330 - 410 (mg S/L)		O'Flaherty (1999)

Tabla 1. 1. Principales intervalos de inhibición de algunos componentes

El sulfhídrico como fuente de inhibición del proceso anaerobio

La presencia de sulfuros en los digestores anaerobios es debida principalmente de la reducción del sulfato presente en el agua influente y, en menor proporción, de la degradación de compuestos orgánicos que contienen azufre, como es el caso de las proteínas. Concentraciones de sulfuro de 200 mg/L causan fuerte inhibición del proceso y sobre 100 mg/L pueden comenzar a afectar a los microorganismos, si no ha habido una buena aclimatación de la biomasa.

El sulfhídrico producido por las SRB es tóxico tanto para otro tipo de microorganismos, tales como las MA, como para ellas mismas [O'Flaherty *et al.*, 1998]. La actividad de la biomasa metanogénica es inhibida progresivamente a medida que se incrementa la concentración de sulfhídrico presente en el medio. Esta inhibición puede ser indirectamente medida mediante la concentración de sulfhídrico en el gas en equilibrio, permitiendo una rápida cuantificación del grado de inhibición del proceso y de la situación del proceso anaerobio global [O'Flaherty *et al.*, 1998].

Los niveles de inhibición al 50% encontrados en la literatura para las MA presentan una gran variación. Parkin and Speece (1983) estableció valores entre 50 – 125 mg S/L, para valores de pH entre 7 – 8, Koster *et al.* (1986) los estableció en 250 mg S/L para valores de pH entre 6.4 – 7.2 y McCartney and Oleszkiewicz (1991) en 90 mg S/L para valores de pH comprendidos en el intervalo 7.8 – 8. Las bacterias fermentativas se ven afectados en menor grado por las concentraciones de sulfhídrico que las SRB o MA [McCartney and Oleszkiewicz, 1991]. Para el caso de las bacterias acetogénicas, su sensibilidad a la presencia de sulfhídrico es equiparable a la que presentan las SRB [O'Flaherty *et al.*, 1998].

Tal y como se ha comentado, en presencia de sulfatos las bacterias sulfato-reductoras compiten con las metanogénicas por los mismos sustratos, acetato e hidrógeno. El resultado de esta competición determinará la proporción de sulfhídrico y metano en el biogás generado. El incremento de los niveles de sulfhídrico en el biogás disminuye la calidad del mismo para su posterior uso como combustible, además de aumentar la aparición de problemas de olor y corrosión en el sistema. [Grady *et al.*, 1999].

1.3. Modelos matemáticos para el tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas

La elevada complejidad de los procesos biológicos que tiene lugar en una EDAR, así como su comportamiento altamente dinámico, hacen necesario el uso de modelos matemáticos en el campo del tratamiento de aguas residuales.

Los modelos matemáticos proporcionan una serie de ventajas a la hora de conocer y mejorar los procesos biológicos:

- Ayudan a entender el comportamiento del sistema, permitiendo conocer las evoluciones de las variables del proceso.
- Facilitan el diseño de experimentos al permitir analizar la influencia de las variables sobre el proceso.
- Permiten diseñar estrategias de operación y control del proceso.

La gran mayoría de los modelos que aparecen en la literatura son del tipo mecanicista, describiendo los procesos que tienen lugar mediante ecuaciones de balances de materia.

La realidad de los procesos biológicos es siempre muy compleja. Cuanto mayor sea el número de componentes y procesos considerados en un modelo matemático, mejores serán sus predicciones, es decir, dicho modelo será capaz de reproducir adecuadamente los resultados obtenidos en un mayor número de condiciones diferentes de operación. Sin embargo, conforme aumenta la complejidad del modelo, también lo hace el tiempo de cálculo necesario para su aplicación, así como la complejidad de la caracterización del agua influente y el número de parámetros que deben ser calibrados para su correcta utilización.

En consecuencia, un modelo es siempre una situación de compromiso. Por un lado, el modelo debe considerar un número suficiente de componentes y procesos para poder representar adecuadamente un amplio rango de condiciones de operación. Por otro lado, el número de ecuaciones y parámetros considerados debe ser suficientemente reducido para que el modelo pueda ser aplicado sin excesiva dificultad, obteniendo los resultados en un tiempo razonable.

De todas formas, en el desarrollo de un modelo se debe tener en cuenta que un aumento en el número de procesos y parámetros considerados, suele provocar una disminución en la variabilidad de los valores de los parámetros, es decir, con valores similares de los parámetros se consigue representar un amplio abanico de situaciones diferentes. En ocasiones, aumentar la complejidad del modelo puede evitar la necesidad de determinar experimentalmente el valor de determinados parámetros, disminuyendo los esfuerzos de calibración.

1.3.1. Crecimiento microbiano

La mayor parte de los modelos desarrollados para la simulación de los procesos biológicos de degradación se basan en el modelo empírico de crecimiento propuesto por Monod [Monod, 1942]. Este modelo (Ec. 1.14) fue el primero en introducir el concepto de *sustrato limitante* del crecimiento (S).

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_S + S} \quad [\text{Ec } 1.14]$$

Según este modelo, los microorganismos crecen de manera exponencial siempre y cuando no haya limitaciones de sustrato en el medio. Por tanto, la velocidad de crecimiento de los microorganismos (X) vendrá dada por la siguiente ecuación diferencial:

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_S + S} \cdot X \quad [\text{Ec. 1.15}]$$

En la expresión cinética de Monod, la velocidad específica de crecimiento (μ) viene dada en función de la concentración de sustrato que limita el crecimiento mediante dos parámetros:

- Velocidad específica máxima de crecimiento (μ_{\max}): Indica la velocidad máxima de crecimiento en condiciones donde el sustrato no limita.
- Coeficiente de afinidad por el sustrato (K_s): Hace referencia a la concentración de sustrato que provoca que la velocidad específica de crecimiento sea la mitad de su valor máximo.

La aplicación del modelo de Monod a medios donde el crecimiento de los microorganismos puede estar limitado por más de un tipo de sustrato o por la presencia de compuestos inhibitorios del crecimiento, ha llevado a la aparición de modelo interactivos y no interactivos, empujándose normalmente los modelos interactivos.

El tipo de inhibición más utilizado en el campo del tratamiento de aguas es la inhibición no competitiva (Ec. 1.16), la cual puede venir dada por una sustancia externa, por un producto formado por el propio proceso o por el mismo sustrato del proceso en cantidades elevadas.

$$\frac{K_{I,i}}{K_{I,i} + S_i} \quad [\text{Ec. 1.16}]$$

Donde S_i es la concentración de sustancia inhibidora i , y $K_{I,i}$, denominada constante de inhibición por la sustancia inhibidora i , representa el valor máximo de S_i que reduce la velocidad específica de crecimiento a la mitad de su valor máximo.

1.3.2. Estequiometria y cinética de los procesos biológicos

Los procesos biológicos que realizan los microorganismos se pueden representar como reacciones químicas donde una serie de reactivos se combinan para dar los productos de la reacción. En estas reacciones, como en cualquier otra reacción química, se deben cumplir tanto el balance de masas como el de cargas, Por tanto, las cantidades de productos obtenidos están relacionadas con las cantidades de reactivos que intervienen mediante los llamados *coeficientes estequiométricos* de la reacción (ν_i).

Generalmente, en el campo del tratamiento de aguas residuales no se llega nunca a un estado de equilibrio en ninguno de los procesos biológicos estudiados, de forma que

la velocidad con la se producen las transformaciones tiene un papel fundamental en la modelación de los procesos biológicos. Por ello, cada proceso biológico considerado tendrá una velocidad de reacción (r_j) que proporcionará la velocidad con la que se consumen los reactivos o se forman los productos implicados.

Comúnmente, en los procesos biológicos del tratamiento de ARU un mismo componente i participa en más de una reacción de transformación j . De esta manera, la velocidad de transformación global de cada componente se puede obtener como la suma de las velocidades de formación o de desaparición donde interviene el mismo componente:

$$r_i = \sum_{j=1}^n v_{i,j} r_j \quad [\text{Ec. 1.17}]$$

Donde $v_{i,j}$ representa el coeficiente estequiométrico normalizado del componente i en la reacción j , pudiendo tener un valor positivo, negativo o nulo según participe respectivamente como producto, reactivo o no participe en la reacción j .

1.3.3. Formato y notación

Dada la complejidad de los procesos biológicos considerados en los tratamientos de aguas residuales, el modo más utilizado para representar un modelo es la notación matricial. En 1987, el grupo de investigación de la IAWQ, actualmente IWA, desarrolló el modelo ASM1 [Activated Sludge Model No. 1, Henze *et al.*, 1987] optando por el uso de la notación matricial para la descripción del modelo. Este tipo de notación se basa en colocar los coeficientes estequiométricos $v_{i,j}$ en una tabla conocida como *matriz de Petersen*, de forma que establecen el consumo o generación de cada componente i , presentado en sucesivas columnas, en cada uno de los procesos j , presentados en sucesivas filas. Esto supuso un importante avance hacia la estandarización de la notación y la estructura de los modelos.

Esta notación permite distinguir entre los componentes solubles, representados por la letra "S" seguida del subíndice que representa cada componente, y los componentes particulados, representados por la letra "X" seguida de su correspondiente subíndice.

Así mismo, en cuanto a los parámetros del modelo, cabe distinguir entre parámetros estequiométricos y parámetros cinéticos. Los parámetros estequiométricos son aquellos que relacionan las cantidades de reactivos consumidos con las cantidades de productos generados en cada proceso, como pueden ser los rendimientos de los microorganismos, los cuales son representados por la letra "Y" seguida del subíndice relativo a cada tipo de microorganismo considerado por el modelo. Los parámetros cinéticos son aquellos que se utilizan en las expresiones cinéticas de cada proceso como puede ser la velocidad de crecimiento máxima de cada microorganismo, representada por la letra " μ " seguida del subíndice relativo al tipo de microorganismo.

1.3.4. Modelos existentes para el proceso de fangos activos

Los modelos biológicos para la descripción del proceso de fangos activados han evolucionado en gran medida desde los primeros modelos, donde sólo se consideraba la eliminación de materia orgánica, hasta los últimos años, donde se ha ido incorporando progresivamente nuevos procesos para tener en cuenta la eliminación biológica de nutrientes.

La *International Water Association* (IWA), antigua IAWPRC, hizo una revisión de todos los modelos existentes e incorporó los procesos de nitrificación y desnitrificación, publicando el modelo conocido como *Activate Sludge Model No. 1* [ASM1, Henze *et al.*, 1987]. Este modelo considera dos grupos de bacterias (heterótrofas y autótrofas) y divide la actividad de los microorganismos en 8 procesos diferentes, con una estequiometría y cinética determinada por el tipo de notación matricial. Los procesos considerados en el ASM1 son: crecimiento de los microorganismos heterótrofos en condiciones aerobias y en condiciones anóxicas (desnitrificación), crecimiento de los microorganismos autótrofos, lisis de microorganismos heterótrofos, lisis de microorganismos autótrofos, amonificación del nitrógeno orgánico soluble, hidrólisis de la materia orgánica suspendida e hidrólisis del nitrógeno orgánico suspendido.

Posteriormente, debido al gran número de trabajos publicados sobre la eliminación biológica de fósforo, la IWA desarrolló un modelo consensuado para la simulación del proceso de fango activados con eliminación biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo denominado *Activated Sludge Model No. 2* [ASM2, Henze *et al.*, 1995]. Este modelo incluye un tercer grupo de microorganismos encargados de la eliminación biológica de fósforo, con la consiguiente adición de los procesos biológicos propios de estos microorganismos, siendo éstos: Almacenamiento de polihidroxialcanoatos (PHA), almacenamiento de polifosfatos (PP) en condiciones aerobias, crecimiento en condiciones aerobias, lisis de bacterias PAO, ruptura del PHA asociada a la lisis y ruptura del PP asociada a la lisis.

En el ASM2, la hidrólisis del fósforo orgánico y posterior transformación en ortofosfato fue incluida de manera implícita, igual que en el caso del nitrógeno, en los procesos de hidrólisis de la materia orgánica particulada y la degradación de la materia orgánica soluble, respectivamente. Además, se incorporan los procesos de hidrólisis y fermentación en condiciones anaerobias, necesarios para poder simular la generación de ácidos volátiles a partir de la degradación de materia orgánica fermentable, así como los procesos de precipitación y redisolución que permiten simular la eliminación química de fósforo por precipitación, con sales de hierro o aluminio.

Por el contrario, puesto que el ASM2 no consideraba la capacidad desnitrificante de las bacterias PAO, la IWA publicó una extensión de este modelo con el nombre de *Activated Sludge Model No. 2d* [ASM2d, Henze *et al.*, 1999] que incorpora el almacenamiento de PP y crecimiento de las bacterias en condiciones anóxicas,

convirtiéndose en el modelo más aceptado para representar los procesos de eliminación biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo.

Así mismo, se revisó y actualizó el ASM1 con el fin de corregir los defectos y limitaciones encontrados, apareciendo una nueva versión con el nombre de *Activated Sludge Model No. 3* [ASM3, Gujer *et al.*, 1999]. De la misma forma que el ASM1, este modelo sólo considera la eliminación biológica de materia orgánica y nitrógeno, pero tiene como característica destacada la adición de los procesos de almacenamiento del sustrato orgánico por parte de las bacterias heterótrofas, de forma que previamente a ser degradado, el sustrato orgánico soluble es almacenado en el interior de la célula. Además, considera que el nitrógeno orgánico forma parte de la materia orgánica y por tanto los procesos de hidrólisis del nitrógeno orgánico suspendido y la amonificación, quedan implícitos en los procesos de hidrólisis de la materia orgánica suspendida y la degradación de la materia orgánica soluble, respectivamente. Otra novedad es que considera que las bacterias tienen una velocidad de lisis en condiciones anóxicas menor que en condiciones aerobias.

Por el contrario, este modelo no considera el crecimiento de las bacterias heterótrofas directamente a partir del sustrato y tampoco tiene en cuenta los procesos de eliminación biológica de fósforo.

Paralelamente a los trabajos desarrollados por la IWA, el grupo de investigación de la Universidad de Delft presentó un modelo para la eliminación biológica de fósforo, con un enfoque diferente al de la IWA, basado en los mecanismos bioenergéticos y en la estequiometría de los procesos metabólicos de los microorganismos, al que posteriormente se le incluyó el comportamiento anóxico de las bacterias PAO [Kuba *et al.*, 1996b; Murnleitner *et al.*, 1997].

1.3.5. Modelos existentes para el proceso de digestión anaerobia de fangos

Los procesos anaerobios vienen siendo utilizados desde hace más de un siglo en el campo del tratamiento de aguas residuales y de residuos sólidos urbanos. Por este motivo, existe una gran cantidad de modelos en la bibliografía para representar el proceso de digestión anaerobia. Entre estos modelos cabe destacar el modelo propuesto por Siegrist *et al.*, 1993, porque utiliza la misma terminología y notación matricial que los modelos de fangos activados antes comentados y el modelo *Anaerobic Digestion Model No.1* [Batstone *et al.*, 2002] propuesto por la IWA en un intento de unificar los modelos existentes en la bibliografía.

Este modelo está basado en el esquema de reacciones propuesto por Gujer y Zhender (1983) y considera 5 grupos de bacterias y 14 procesos diferentes. Los diferentes grupos de bacterias que considera son: bacterias fermentadoras de azúcares y aminoácidos, bacterias acetogénicas, bacterias degradadoras de propiónico, arqueas metanogénicas acetoclásticas y arqueas metanogénicas hidrogenotróficas.

Junto con los procesos biológicos, el modelo también tiene en cuenta los procesos de desabsorción de los gases formados, considerando que se llega al equilibrio entre la fase acuosa y la gaseosa, empleando por tanto la ley de Henry para modelar estos procesos.

El modelo considera los efectos del pH y la temperatura en el crecimiento de los microorganismos. El efecto de la temperatura se considera mediante expresiones de tipo exponencial que permiten calcular los parámetros cinéticos para diferentes valores de temperatura. El efecto del pH se considera únicamente en los procesos de acetogénesis y metanogénesis, mediante una combinación de una función *switch* y una inhibición no competitiva por la concentración de protones.

Por lo que respecta al cálculo del pH, este modelo incluye los procesos de protólisis del bicarbonato y deprotólisis del dióxido de carbono controlados por la velocidad de reacción y no por el equilibrio. En cambio, los procesos de protólisis y deprotólisis de los ácidos grasos volátiles no son considerados en el cálculo del pH, de forma que este modelo no permite la representación de los procesos de acidificación extrema en un digestor ($\text{pH} < 6$).

En una nueva versión de este modelo [Siegrist *et al.*, 2002] se añadió los procesos de protonación del acetato y el propionato, no considerados en la versión anterior, y además se añadió también el proceso de protonación-desprotonación del amonio/amoniaco.

En cuanto a la funciones *switch* de inhibición, este nuevo modelo incluye una inhibición no competitiva por el amoniaco en los procesos de oxidación anaerobia de propionato y de metanogénesis acetoclástica. Además, en las funciones *switch* de inhibición para el amoniaco y para los protones se han elevado todos los términos al cuadrado para representar la fuerte inhibición que presentan los procesos frente a estas sustancias.

Dado el creciente interés por los procesos anaerobios y la reciente aparición de nuevas aplicaciones, la IWA publicó un modelo conocido como *Anaerobic Digestion Model No. 1* [ADM1, Batstone *et al.*, 2002]. Este modelo considera que el proceso de degradación de la materia orgánica sigue cuatro principales etapas. Las dos primeras etapas, extracelulares, son la desintegración de los compuestos particulados en carbohidratos, proteínas, lípidos y sustancias inertes, y la hidrólisis de éstos para dar lugar a monosacáridos, aminoácidos y ácidos grasos de cadena larga, en un proceso enzimático modelado con una cinética de primer orden.

Las otras tres etapas, intracelulares, incluyen la acidogénesis, la acetogénesis y la metanogénesis. Estas tres etapas son modeladas con una cinética de Monod con una semisaturación por el sustrato que corresponde a cada proceso, una función *switch* de semisaturación por el nitrógeno orgánico (empleado como nutriente) y una serie de funciones de inhibición para distintos compuestos (pH, H_2 y NH_3). Así mismo, este

modelo no considera la necesidad de fósforo como nutriente ni la posibilidad de inhibición de los procesos por la presencia de altas concentraciones de ácidos volátiles.

La acidogénesis está dividida en dos procesos llevados a cabo por diferentes bacterias: la acidogénesis a partir de aminoácidos y la acidogénesis a partir de azúcares, procesos inhibidos por el pH únicamente.

La acetogénesis se divide en cuatro procesos llevados a cabo por tres grupos de bacterias distintas: La degradación de ácidos grasos de cadena larga, la degradación de butirato y valerato y la degradación de propionato. Todos estos procesos están inhibidos por el pH y por la concentración de hidrógeno.

La metanogénesis está dividida en dos procesos llevados a cabo por bacterias diferentes: La metanogénesis acetoclástica, inhibida por el pH y el amoníaco, y la metanogénesis hidrogenotrófica, inhibida únicamente por el pH.

En total, el modelo considera 7 grupos de microorganismos distintos con sus correspondientes procesos de crecimiento y lisis, modelada con una cinética de primer orden. La variación de los parámetros cinéticos con la temperatura es considerada de tipo exponencial, siguiendo la ecuación de Arrhenius.

De la misma forma, considera otros procesos físico-químicos que tienen lugar en la fase líquida (procesos de equilibrio ácido-base, balances de cargas, cálculo del pH) o en las interacciones líquido-gas (desabsorción de los gases formados). La variación de los parámetros físico-químicos con la temperatura se considera de tipo exponencial, siguiendo la ecuación de Van't Hoff.

1.3.5.1. Modelos existentes para las bacterias sulfato reductoras

La actividad de las SRB en los procesos anaerobios cobra una gran importancia en presencia de sulfatos debido a su demostrada competitividad tanto con las arqueas metanogénicas como con las bacterias acidogénicas, puesto que son capaces de emplear el ácido acético como sustrato pero también de generarlo empleando como sustratos otros compuestos tales como el ácido propiónico o el ácido butírico. Conocer el comportamiento de las bacterias sulfato reductoras ayuda a estimar cuánto acético hay disponible para las arqueas metanogénicas y, en consecuencia, qué proporción de metano puede haber en el biogás generado y a prever posibles inhibiciones por sulfhídrico.

Para predecir dicho comportamiento existen varios modelos de procesos anaerobios que incluyen a las SRB, siendo algunos de ellos explicados a continuación:

- **Bhattacharya, S.K. (1996).** Con el objetivo de determinar los efectos que la relación acetato/sulfato alimentada tiene sobre la interacción entre SRB y MA realizaron un estudio cinético mediante el cual obtuvieron las curvas de consumo de acético tanto de las bacterias sulfato reductoras como de las

arqueas metanogénicas. De esta forma, ajustando los datos experimentales a ecuación cinéticas de tipo Monod para el consumo de sustrato (Ec. 1.18) y para el crecimiento de la biomasa (Ec.1.19) [Lawrence and McCarty, 1969] determinaron los valores de K_s y k .

$$dS/dt = -kSX/(K_s + S) \quad [\text{Ec. 1.18}]$$

$$dX/dt = Yk_sX/(K_s + S) - bX \quad [\text{Ec. 1.19}]$$

donde:

k = velocidad de consumo (d^{-1})

K_s = Constante de semisaturación (mg/L)

S = Concentración de sustrato (mg/L)

X = Concentración de biomasa (mg/L)

Y = Rendimiento (mg bacteria/ mg acetato)

b = Velocidad de muerte (d^{-1})

Los valores que obtuvieron de ambos parámetros son los mostrados a continuación:

Parámetros	SRB	MA
K_s (mg/L)	102	116
k (d^{-1})	2.4	3.2

Tabla 1.2. Valores de los parámetros de Bhattacharya, S.K. (1996).

- **Martin, S. (2002).** Este modelo anaerobio describe los procesos de fermentación acidogénica en presencia y ausencia tanto de sulfato reductoras como de metanogénicas y fue desarrollado siguiendo el sistema de notación matricial de la IWA para modelos de fangos activados (ASM) en reactores *batch* de mezcla completa. De la misma forma que en los modelos ASM, la mayoría de expresiones cinéticas mostradas son ecuaciones de primer orden o de tipo Monod. Incluye 11 variables de estado, 18 parámetros y 9 procesos por sus correspondientes ecuaciones cinéticas (Tabla II y III). Estas 9 reacciones son agrupadas en 9 categorías:
 - o Hidrólisis anaerobia de la materia orgánica particulada (r1)
 - o Fermentación de Sf (r2 y r4)
 - o Generación de acético por parte de las SRB a partir de butírico y propiónico (r5 y r6)
 - o Mineralización de ácido acético en CO₂ (r7)
 - o Decay de los organismos (r3, r8 y r9)

PUESTA A PUNTO DE UNA METODOLOGÍA PARA LA CALIBRACIÓN DE PARÁMETROS DEL MODELO DE PROCESOS ANAEROBIOS

Variables	Definición	Parámetros	Definición
Sza	Ácido acético	<i>Estequiométricos</i>	
Szi	Ácido propiónico	yha	Crecimiento de la biomasa acidogénica
Szb	Ácido butírico	yzs1	Crecimiento de la biomasa sulfato reductora acetogénica
Szf	Sulfato	yzs2	Crecimiento de la biomasa sulfato reductora acetorófica
Sf	sustrato fácilmente fermentable	fsi	Fracción de Xs transformada en Si
Si	Materia orgánica inerte soluble	fixi	Fracción de biomasa transformada en Xi
Xf	Sustrato hidrolizable anaeróbiamente	fla	Fracción de Sf transformada en acetato
Xi	Materia orgánica inerte particulada	ffi	Fracción de Sf transformada en propionato
Xha	Biomasa acidogénica	βs	Cantidad de Sf oxidada por unidad de S-SO4
Xzs1	Biomasa sulfato reductora acetogénica	<i>Cinéticos</i>	
Xzs2	Biomasa sulfato reductora acetorófica	muha	Crecimiento máximo de la biomasa acidogénica
		muzs1	Crecimiento máximo de la biomasa sulfato reductora acetogénica
		muzs2	Crecimiento máximo de la biomasa sulfato reductora acetorófica
		bha	Decay de la biomasa acetogénica
		bzs1	Decay de la biomasa sulfato reductora acetogénica
		bzs2	Decay de la biomasa sulfato reductora acetorófica
		kh	Velocidad máxima de hidrólisis anaerobia
		kx	Coefficiente de saturación para la hidrólisis anaerobia
		kf	Coefficiente de saturación para la fermentación anaerobia
		kszf	Coefficiente de saturación para la reducción de sulfato

Tabla 1.3. Variables y parámetros del modelo de Martin, S. (2002).

Proceso	Ecuación
<i>Procesos sin SRB</i>	
Hidrólisis anaerobia de Xf	$r1 = kh \cdot ((Xf/Xha)/(kx + Xf/Xha)) \cdot Xha$
Fermentación de Sf (sin sulfatos)	$r2 = muha \cdot (Sf/(kf + Sf)) \cdot szfno \cdot Xha$
Decay de la biomasa acidogénica	$r3 = bha \cdot Xha$
<i>Procesos con SRB</i>	
Fermentación de Sf (con sulfatos)	$r4 = muha \cdot (Sf/kf + Sf) \cdot (Szf/(kszf + Szf)) \cdot Xha$
Fermentación de butirato	$r5 = muzs1 \cdot (Szb/(kf + Szb)) \cdot (Szf/(kszf + Szf)) \cdot Xzs1$
Fermentación de propionato	$r6 = muzs1 \cdot (Szi/(kf + Szi)) \cdot (Szf/(kszf + Szf)) \cdot Xzs1$
Mineralización	$r7 = muzs2 \cdot (Sza/(kf + Sza)) \cdot (Szf/(kszf + Szf)) \cdot hprno \cdot Xzs2$
Decay de la biomasa sulfato reductora acetogénica	$r8 = bzs1 \cdot Xzs1$
Decay de la biomasa sulfato reductora acetorófica	$r9 = bzs2 \cdot Xzs2$
<i>Funciones de inhibición</i>	
Inhibición por sulfato	$szfno = kszf/(kszf + Szf)$
Inhibición de la fermentación del acetato por propionato	$hprno = kszf/(kszf + Szi)$

Tabla 1.4. Ecuaciones cinéticas del modelo de Martin, S. (2002).

	Sza	Szi	Szb	Sf	Si	Szf	Xi	Xf	Xha	Xzs1	Xzs2
	gCOD/m ³	gCOD/m ³	gCOD/m ³	gCOD/m ³	gCOD/m ³	gS/m ³	gCOD/m ³	gCOD/m ³	gCOD/m ³	gCOD/m ³	gCOD/m ³
r1				1-fi	fi			-1			
r2	((1-yha)/yha) · fla	((1-yha)/yha) · ffi	((1-yha)/yha) · (1-fla-ffi)	-1/yha			fixi	1-fi	1		
r3									-1		
r4	((1-yha)/yha) · fla	((1-yha)/yha) · ffi	((1-yha)/yha) · (1-fla-ffi)	-1/yha		-(1/βs) · ((1-yha)/yha)					
r5	((1-yzs1)/yzs1)		-1/yzs1			-0.75 · ((1-yzs1)/yzs1)				1	
r6	((1-yzs1)/yzs1)	-1/yzs1				-0.375 · ((1-yzs1)/yzs1)				1	
r7	-1/yzs2					-0.5 · ((1-yzs2)/yzs2)					1
r8							ffi	1-fi		-1	
r9							ffi	1-fi			-1

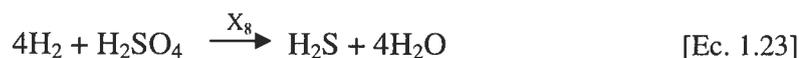
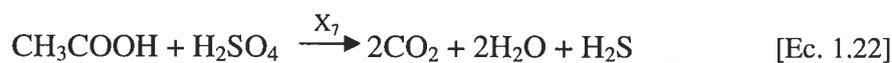
Tabla 1.5. Matriz estequiométrica del modelo de Martin S. (2002)

Los resultados obtenidos por simulación de los parámetros del modelo son los mostrados en la siguiente tabla:

Parámetros	Valores optimizados	Unidades
<i>Estequiométricos</i>		
yha	0.10	gCOD/gCOD
yzs1	0.03	gCOD/gCOD
yzs2	0.01	gCOD/gCOD
fsi	0.10	
fxi	0.10	
ffa	0.56	
ffi	0.36	
βs	2.32	gCOD/gS
<i>Cinéticos</i>		
muha	0.70	d ⁻¹
muzs1	1.30	d ⁻¹
muzs2	0.50	d ⁻¹
bha	0.20	d ⁻¹
bzs1	0.01	d ⁻¹
bzs2	0.01	d ⁻¹
kh	2.50	d ⁻¹
kx	0.50	gCOD/gCOD
kf	8.50	gCOD/m ³
kszf	0.70	gCOD/m ³

Tabla 1.6 Valores optimizados del modelo de Martin, S. (2002).

- **Fedorovich, V. (2003).** Este modelo representa la extensión del ADM1 añadiendo los procesos asociados a las bacterias sulfato reductoras. Esta extensión se basa en la incorporación de las siguientes ecuaciones:



Donde el grupo X₅ comprende todas las bacterias sulfato reductoras que consumen butirato, el grupo X₆ las bacterias sulfato reductoras que consumen propionato, el grupo X₇ las bacterias sulfato reductoras acetotróficas y el grupo X₈ las bacterias sulfato reductoras hidrogenotróficas.

Las cinéticas de los procesos de las SRB fueron introducidos en el modelo siguiendo los principios del ADM1:

$$\rho_i = \frac{k_{\max} S_i}{K_s + S_i} \cdot \frac{S_{SO4}}{K_{SO4} + S_{SO4}} \cdot X \cdot I_{pH} \cdot I_{\text{sulfhídrico}} \quad [\text{Ec. 1.24}]$$

Donde:

$$I_{pH} = \frac{1 + 2 \cdot 10^{0.5(pK_1 - pK_2)}}{1 + 10^{(pH - pK_2)} + 10^{(pH - pK_1)}} \quad [\text{Ec. 1.25}]$$

$$I_{\text{sulfhídrico}} = 1 - \frac{H_2S}{K_I} \quad (\text{Si } H_2S > K_I; I_{\text{sulfhídrico}} = 0) \quad [\text{Ec. 1.26}]$$

Los parámetros obtenidos por simulación correspondientes a las SRB son los siguientes:

Grupo de bacteria	$K_{\max, i}$ g S-COD/(g VSS-COD·d)	K_s g COD/L	K_{SO4} mol/L	K_I mol/L	Y_I g VSS-COD/g S-COD	b_I d ⁻¹
X ₅	13.7	0.10	2.10E-04	8.13E-03	0.0329	0.01
X ₆	12.6	0.11	2.00E-04	8.13E-03	0.0329	0.01
X ₇	7.1	0.22	1.00E-04	7.81E-03	0.0342	0.015
X ₈	26.7	0.0001	1.04E-04	7.80E-03	0.0366	0.01

Tabla 1.7. Parámetros de las SRB usados en la extensión del ADM1.

Donde la nomenclatura empleada es la detallada a continuación:

b = Velocidad de muerte (Decay) (d⁻¹)

K_I = Constante de inhibición por H₂S (mol/L)

K_{\max} = Velocidad máxima de consumo de sustrato (d⁻¹)

K_s = Constante de semisaturación (g COD/L)

pK_1, pK_2 = parámetros de la función de inhibición del pH

S = Concentración de sustrato (g COD/L o mol/L)

X = Concentración de bacteria (g COD/L)

Y = Rendimiento crecimiento bacterias (g COD/g COD consumidos)

ρ_i = Velocidad el proceso i (g S-COD [gVSS-COD o mol]/[L · d])

La gran variedad de valores obtenidos para los mismos parámetros hace recomendable la adaptación, calibración y validación de éstos para cada caso concreto.

1.3.6. Modelación biológica integrada

La aplicación de los modelos desarrollados por la IWA para la simulación del tratamiento anaerobio de fangos en una EDAR junto con el tratamiento biológico del agua residual urbana no se puede hacer de manera directa, ya que el modelo utilizado para la eliminación de materia orgánica, nitrógeno y fósforo del agua residual no considera los mismos componentes que el que se utiliza para la digestión de fangos. Por

eso, el grupo de investigación de la IWA propuso una metodología de cambio de variables entre el modelo ASM1 y el ADM1 para poder integrar ambos modelos en la simulación de una EDAR completa, transformando la salida del ASM1 en la entrada del ADM1.

Una forma de evitar este proceso de cambio de variables consiste en desarrollar un modelo matemático global, que incluya los procesos de eliminación biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo junto con los procesos de degradación anaerobia de la materia orgánica. Siguiendo estas premisas, el grupo de investigación CALAGUA, desarrolló un modelo de aplicación general para cualquier proceso de tratamiento biológico de aguas residuales urbanas denominado *Biological Nutrient Removal Model No. 1* [BNRM1, Seco *et al.*, 2004]. Este modelo incluye tanto los procesos de eliminación biológica de materia orgánica, nitrógeno y fósforo, con los procesos de tratamiento anaerobio de fango (acidogénesis, acetogénesis y metanogénesis). Además, incluye los procesos ácido-base, donde se asume el equilibrio químico, y los procesos de transferencia de materia gas-líquido (absorción-desabsorción de los gases considerados). El modelo utilizado para representar los procesos de sedimentación [Ribes *et al.*, 2002] consiste en un modelo unidimensional basado en la teoría del flujo de sólidos y en el balance de materia propuesto por Takács para la velocidad de sedimentación [Takács *et al.*, 1991], corregida por una función para representar el fenómeno de compresión en las capas inferiores. Este modelo unido al modelo biológico permite tener en cuenta los procesos biológicos que tienen lugar en decantadores primarios y secundarios y espesadores de gravedad.

El grupo de investigación CALAGUA ha publicado recientemente el BNRM2 [Barat *et al.*, 2012] que supone una ampliación del modelo anterior incluyendo los procesos llevados a cabo por las bacterias amonioxidantes y nitritooxidantes junto con los procesos de precipitación. Otro modelo global que considera conjuntamente los procesos de eliminación de materia orgánica y nutrientes junto con los procesos de degradación anaerobia es el propuesto por Jones *et al.*, (2007).

1.4. Calibración de modelos de tratamiento de aguas residuales

Un modelo puede reproducir una dinámica similar con diferentes combinaciones de valores de parámetros dando lugar a un problema de identificabilidad conocido como fenómeno de variabilidad de parámetros. Por ello, cualquier modelo debe ser adaptado, calibrado y validado para cada uso específico.

El proceso de calibración proporciona los valores de los parámetros que intervienen en el proceso biológico y que sirven para que los resultados del modelo matemático se ajusten a la realidad. La determinación de dichos parámetros característicos consiste en la optimización de una función objetivo empleando algoritmos matemáticos específicos. En general, la función objetivo propuesta es la minimización de la suma del cuadrado del error, el cual viene dado por la diferencia entre los valores experimentales y los predichos por el modelo.

La calibración de cualquier modelo garantiza su aplicabilidad, lo cual lleva implícito tres cualidades del modelo importantes y necesarias para su posterior uso:

- *Confianza.* Hay que demostrar que el modelo tiene capacidad de reproducir las condiciones existentes y fiabilidad para resolver las futuras.
- *Conocimiento y comprensión.* La determinación de los valores de los parámetros del modelo mediante calibración convierte el modelo en una herramienta para conocer el comportamiento del proceso biológico en su totalidad, explicando cambios que ocurren en su comportamiento en base a variaciones de las condiciones de operación.
- *Resolución de problemas.* El disponer de un modelo adecuadamente calibrado puede permitir la reconstrucción de información perdida o el establecimiento de alarmas ante comportamientos anómalos o información errónea del sistema.

En la bibliografía se pueden encontrar diferentes metodologías para la calibración de los parámetros del modelo. A continuación se describen las metodologías y protocolos de calibración más destacados, aplicados a los modelos que representan el tratamiento biológico del agua residual.

1.4.1. Metodologías de calibración.

1.4.1.1. Calibración en estado estacionario

Este procedimiento consiste en emplear datos promedio del comportamiento de la EDAR, considerando que estos datos medios representan el estado estacionario de la planta. Esta clase de metodología de calibración asocia todos los parámetros del modelo a un comportamiento estable de la planta [Manga *et al.*, 2001].

Generalmente con una calibración del modelo en estado estacionario, solo pueden ser determinados los parámetros responsables del comportamiento a largo plazo de la EDAR [Nowak *et al.*, 1999]. Estos parámetros están correlacionados en cierto grado, lo cual significa que la modelación del valor de un parámetro se puede compensar por una modificación en el valor de otro coeficiente.

El procedimiento de calibración en estado estacionario permite la determinación experimental de parámetros que caracterizan el comportamiento de la EDAR en largos periodos de tiempo. Fundamentalmente, este procedimiento permite la identificación de parámetros asociados a la producción y composición de fangos.

1.4.1.2. Calibración dinámica

Si el propósito del procedimiento de calibración es describir y predecir situaciones dinámicas a un corto plazo, será conveniente un procedimiento de calibración basado en datos dinámicos.

El procedimiento de calibración dinámica requiere que los datos se recojan con una determinada frecuencia de muestreo que depende de la constante de tiempo del proceso y de las variaciones del influente. El tiempo de retención hidráulico (TRH) es una de las constantes de tiempo del sistema más importantes. Idealmente, el período de tiempo entre muestras no debe ser mayor a la quinta parte del TRH como así también el período de toma de muestras debe ser 3 a 4 veces esta constante de tiempo. Sin embargo, puesto que las medidas son relativamente costosas estas recomendaciones no siempre se logran cumplir.

Esta metodología de calibración se emplea generalmente para lograr una profundización en el conocimiento del comportamiento dinámico del sistema. Sin embargo, la implementación de esta metodología de calibración requiere un costoso trabajo experimental. El empleo de sondas permite aliviar el esfuerzo experimental que requiere esta metodología. Existen una serie de dispositivos que permiten la determinación de variables como S_{NO_3} , S_{NH_4} , SST, DQO, S_{PO_4} , etc., con las que se podrían muestrear zonas claves de la EDAR con una elevada frecuencia.

1.4.1.3 Calibración *off-line* en el laboratorio

Estos ensayos se realizan en el laboratorio bajo condiciones muy controladas, con fango biológico e influente de la EDAR en estudio. Consisten en experimentos específicamente diseñados para aislar los procesos biológicos, permitiendo de esta manera la calibración selectiva de los parámetros. Por esta razón se consideran calibraciones de tipo *off-line*.

Existen diferentes métodos de calibración selectiva de parámetros. En general se emplean técnicas respirométricas, principalmente para evaluar parámetros de las bacterias heterótrofas, autótrofas y PAO aerobias.

La información experimental de las diferentes metodologías de calibración se combina para obtener información más precisa del sistema en estudio [Vanrolleghem *et al.*, 2003]. Rieger *et al.*, (2001) implementaron un procedimiento iterativo para calibrar el módulo EAWAG Bio-P. Este procedimiento emplea datos de experimentos *off-line*, y de muestreos diurnos, semanales y mensuales de una EDAR. Los autores consideran que la calibración finaliza cuando el modelo permite interpretar toda la información experimental. Makinia *et al.*, (2006) combinaron una calibración en estado estacionario con experiencias *off-line* del tipo NUR (velocidad de consumo de nitratos), OUR (velocidad de consumo de oxígeno) y AUR (velocidad de consumo de amonio), y datos dinámicos de una EDAR para la identificación de los parámetros del modelo.

Los procedimientos de calibración antes mencionados emplean métodos de optimización para la estimación de los parámetros del modelo matemático, basándose en la minimización del error cuadrático medio entre los datos simulados y experimentales. No obstante, pueden surgir problemas de identificabilidad de los

parámetros asociados a la calidad de los datos experimentales y la complejidad del modelo biológico.

En el proceso de calibración de los modelos se requiere ajustar los valores de los parámetros para obtener una mejor aproximación del modelo a la realidad. En todos los modelos examinados, la determinación de los valores de los parámetros se lleva a cabo de tres maneras diferentes, aunque lo habitual es su combinación:

- a) Fijar los parámetros con los valores obtenidos en la bibliografía. Aquellos parámetros de escasa influencia del modelo suelen ser obtenidos de la bibliografía ya que grandes variaciones en su valor generan pequeños cambios en los resultados. Aunque también hay modelos que asumen de la bibliografía valores de parámetros de elevada influencia como son el rendimiento celular de las bacterias o la tasa de crecimiento.
- b) Determinación experimental de parámetros directamente mediante experimentos específicos en los que se aísla el valor del parámetro o su efecto domina sobre el resto de parámetros. Estos experimentos se basan, en general, en técnicas respirométricas en las que se somete a la biomasa a un amplio intervalo de condiciones de operación según el parámetro que se vaya a determinar, enfocándose en la determinación de los parámetros de elevada influencia siendo el resto de parámetros determinados mediante un proceso de optimización.
- c) Determinación de los parámetros por ajuste del modelo simulado con los datos experimentales. Consiste en optimizar el valor de los parámetros de forma que se minimice la diferencia entre los valores simulados y los valores experimentales. En este caso, normalmente se lleva a cabo una calibración dinámica para la determinación conjunta de los parámetros del modelo. De forma manual o mediante rutinas de optimización se modifican sistemáticamente los parámetros del modelo con el fin de minimizar una función de error (error entre modelo y datos). Esta es la función objetivo y normalmente su complejidad es elevada, por lo que se suele emplear un simulador para facilitar el proceso de calibración.

Resumiendo, en casi todos los modelos, en primer lugar se asignan algunos o casi todos los valores de los parámetros a partir de la bibliografía y posteriormente se realizan calibraciones *off-line* y/o calibraciones del estado estacionario o dinámica para la determinación del resto de los parámetros. Pese a que existen diversos modelos de los procesos anaerobios en los que se proponen un conjunto de valores de los parámetros, no se ha descrito un modelo en el cual se determinen todos los parámetros del modelo de forma independiente, en consecuencia no se ha descrito un protocolo para la calibración de arqueas metanogénicas y SRB.

Cabe destacar que llevar a cabo una calibración en condiciones anaerobias resulta más complicado que en condiciones aerobias puesto que no hay ninguna variable de medida tan rápida y fiable como es la concentración de oxígeno disuelto.

OBJETIVO

2. OBJETIVO

Este trabajo tiene como finalidad establecer el montaje experimental, el protocolo de manipulación de las muestras y las técnicas analíticas que se deben utilizar en la calibración de los parámetros de las bacterias sulfato reductoras para desarrollar una futura metodología para la calibración de los parámetros no sólo de las bacterias sulfato reductoras sino de todos los procesos que tiene lugar en un tratamiento anaerobio. Esta metodología, tendrá la filosofía que la previamente desarrollada por el grupo CALAGUA para la determinación de los parámetros de las bacterias implicadas en los procesos, basándose en la determinación mediante ensayos *off-line* en el laboratorio de las variables de elevada influencia y el posterior ajuste del resto de variables por simulación del funcionamiento del proceso.

Esta metodología se centrará en la realización de ensayos *batch* en los que se pretende conocer la forma más adecuada de obtener los parámetros correspondientes a las SRB, así como su interacción y competitividad por el sustrato.

Entre los objetivos específicos se establecen:

- Establecer el montaje experimental y comprobación del mismo.
- Determinar qué variables se deben medir y en qué intervalo de tiempo.
- Determinación de la constante de semisturación y el rendimiento de las bacterias sulfato reductoras.

MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Montaje experimental

La puesta a punto de una metodología con la que poder llevar a cabo una calibración de parámetros anaerobios fue realizada en laboratorio. Los experimentos se desarrollaron en diferentes etapas en las cuales se fue modificando el montaje experimental y la metodología seguida, con el fin de alcanzar una metodología óptima.

3.1.1. Ensayos en botellas

Inicialmente, los experimentos se desarrollaron en una serie de botellas por su mayor sencillez tanto para el tratamiento en el laboratorio como para una futura aplicación de esta metodología en EDAR. Estas botellas fueron conservadas a 20°C y agitadas magnéticamente, donde se pretendía medir la evolución del sulfato y los AGV con el tiempo.

Las primeras botellas empleadas tienen un volumen de 500 mL, son de vidrio opaco y se cierran de forma hermética con un cabezal capaz de medir los incrementos de presión generados en su interior (Oxítóp) (*Figura 3.1a*)

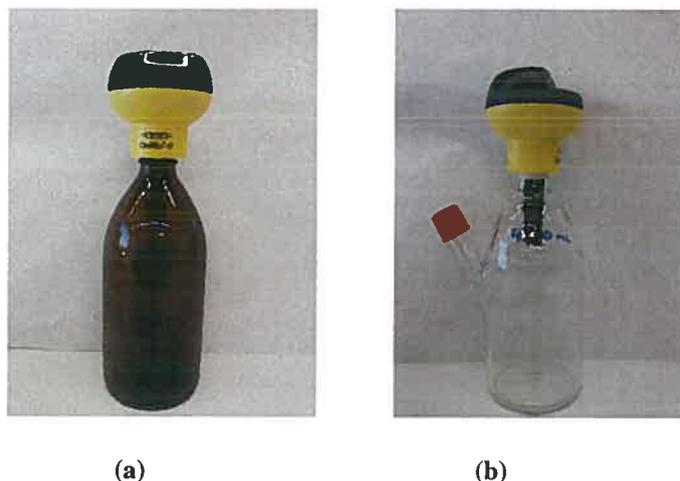


Figura 3.1. Botella de vidrio opaco (a). Botella de vidrio transparente y con *septum* (b).

Las segundas botellas utilizadas tienen un volumen de 500 mL aproximadamente, son de vidrio transparente, se cierran de forma hermética con el mismo cabezal que las anteriores y tiene un *septum* por el que poder inyectar reactivos. (*Figura 3.1b*)

3.1.2. Ensayos en reactor

El reactor anaerobio utilizado, con un volumen total útil de 11.5 L (*Tabla 3.1*), se construyó en metacrilato y se equipó con un agitador. El equipo de agitación estaba compuesto por un mezclador de pala ancha conectado a un motor monofásico de 29W a 120 rpm. La velocidad de giro podía regularse mediante un regulador de potencia, realizándose la agitación de forma continua en cada experimento realizado, asegurando

la mezcla completa en el interior del mismo pero sin ser excesiva para evitar romper la relación sintrófica existente entre bacterias acidogénicas y arqueas metanogénicas.

Forma	Cilíndrica
Material	Metacrilato
Diámetro	19.5 cm
Altura total	38.5 cm
Volumen útil	11.5 L
Volumen fango	9 L

Tabla 3.1. Características de diseño del reactor.

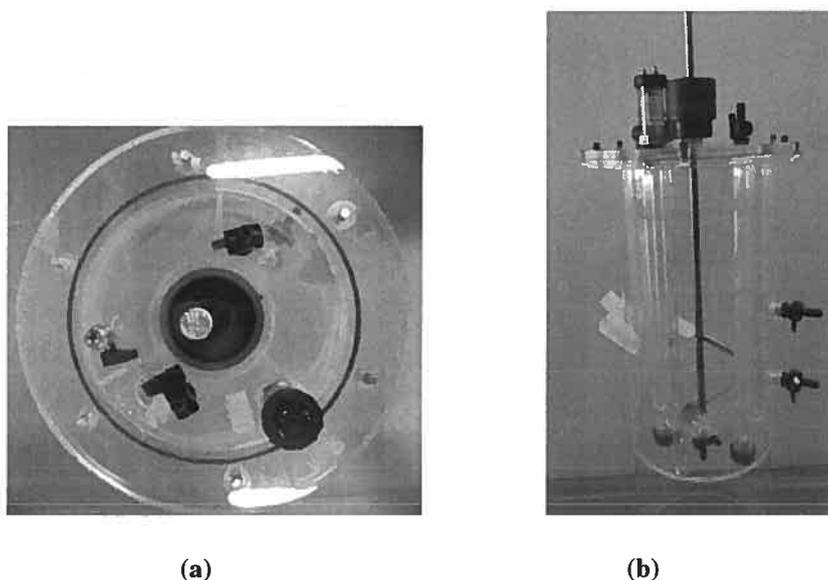


Figura 3.2. Tapa del reactor empleado (a). Reactor empleado en los ensayos (b).

En la *Figura 3.2* se muestra una imagen del reactor. Tal y como se puede observar, el reactor estaba equipado con un agitador, un captor de presión y sondas válvulas de bola (*Figura 3.2a*). En la parte lateral disponía de un electrodo para la medida del potencial redox y otro para la medida de pH-temperatura, así como otras dos válvulas de bola a diferentes alturas para llevar a cabo la toma de muestras. (*Figura 3.2b*).

En la base del interior del reactor se dispone de 4 difusores cerámicos a través de los cuales se burbujea N_2 al reactor al inicio de cada experimento, con el fin de desplazar el oxígeno presente y crear una atmósfera anaerobia.

Tanto las sondas como el captor de presión estaban conectados a un ordenador donde se almacenaba la información cada minuto.

3.2. Fango utilizado para los experimentos

En el presente trabajo final de máster se utilizó fango procedente de la planta piloto de membranas anaerobias (SAnMBR), instalada por el grupo de investigación CALAGUA en la depuradora de Carraixet.

La *Figura 3.3* muestra un esquema de la planta piloto, la cual se caracteriza por la combinación de un sistema de tratamiento anaerobio de aguas residuales urbanas, y de un proceso físico de separación consistente en dos módulos de membranas de ultrafiltración de fibra hueca externas.

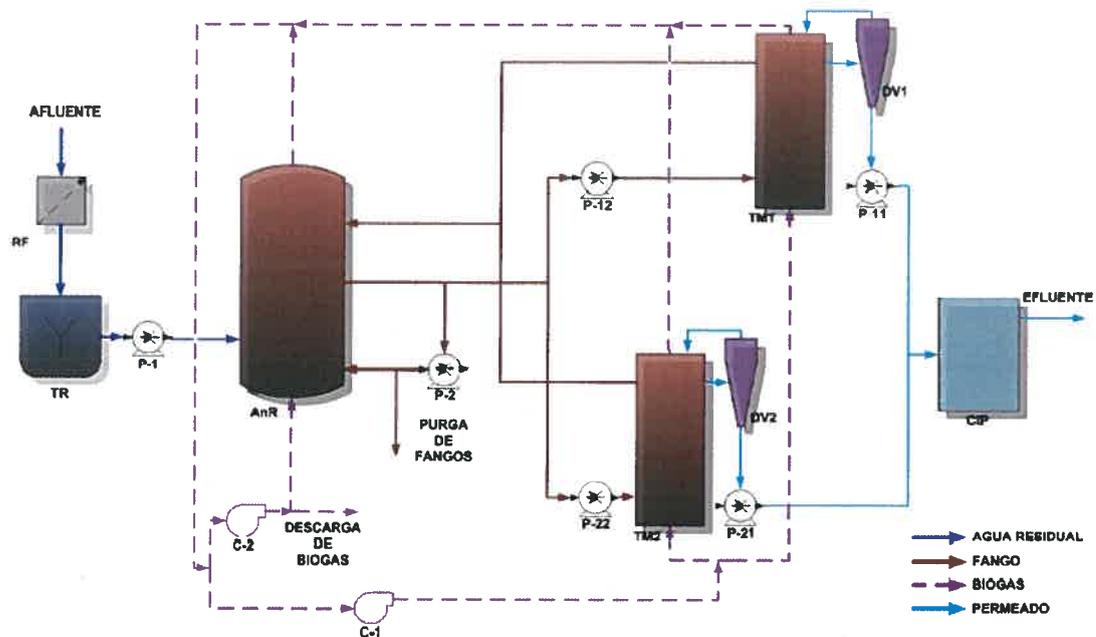


Figura 3.3. Diagrama de flujo de la planta piloto [Adaptado de Robles, A. (2010)].

Dicha planta piloto está compuesta básicamente por los siguientes elementos:

- Rotofiltro (RF): Elemento encargado de llevar a cabo el pretratamiento del agua influente. Tiene una luz de paso de 0.5 mm.
- Tanque de regulación (TR): Depósito de 300 L agitado mecánicamente, cuyo objetivo es amortiguar las variaciones de carga a lo largo del día.
- Reactor anaerobio (AnR): Reactor estanco de 1300 L de capacidad en el que se deja un espacio de 300 L para la recolección y almacenamiento de biogás. Este reactor es agitado mediante la recirculación del biogás producido durante el proceso así como por recirculación interna del fango. El reactor se encuentra aislado térmicamente y conectado a un sistema de calefacción externo que permite controlar la temperatura. De este reactor se extrae el fango empleado en los ensayo.
- Tanques de membranas (TM1 y TM2): Cada tanque tiene un volumen de 800 L de los cuales 200 L corresponden al espacio de cabeza, cuya finalidad es la recolección y el almacenamiento de biogás. Cada tanque incluye un módulo de membranas comercial de ultrafiltración PURON[®], Koch Membrane Systems, de 0.05 μm de diámetro de poro, que consta de 9 racimos de membrana de fibra hueca con una longitud de 1.8 m. El área tota de filtración es de 30 m^2 por módulo. La mezcla se lleva a cabo

mediante la recirculación del biogás generado en el sistema, siendo esta recirculación aprovechada para minimizar la deposición de partículas sobre la superficie de las membranas. Los tanques cuentan con un sistema de separación de gases (desgasificadores DV1 y DV2) situados en la salida del permeado, de forma que el biogás recuperado es reintroducido al sistema.

- Tanque CIP (Clean-in-place): Depósito de 200 L de capacidad, situado tras los módulos de membranas, donde se almacena parte del permeado obtenido después de la etapa de filtración

La planta es alimentada con agua residual urbana real, procedente del efluente del pretratamiento de la EDAR de Carraixet (Alboraya, Valencia). Esta agua residual presenta una concentración de sulfatos de 100 mg S-SO₄/L aproximadamente, cuyo rendimiento de eliminación es del 97%, generando también un elevado porcentaje de metano. Por tanto, es evidente la presencia de SRB y arqueas metanogénicas. En la *Tabla 3.2* se muestran los valores medios de los parámetros que caracterizan dicho influente, junto a su desviación estándar.

Parámetro	Influente	
	Media	DS
DQO _{total} (mg/L)	584	267
AGV (mg/L)	8.5	6.5
NH ₄ ⁺ (mgN-NH ₄ /L)	31.8	8.9
PO ₄ ⁻³ (mgP-PO ₄ /L)	3.9	1.6
SO ₄ ⁻² (mgS-SO ₄ /L)	335.9	70.0
SST (mg/L)	314	166
SSV (mg/L)	259	137
ALK (mgCaCO ₃ /L)	325	60

Tabla 3.2. Caracterización del influente de la planta piloto SAnMBR.

3.3. Diseño de experimentos

En los experimentos desarrollados se pretendía estudiar la evolución de la concentración de sulfato y el ácido acético con el tiempo. Para ello se llevaron a cabo diferentes ensayos a lo largo de 7 meses en los que, debido a la complejidad de la manipulación de muestras anaerobias así como de la determinación de la concentración residual de sulfatos en el fango y de tener un sistema totalmente estanco y de condiciones reproducibles, se creó la necesidad de ir modificando tanto el montaje experimental como los tratamientos de las muestras y las técnicas analíticas.

Pese a la evolución de los ensayos y la variabilidad de las analíticas, siempre se han mantenido unas premisas y un protocolo durante la puesta en marcha de cada ensayo.

Durante la toma de muestra y transporte del fango hasta el laboratorio se intenta minimizar en todo momento el contacto del fango con el aire para evitar la inhibición de la biomasa anaerobia y, en la puesta en marcha de cada ensayo, se burbujea N_2 al fango para desplazar el posible oxígeno que pueda estar presente. Este burbujeo también permite eliminar por *stripping* el H_2S presente, el cual es inhibidor de la biomasa en elevadas concentraciones. El fango ya viene con una concentración de sulfuros próxima a 100 mgS/L, y dado que se le va a añadir sulfato al fango para conocer la velocidad de su consumo por parte de las SRB, si no se eliminase el H_2S presente se podría correr el riesgo de inhibir no sólo a las arqueas metanogénicas sino también a las propias SRB.

Así mismo, al inicio de cada experimento se le añadía al fango un tampón de K_2HPO_4 y KH_2PO_4 para mantener el pH a lo largo de todo el experimento, haciendo un seguimiento de los fosfatos para conocer su concentración puesto que podía dar lugar a precipitaciones.

El esquema general seguido, una vez conocidas las características del fango, es el siguiente:

- Puesta en marcha del ensayo.
- Adición de una concentración conocida de SO_4^{-2} y de ácido acético.
- Medición de las concentraciones de ambos compuestos añadidos con el tiempo.
- Análisis de los resultados.
- Cambio de metodología/montaje/reactivos.

3.3.1. Procedimiento experimental en botellas

Todas las botellas son agitadas magnéticamente, burbujeadas con N_2 para crear una atmósfera anaerobia y cerradas herméticamente introduciéndoles un tapón con lentejas de sosa para retirar el CO_2 que se pueda generar durante el proceso. Se mantienen a una temperatura de 20 °C dentro de una incubadora. En todos los casos, para llevar a cabo la analítica de AGV y sulfatos la muestra era previamente centrifugada a 10000 rpm durante 5 minutos, el sobrenadante era filtrado y posteriormente diluido para que entrara en el rango de medida del aparato.

La puesta en marcha de los ensayos en botellas se realizaba de la siguiente forma:

- Las botellas de 500 ml de capacidad, se llenan con 365 mL de fango procedente de la planta piloto SAnMBR.
- Se añade la solución tampón formada por K_2HPO_4/KH_2PO_4 .

- Se añade $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (Pureza 99%) y $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Pureza 99%) para introducir una concentración conocida de ácido y de sulfatos, siendo la relación DQO/ SO_4 de 2.
- Se burbujea nitrógeno gas para desplazar el oxígeno presente y crear así una atmósfera anaerobia, se les pone el tapón con lentejas de sosa y se cierra herméticamente las botellas.
- Todas las botellas se mantendrán agitadas magnéticamente a una temperatura de 20°C.

Así mismo se dejará una de las botellas únicamente con fango que será empleada como blanco y al fango restante del montaje de las botellas, se le burbujeará nitrógeno y se le medirán los AGV y los sulfatos para conocer de qué condiciones se parte.

Posteriormente, tras varios ensayos, se decidió modificar el procedimiento de montaje de las botellas así como el tipo de botella con el fin de hacerlas lo más reproducibles posible (desde el ensayo 5). Este nuevo procedimiento se basa en mezclar el fango con la disolución tampón antes de repartirlo en las botellas con *septum* de la siguiente forma:

- Añadir la solución tampón de fosfatos a la totalidad del volumen de fango traído de la planta piloto.
- A su vez, burbujear N_2 en el recipiente donde se está llevando a cabo la mezcla. Esto ayuda a agitar el medio y a evitar el contacto con O_2 .
- La dosificación en las botellas se lleva a cabo mediante una conducción que el recipiente de mezclado con tiene en su parte inferior. Esta dosificación se realiza a la vez que se burbujeaba también N_2 en las botellas.
- Se pone el tapón con sosa y se cierra herméticamente las botellas.
- Todas las botellas son llevadas a la incubadora donde permanecen agitadas magnéticamente y a una temperatura de 20°C.
- Tras 30 minutos en la incubadora, se les añade a través del *septum* los reactivos de acetato de sodio y sulfatos de amonio, con una relación DQO/ SO_4 de 2.
- El intervalo de muestreo es de 4 horas, excepto en el periodo nocturno y 30 min antes de abrir cada botella se le agrega el FeCl_3 para precipitar los sulfuros presentes, incrementando la dosis a medida que pasa el tiempo.

Más tarde se decidió cambiar el tampón de fosfatos por uno de carbonato para intentar disminuir la cantidad de sal de hierro necesaria (ensayo 6) pero al ver los pésimos resultados se volvió a emplear la solución tampón inicial y se decidió activar los cabezales de las botellas para hacer el seguimiento de la presión generada en su interior.

3.3.2. Procedimiento experimental en reactores

Los reactores eran llenados del fango procedente de la planta piloto SAnMBR por bombeo mientras se les burbujeaba N_2 , lo cual desplazaba el aire presente y ayudaba a retirar por *stripping* el H_2S . Una vez los reactores se llenaban eran tapados herméticamente, agitados de forma mecánica y se les agregaba:

- Solución tampón formada por K_2HPO_4/KH_2PO_4
- $(NH_4)_2SO_4$ (Pureza 99%): 100 mg S-SO₄/L
- $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ (Pureza 99%): 200 mg DQO/L

El uso de reactores hizo necesario que se modificara la forma de obtener la muestra, puesto que éstos no podían abrirse. Para ello se decidió extraer la muestra a través de una de las válvulas que contienen en su lateral mediante el uso de una jeringa de 50 mL.

Previo a la extracción de la muestra, se realizaban varias emboladas con la jeringa para homogeneizar el tramo de la válvula con el resto del reactor con el fin de que la muestra extraída fuera representativa.

3.4. Métodos analíticos

En las determinaciones analíticas que se realizaron para llevar a cabo el seguimiento de la evolución de los componentes en los ensayos, se utilizaron diferentes técnicas de análisis.

La concentración de sulfatos se determinó empleando el método 4500-SO₄⁻² E y la de fosfatos con el método 4500-P F, todos propuestos en el Standard Methods [APHA, 2005]. Los ácidos grasos volátiles y la alcalinidad se midieron mediante el método de valoración ácido-base propuesto por Moosbrugger *et al.*, 1992 y la determinación del nitrógeno total se realizó haciendo uso del kit MERCK, el cual se basa en los métodos descritos en las normas EN ISO 11905-1 e ISO 7890/1.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los sucesivos ensayos realizados se llevaron a cabo con la finalidad de medir la velocidad de consumo de sulfatos y de acético, para poder así diseñar un experimento en *batch* con el que poder realizar la calibración de parámetros anaerobios en laboratorio, siguiendo la misma filosofía que la metodología de calibración desarrollada por el grupo CALAGUA para la determinación de los parámetros de las bacterias implicadas en los procesos aerobios. Esta filosofía consiste en la determinación mediante ensayos *off-line* en el laboratorio de las variables de elevada influencia y el posterior ajuste del resto de variables por simulación del funcionamiento del proceso.

Para conocer la velocidad de consumo tanto de sulfatos como de AGV por parte de las SRB, se tomó fango de la planta piloto SANMBR situada en la EDAR de Carraixet, la cual contiene arqueas metanogénicas y SRB.

4.1. Ensayos en botellas

La velocidad de consumo de los AGV y los sulfatos se pretendió conocer midiendo su evolución a lo largo del tiempo. Para ello se decidió llevar a cabo ensayos empleando botellas opacas, herméticamente cerradas, de forma que en cada experimento se montó una serie de botellas donde cada cierto tiempo se abría una de ellas y se medía su concentración de AGV y sulfatos. Estas botellas se preparan en iguales condiciones y cada ensayo se realizaba suponiendo que en todas ellas el comportamiento era el mismo.

El hecho de abrir la botella y extraer una muestra para determinar las concentraciones de AGV y sulfato podía alterar las condiciones del experimento (variación de la presión, variación del pH por desabsorción de CO₂, entrada de oxígeno) por lo que cada botella sólo servía para la determinación de las concentraciones en un instante de tiempo. Para poder medir la evolución con el tiempo de las concentraciones de AGV y sulfato era necesario preparar una serie de botellas cada una de las cuales se abría cuando había transcurrido un determinado tiempo.

4.1.1. Resultados obtenidos

Introduciendo una concentración conocida en el medio, tanto de sulfato como de acético, y midiendo su descenso a lo largo del tiempo, podrá conocerse su velocidad de consumo.

Ensayo 1

Tras el montaje de las botellas, como se detalla en el procedimiento, y su almacenaje en la incubadora, se decidió medir la concentración de sulfatos cada 15 min con la consecuente apertura de una de las botellas en cada intervalo de tiempo, obteniéndose los resultados mostrados en la *Figura 4.1*.

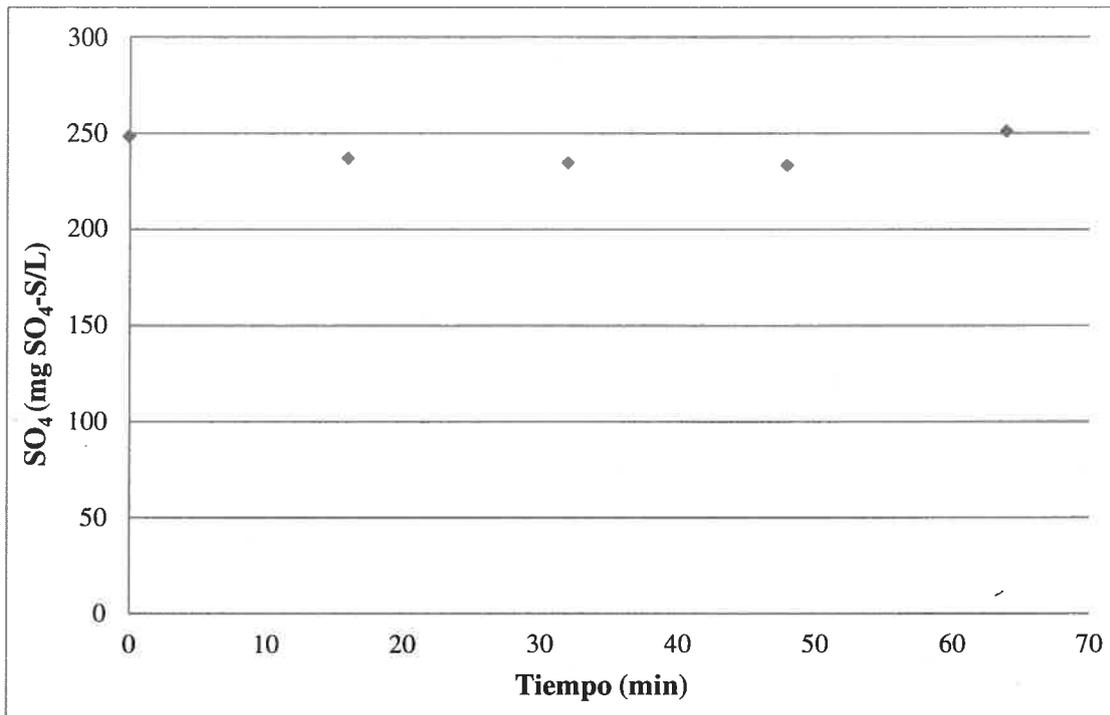


Figura 4.1. Evolución del sulfato en el primer ensayo.

Los valores de concentración de sulfatos obtenidos no evidencian variación a lo largo del tiempo. Esto probablemente puede ser ocasionado por una mala medida o por un espaciado de tiempo entre muestra y muestra demasiado corto, lo que indicaría que la velocidad de consumo es más baja de lo esperado.

Además, los valores obtenidos son superiores a los introducidos (100 mg SO₄-S/L) por lo que el fango utilizado para llevar a cabo los ensayos contiene sulfatos. Este hecho no sólo altera la medida esperada sino que también puede ser uno más de los posibles problemas debido a que concentraciones elevadas de sulfatos en presencia de SRB implica elevadas concentraciones de S⁼/H₂S, lo cual puede generar inhibiciones tanto a las arqueas metanogénicas como a las propias SRB.

Puesto que parece que la velocidad de consumo de sulfatos es baja o de que existe una posible inhibición, se procedió a realizar otro ensayo incrementando el intervalo de tiempo y realizando más analíticas para descartar ambas posibilidades.

Ensayo 2

Este ensayo fue análogo al anterior, pero en este caso las analíticas se realizaron cada 30 min y se midieron también los AGV. Conocer la evolución de los AGV en el medio no sólo ayuda a obtener la velocidad de consumo de los mismos sino también a corroborar que el proceso se esté llevando a cabo, ya que puede que las bacterias SRB estén inhibidas.

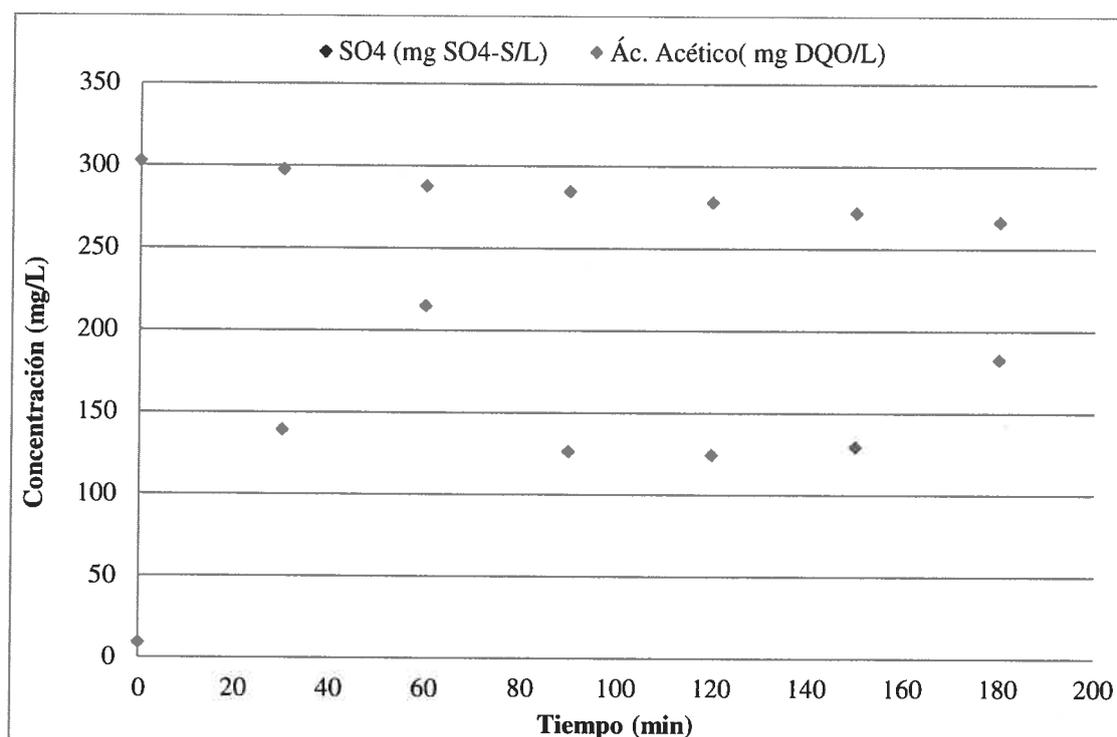


Figura 4.2. Evolución temporal de AGV y sulfatos en el ensayo 2.

Los resultados obtenidos en este segundo ensayo (*Figura 4.2*) muestran la tendencia de los AGV a descender progresivamente, indicando que el proceso no está inhibido aunque su velocidad es muy lenta conviniendo un tiempo más prolongado de experimento. En cuanto a los sulfatos, pese a incrementar el intervalo de tiempo no se ha notado un descenso en los valores obtenidos, aunque tampoco se ha mantenido en un valor relativamente constante, como en el primer ensayo. Estos resultados de sulfatos no muestran ninguna tendencia, siendo totalmente incoherentes, lo que hace pensar que no se esté empleando una técnica analítica adecuada para medir la concentración de éstos en el fango.

Con el fin de conocer la fiabilidad de los resultados se llevaron a cabo ensayos donde se emplean distintos tratamientos de las muestras, los cuales se muestran a continuación.

Ensayo 3

Puesto que hasta ahora los resultados de concentración de sulfatos no han sido satisfactorios, se llevó a cabo un estudio para corroborar cuál es la mejor técnica para poder medir sulfatos en fango.

En este estudio se preparan 3 botellas en las mismas condiciones que las explicadas en un inicio. La diferencia que presentan las botellas es que una de ellas será igual que hasta ahora, otra contendrá sosa y a la última se le añadirá cloruro férrico antes de cerrarlas herméticamente.

Las bacterias SRB, en condiciones anaerobias, emplean los sulfatos en su proceso biológico dando lugar a sulfuros, los cuales pasan a la fase gas en forma de H₂S, dependiendo este equilibrio del pH y la temperatura del medio. Los sulfuros, al entrar en contacto con aire se oxidan rápidamente por vía química a sulfatos de nuevo, siendo éste el principal problema en su medida ya que puede verse alterada.

Para evitar esta oxidación se decidió probar dos metodologías:

- Basificar la muestra. El incremento del pH aumenta la solubilidad de los sulfuros en el medio, evitando que pasen a la forma gaseosa y que se oxiden. En este caso se elevó el pH empleando NaOH.
- Precipitar los sulfuros. La adición de sales metálicas al medio hace que los sulfuros precipiten conforme se van generando, en forma de sulfuros metálicos. Esto permitiría manipular la muestra sin alterar el valor de los sulfatos que todavía queden. En este caso se escogió como reactivo FeCl₃.

Las botellas se mantuvieron cerradas durante 24 horas para asegurar el completo consumo de los sulfatos añadidos, siendo los resultados obtenidos los mostrados a continuación:

Muestra	AGV (mg DQO/L)	SO ₄ ⁻² (mg S-SO ₄ /L)	S ⁼² (mg S/L)	pH _{inicial}	pH _{final}
Fango planta piloto	13.27	3.77	6	7.57	---
Botella 1: Fango	---	105	2	7.58	7.53
Botella 2: Fango + NaOH	---	9.53	33	7.53	9.33
Botella 3: Fango + FeCl ₃	---	1.91	< 0.10	7.48	6.95

Tabla 4.1. Estudio comparativo entre los diferentes métodos para medir sulfatos.

En la *Tabla 4.1* puede verse como la concentración de sulfatos en la botella 1 era la esperada puesto que, de la misma forma que los anteriores ensayos, la concentración de sulfatos obtenida tras 24 horas en la incubadora es la misma que la alimentada lo que denota una interferencia en la medida por parte de los sulfatos oxidados al manipular la muestra.

En la botella 2 se esperaba que no aparecieran sulfatos y que todos los introducidos se encontraran en forma de sulfuro. Por el contrario, se ha detectado una pequeña concentración de sulfato cuya suma con los sulfuros no cumple el balance puesto que es inferior a lo que se le alimentó. Esto es debido a la presencia de compuestos de azufre intermedios entre ambas especies, como puede ser el anión S₂O₃⁼, el cual precisamente es estable en medios con pH básico.

Por último, en la botella 3 la concentración de sulfatos es despreciable y la de sulfuros inferior al límite de detección del espectrofotómetro, por lo que parece ser que es la mejor metodología a seguir para el tratamiento de la muestra cuando se pretende

medir la evolución del sulfato ya que, tras 24 horas de incubación no da presencia de sulfatos debido a que las SRB los han consumido en su totalidad y tampoco da señal de sulfuros porque éstos se encuentran precipitados en forma de sulfuros metálicos.

Encontrada la forma de manipular la muestra sin alterar su concentración de sulfatos, se volvieron a repetir los primeros ensayos esperando obtener mejores resultados en esta ocasión, siendo los resultados obtenidos los mostrados seguidamente.

Ensayo 4

Dado que la adición de la sal de hierro precipita los sulfuros evitando que éstos se oxiden y alteren la medida de sulfato, se decidió realizar de nuevo otro ensayo siguiendo el mismo procedimiento de montaje descrito inicialmente, pero en este caso añadiéndole FeCl_3 a cada una de las botellas antes de cerrarlas herméticamente.

Además de añadirle una concentración de hierro de 120.1 mg Fe/L a cada botella, se incrementó el número de botellas a 12 (blanco incluido) para tener más datos y se incremento el intervalo de muestreo a 4 horas, excepto en los periodos nocturnos en los que no se realizaban analíticas.

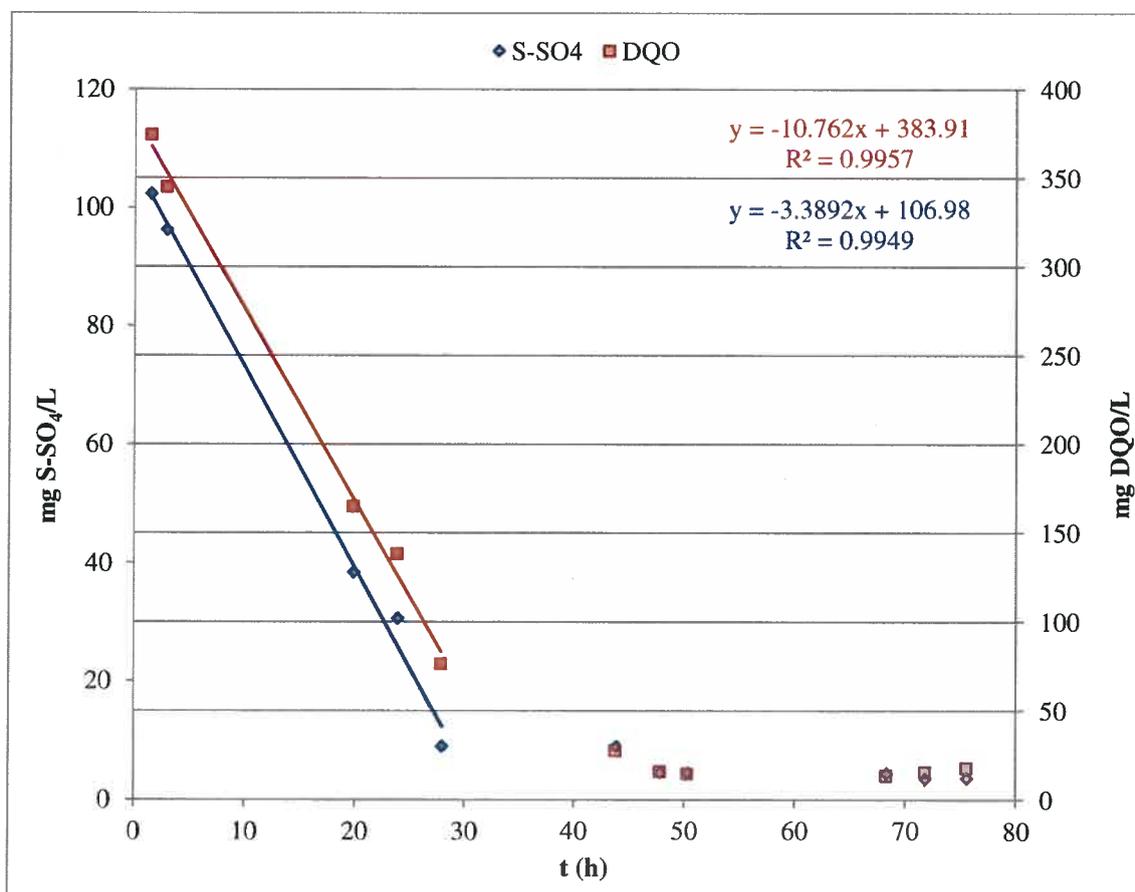


Figura 4.3. Evolución temporal de los AGV y los sulfatos en el ensayo 4.

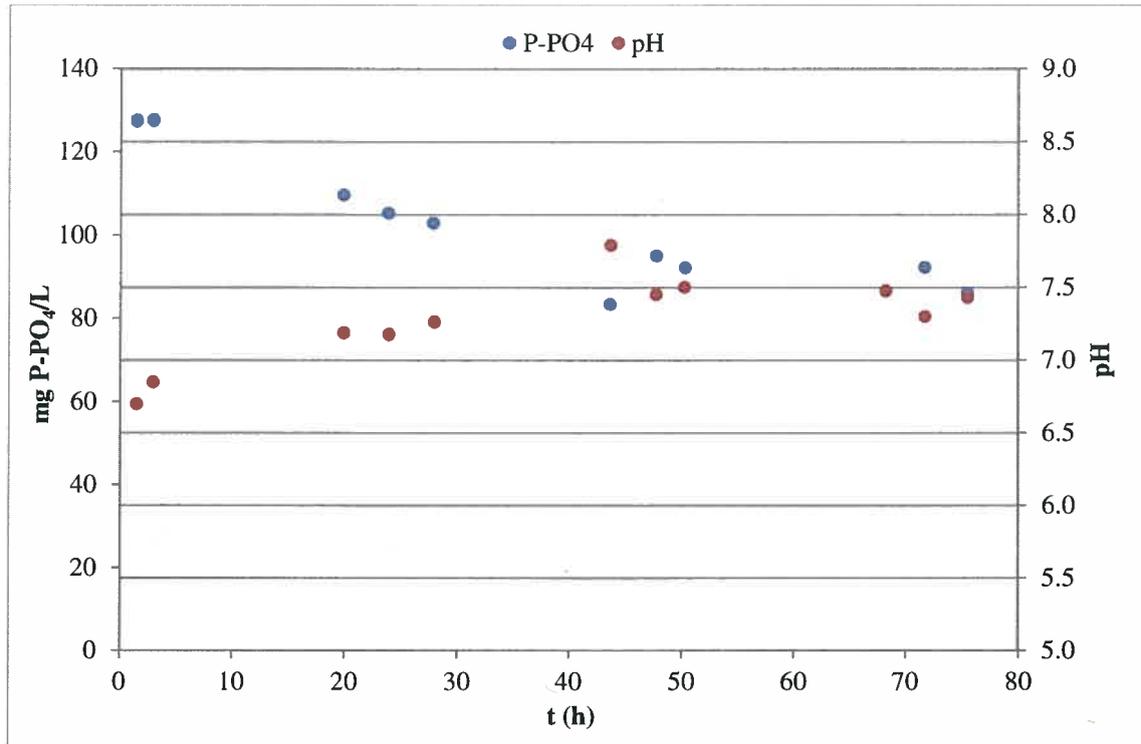
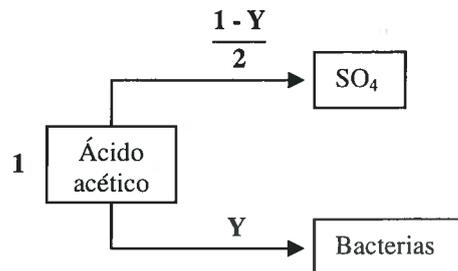


Figura 4.4. Evolución temporal de los sulfatos y el pH en el ensayo 4.

En la *Figura 4.3* muestra el progresivo consumo tanto de AGV como de sulfatos, como era de esperar, corroborando que en los primeros ensayos se estaba realizando una incorrecta manipulación y análisis de las muestras y que la adición de hierro corrige este error. Así mismo, la correcta manipulación de la muestra demuestra que tanto el consumo de AGV como de sulfatos se realiza de forma lineal, hecho visible por la bondad de los coeficientes de correlación obtenidos de su ajuste lineal. En los últimos puntos puede verse un ligero ascenso de los sulfatos, lo que puede ser debido a un defecto de sal de hierro al final del proceso.

Conocidas las pendientes tanto para la DQO como para el sulfato, puede determinarse el rendimiento de las bacterias SRB de la siguiente forma.



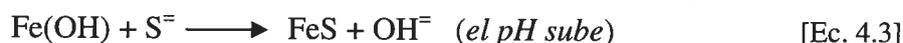
Si por cada unidad de ácido acético se consumen $(1-Y)/2$ unidades de sulfatos, el valor del rendimiento de las bacterias sulfato reductoras puede obtenerse a partir de las pendientes como:

$$\frac{1 - Y_{\text{SRB}}}{2} = \frac{3.39}{10.76} \quad [\text{Ec. 4.1}]$$

Siendo el valor del rendimiento $Y_{\text{SRB}} = 0.37 \text{ gDQO/gDQO}$. Este valor es válido siempre y cuando se asuma que no aparece acético en el medio como consecuencia de la fermentación y que el consumo de este acético se debe únicamente a las bacterias SRB. En este experimento pueden asumirse ambas hipótesis ya que:

- La bibliografía consultada establece que la velocidad de consumo de los ácidos por parte de las bacterias SRB es superior a la de las arqueas metanogénicas.
- La baja concentración de ácido obtenida en los últimos puntos de la *Figura 4.3*, tras haberse agotado el sulfato, denotan la ausencia de fermentación.

Por otra parte, en la *Figura 4.4* puede verse como la adición de FeCl_3 produce un descenso del pH, el cual se va recuperando a medida que se consume esta sal (*Ec. 4.2* y *Ec. 4.3*)



Así mismo, se observa un descenso considerable de la concentración de fosfatos. Este descenso de los fosfatos es debido a la precipitación de FePO_4 , lo cual corroboraría la escasez de FeCl_3 al final del ensayo como consecuencia de un consumo adicional de dicha sal por parte de los fosfatos, que no se había tenido en cuenta.

Puesto que existe un consumo de Fe por parte de los fosfatos, se procederá a realizar nuevos ensayos incrementando la concentración de hierro introducida, así como cambiando la solución tampón.

Ensayo 5

La realización de nuevos ensayos incrementando la concentración de hierro debe realizarse con precaución, puesto que una elevada concentración de FeCl_3 añadida de una sola vez, podría generar una baja de pH tan brusca que la biomasa se viera afectada por la acidificación del medio. Además, si el hierro está presente de forma excesiva, al entrar en contacto con la atmósfera pasa de Fe^{+2} a Fe^{+3} , adquiriendo un color naranja que interferiría en la medida.

Por ello, se decidió emplear otro tipo de botellas para realizar los ensayos, las cuales incluyen un *septum* por donde poder inyectar los reactivos. Esto permitirá incrementar la dosis de Fe progresivamente.

En este caso se montaron 7 botellas y la concentración de hierro se incrementó hasta 810.7 mg Fe/L, siendo los resultados:

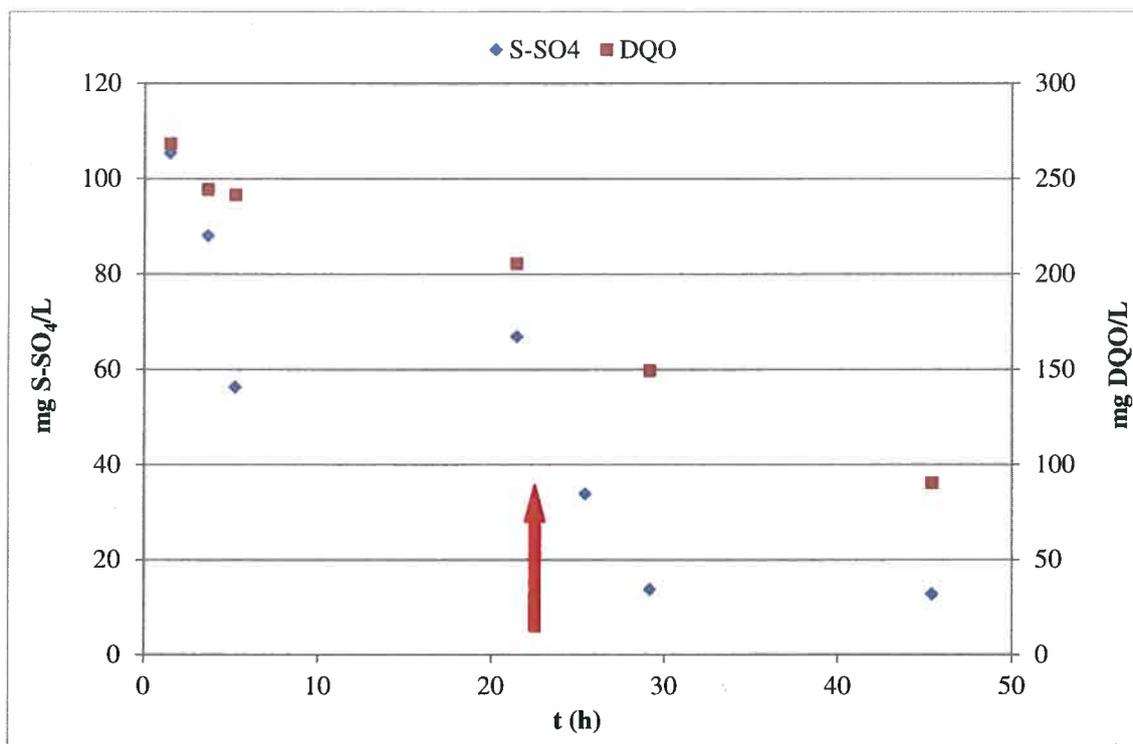


Figura 4.5. Evolución temporal de los AGV y los sulfatos en el ensayo 5.

La evolución de los AGV sigue la tendencia esperada, disminuyendo su concentración a lo largo del ensayo. En cambio, los sulfatos muestran una subida anómala en mitad del ensayo. Esto se atribuye a una dosificación de hierro inferior a la necesaria puesto que al incrementarse dicha dosis las concentraciones posteriores adquieren los valores esperados.

La dosificación de hierro realizada fue la siguiente:

$V_{\text{dosificado}}$ (mL)	Fe (mg/L)
0.0	0.0
1.0	162.2
1.0	162.2
3.0	468.4
4.0	648.6
4.5	729.7
5.0	810.7

Tabla 4.2. Dosificación de hierro en cada una de las botellas.

A la primera botella no se le añade hierro porque se abre a los 15 minutos de dosificar el reactivo, con el fin de corroborar la concentración total que hay en el interior de las botellas al inicio del experimento.

El uso de hierro, dosificado en cantidades apropiadas, asegura una correcta medida de los sulfatos en el medio pero supone un consumo más elevado de reactivo, así como la necesidad de asegurarse de que en cada momento se está dosificando la cantidad adecuada.

Ensayo 6

El empleo de una solución tampón de fosfatos requiere el incremento de la concentración de hierro en las botellas, por lo que el cambio de solución tampón podría eliminar este problema.

Este experimento fue realizado con una solución tampón de NaHCO_3 , y preparado en iguales condiciones:

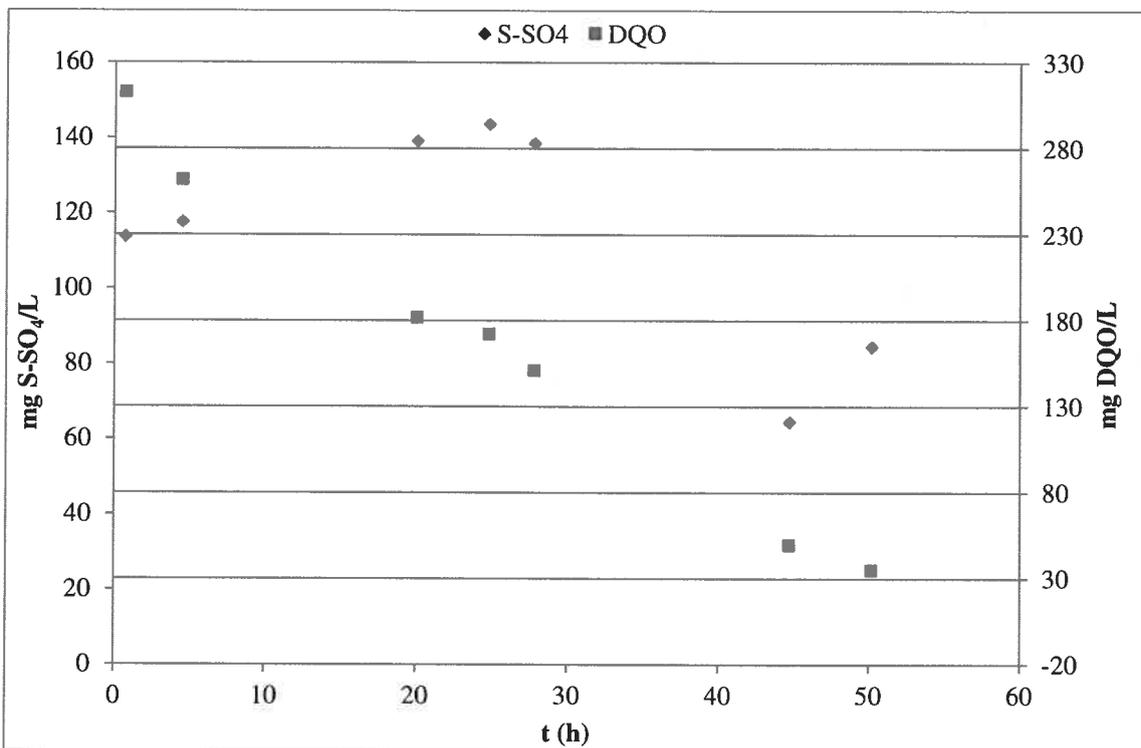


Figura 4.6. Evolución de los AGV y los sulfatos en el ensayo 6.

Los AGV muestran la misma tendencia (*Figura 4.6*), asegurando que el proceso biológico está activo. En cambio, los sulfatos muestran de nuevo valores incoherentes, llegando incluso a ser más altos de los introducidos y medidos inicialmente.

Estos resultados se asociaron a un error experimental y se decidió volver a repetir el mismo ensayo.

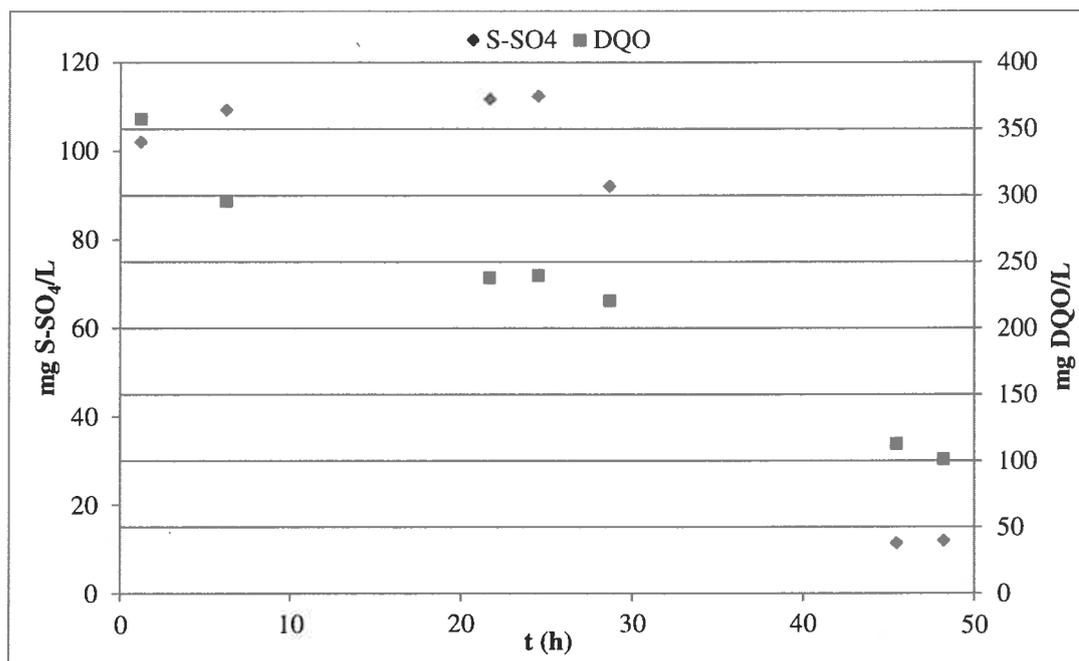


Figura 4.7. Evolución de los AGV y los sulfatos en la repetición del ensayo 6.

Tras la repetición del ensayo, los valores de los sulfatos seguían siendo anómalos (*Figura 4.7*), reproduciéndose con bastante exactitud los resultados.

Puesto que el único cambio introducido con respecto al ensayo 5 fue la sustitución de la solución tampón, esto hace pensar que elevadas concentraciones de carbonato interfieren en la medida de los sulfatos.

El método analítico seguido a partir de este momento fue la dosificación progresiva de FeCl_3 en las botellas, con el fin de precipitar los sulfuros presentes para que no interfieran, y emplear como tampón la solución de fosfatos, la cual es mezclada con todo el fango antes de repartirlo realizando el burbujeo con N_2 .

Ensayo 7

Decidida la estrategia para analizar los sulfatos y aprovechando que se estaban usando botellas con *septum*, se decidió realizar dos experimentos en paralelo:

- Adición de sulfatos y acetato en todas las botellas desde el inicio del experimento. Esto permitirá ver la velocidad de consumo de ambos.
- Adición de acetato en todas las botellas desde el inicio y posterior adición de sulfatos. Esto permite observar la velocidad de consumo de AGV por parte de las arqueas metanogénicas y, tras la adición de sulfato, se espera que la velocidad de desaparición de los AGV se incremente debido al consumo llevado a cabo no solo por las metanogénicas sino también por las SRB. Los sulfatos se intentaron añadir en el momento en el que la relación DQO/SO_4 se esperaba que fuera de 2.5.

Además, se montó una tercera serie de botellas en las que se pretendió observar la hidrólisis que estaba teniendo lugar, por lo que el fango de estas botellas sólo contenía la solución tampón.

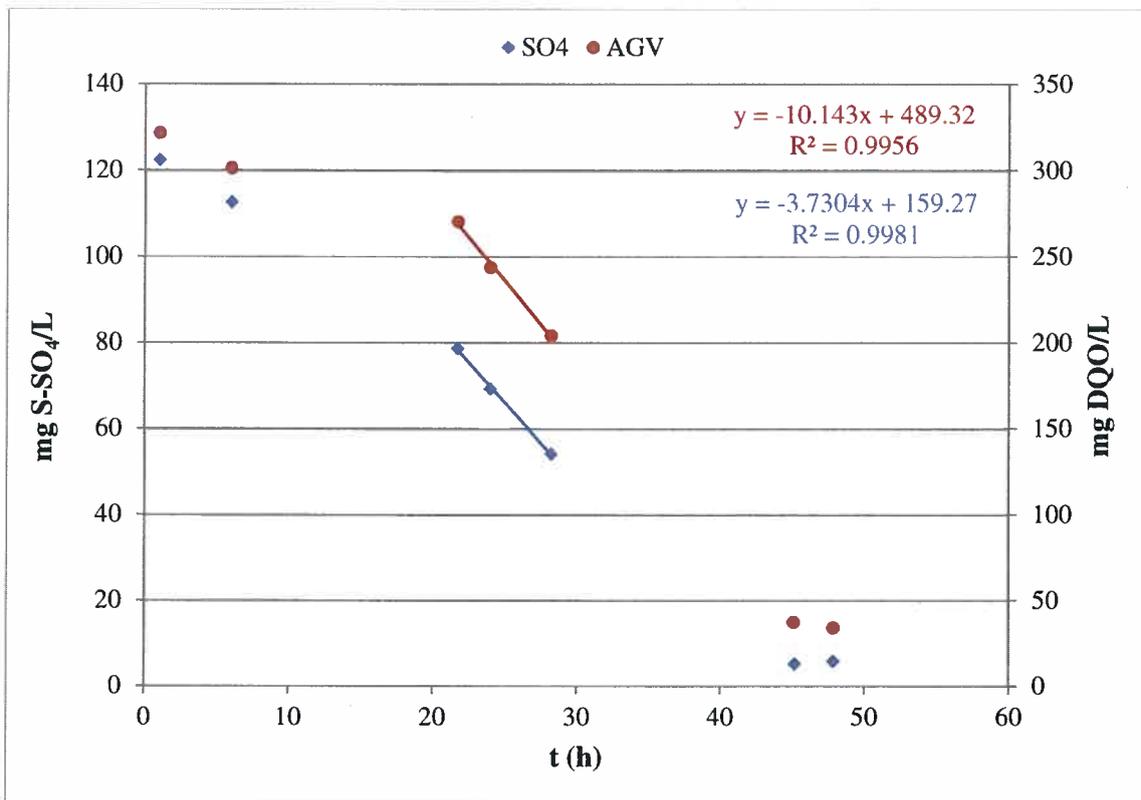


Figura 4.8. Evolución de los AGV y los sulfatos con la adición de acetato y sulfatos desde un inicio.

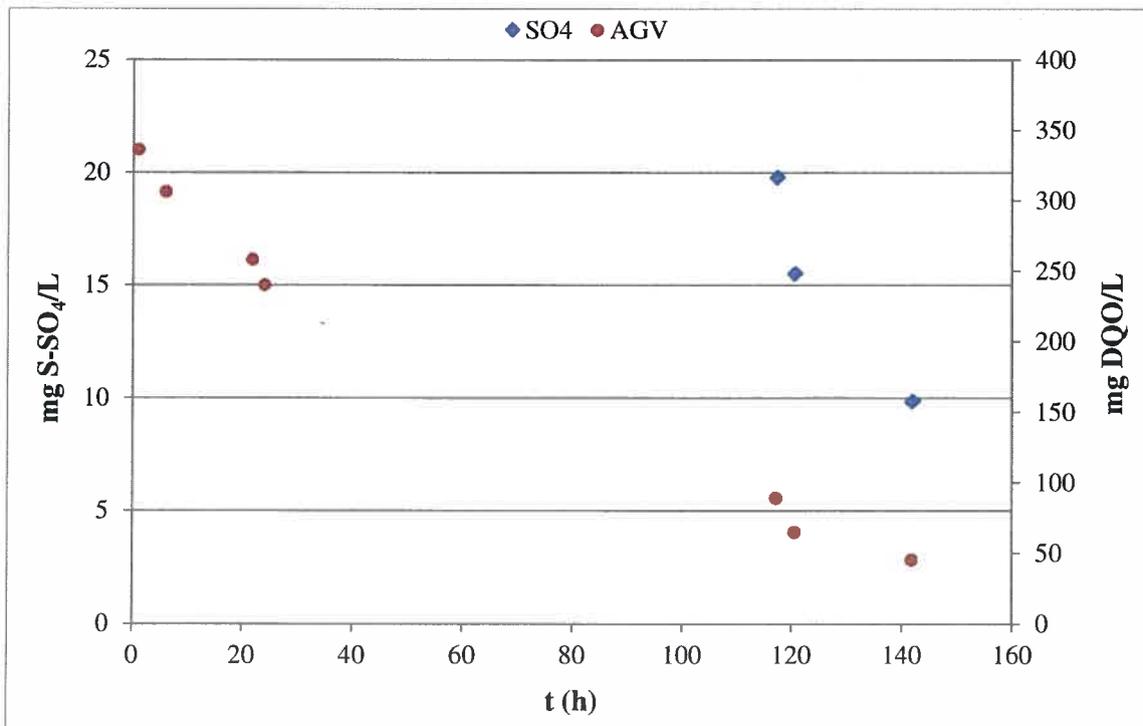


Figura 4.9. Evolución de los AGV y los sulfatos con la adición progresiva de acetato y sulfatos.

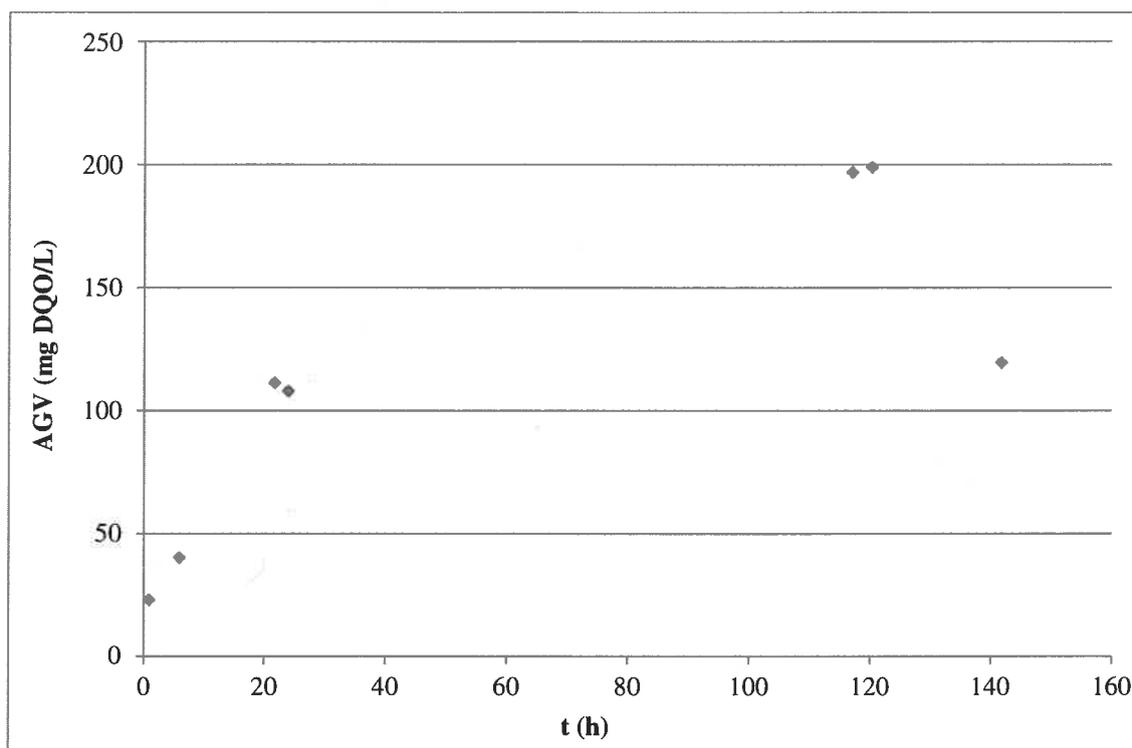


Figura 4.10. Evolución de los AGV con la hidrólisis.

Pese a que existe un incremento de los ácidos en el medio como consecuencia de la hidrólisis (*Figura 4.10*) en ambos experimentos puede verse un descenso de su concentración, sobre todo en la *Figura 4.9* tras la adición del sulfato, en la que no se inyectaron antes los sulfatos porque no se esperaba un descenso tan rápido de los AGV. Si la adición se hubiera llevado a cabo antes se podría haber visto mejor el cambio de pendiente asociado al consumo de arqueas metanogénicas y bacterias SRB.

En la *Figura 4.8* puede verse que, de igual forma que en el ensayo 4, la concentración de AGV y de sulfatos desciende linealmente, con una pendiente similar a dicho ensayo. Este hecho refleja que la velocidad de consumo es muy semejante en ambos experimentos y por tanto que tienen una buena reproducibilidad.

Debido a la falta de datos correspondientes al periodo nocturno, no puede verse con claridad los cambios de pendientes esperados, por lo que llevar a cabo un registro continuo de la presión podría dar mejores resultados.

En las botellas en las que sólo se añade inicialmente acetato, podría verse un incremento de la presión como consecuencia de la generación de metano por parte de las arqueas mientras que, tras la adición de los sulfatos debería generarse un incremento de presión y por tanto de pendiente debido a que también se estaría generando H_2S .

Ensayo 8

En este experimento la velocidad de consumo de acético se evaluará con la velocidad de generación de metano, inyectándose sulfato tras ver una clara pendiente en

los valores de presión e introduciendo la sal de hierro antes de la apertura de cada botella.

Las botellas se montaron siguiendo el protocolo ya establecido pero en este caso los cabezales de presión, que sólo se empleaban para cerrar herméticamente las botellas, fueron activados para que registraran el incremento de presión a lo largo del ensayo.

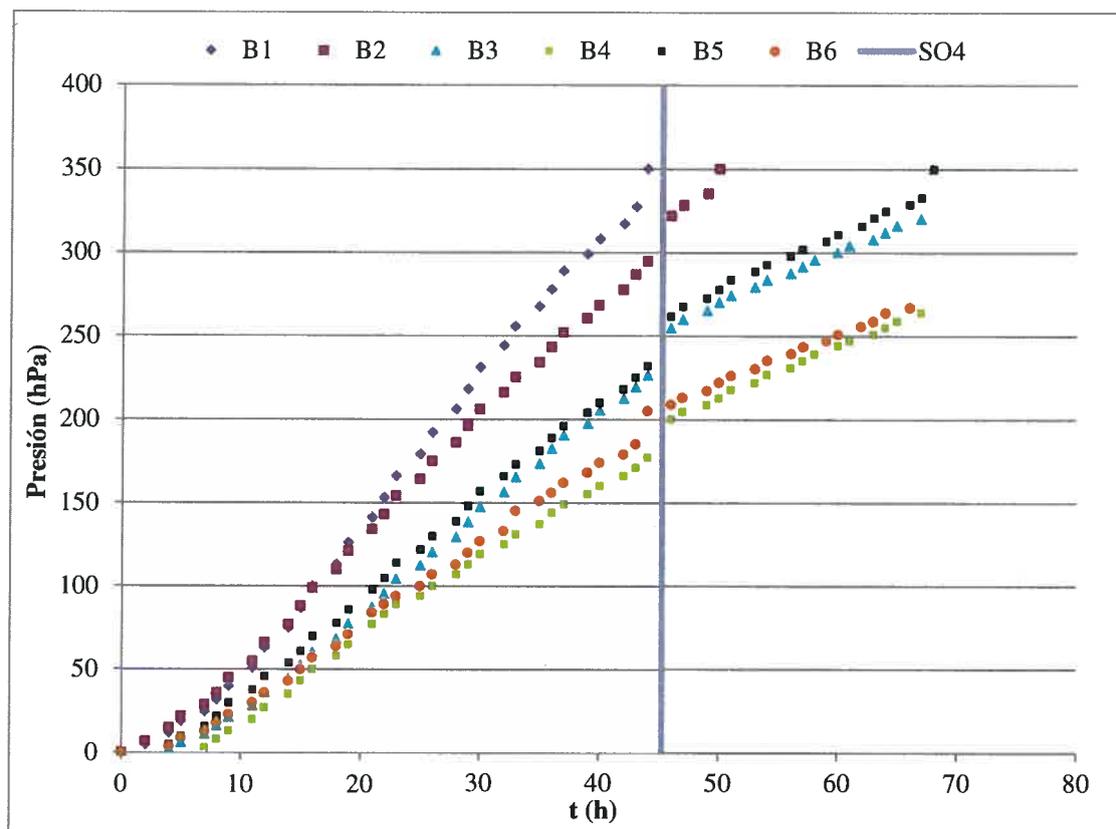


Figura 4.11. Evolución de la presión en las botellas a lo largo del ensayo 8.

Existen importantes diferencias entre las presiones registradas debido a que el volumen de las botellas es aproximadamente de 500 mL pero no es exactamente el mismo, aunque se intentó en todo momento que las botellas fueran lo más parecidas posible para minimizar estas diferencias. Conocido el volumen de gas en cada una de las botellas así como la presión generada en ellas (*Figura 4.11*) puede conocerse el biogás que hay en su interior (*Figura 4.12*).

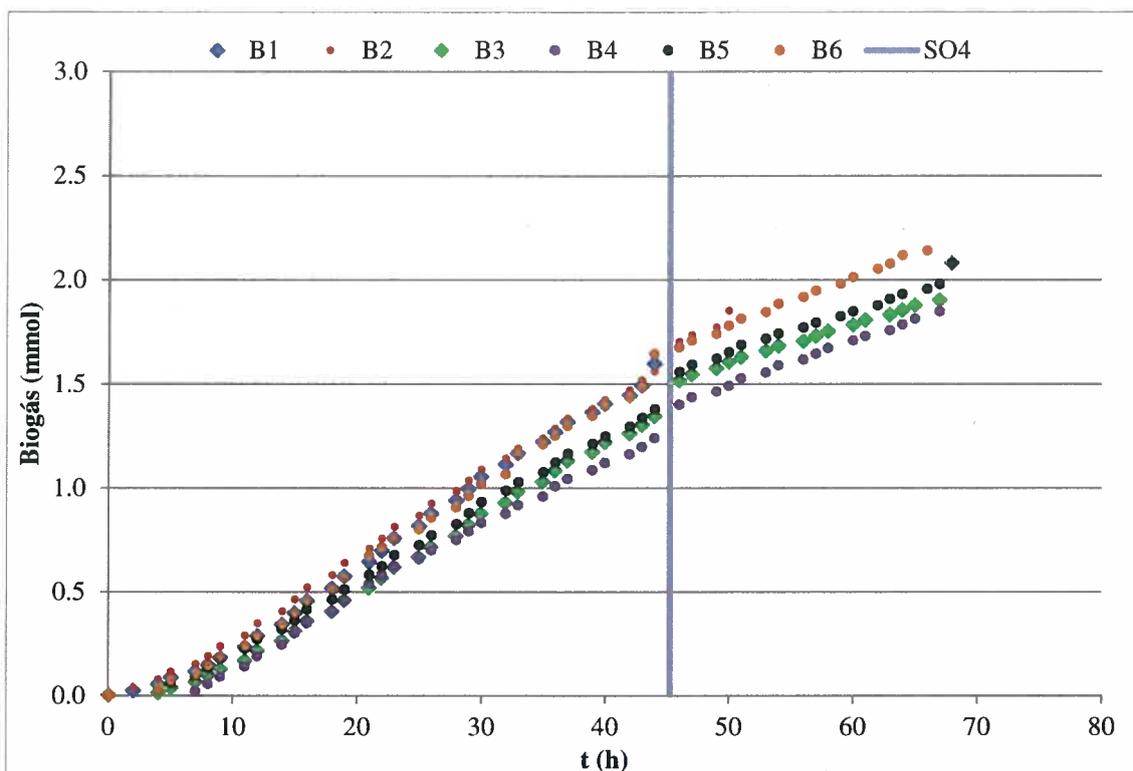


Figura 4.12. Evolución del biogás en las botellas a lo largo del ensayo 8.

Tras la inyección de sulfatos se observa un ligero incremento de la presión, lo cual corrobora la aparición de H_2S en el medio como consecuencia del consumo de los sulfatos por parte de las SRB. Así mismo, en la Figura 4.13, puede verse el consumo de los sulfatos desde el momento de su adición.

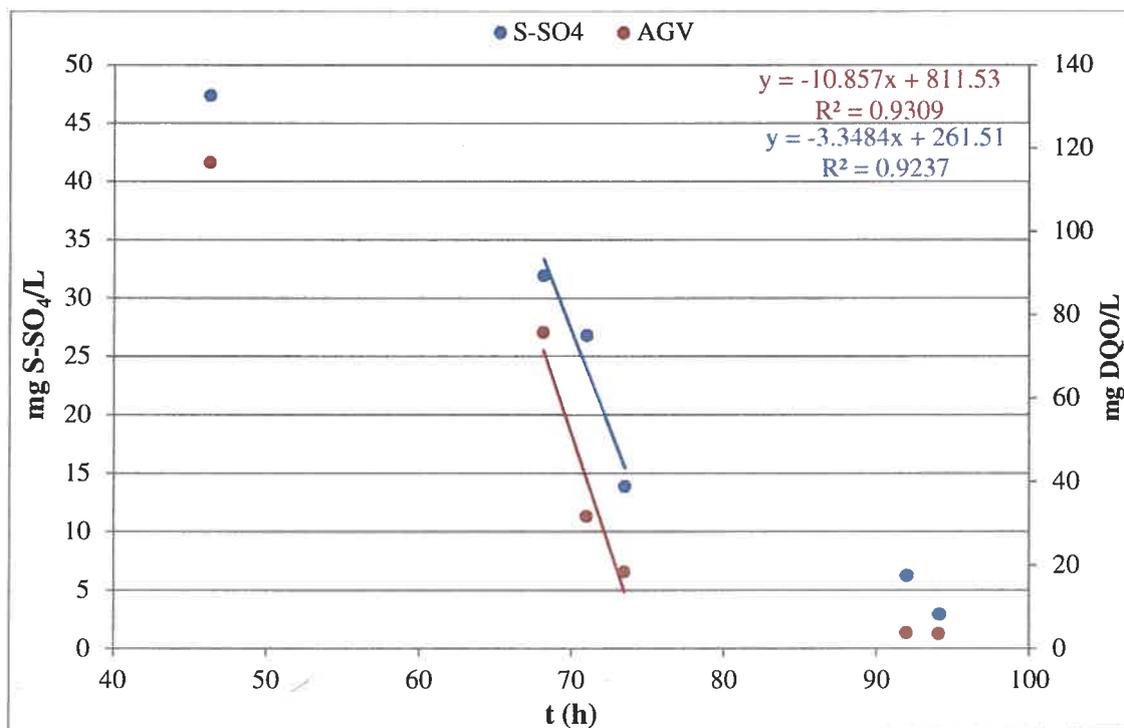


Figura 4.13. Evolución de los AGV y los sulfatos a lo largo del ensayo 8.

Los buenos resultados obtenidos hacían pensar que se estaba cerca de conseguir obtener resultados óptimos con los que conocer los valores de los parámetros anaerobios pero, pese al cuidado que se puso en intentar que las botellas fueran las más reproducibles posibles para que el proceso que se estuviera llevando en ellas fuera el mismo en todo momento, la *Figura 4.11* y la *Figura 4.12* muestran que existen diferencias entre ellas. Por ello, se plantea la opción de trabajar con un reactor.

4.2. Ensayos en reactor

Con la finalidad de poder conocer la velocidad de consumo tanto de sulfato como de AGV, asegurando que el proceso se está desarrollando igual en todo momento, se decidió diseñar 2 reactores anaerobios en los que llevar a cabo los experimentos.

Ambos reactores fueron diseñados de forma idéntica con una capacidad de 12 litros. Éstos fueron llenados con 9 litros de fango, siendo este volumen escogido en función del volumen total de muestra que se iba a sacar, puesto que no debe representar más de un 10% del volumen total.

Los reactores estaban equipados con sondas de pH, redox y mantenidos a 20°C, siendo sus valores monitorizados.

4.2.1. Resultados obtenidos

Ensayo 9

En este experimento se procedió a evaluar la velocidad de consumo de los sulfatos, a fin de corroborar la mejora producida al realizar los ensayos en reactor.

La extracción de la muestra se llevó a cabo mediante una jeringa de forma que, tras realizar las emboladas de agitación del tramo de la válvula, se llenó la jeringa con 2 mL de FeCl_3 , asegurando que no hubiera presencia de burbujas de aire, y posteriormente se extrajo la muestra del reactor. El hecho de llenar previamente la jeringa con la sal de hierro hace que al tomar la muestra, ésta se mezcle con el hierro sin entrar en contacto con el aire y termine de mezclarse al vaciar la jeringa en el tubo que se lleva a centrifugar.

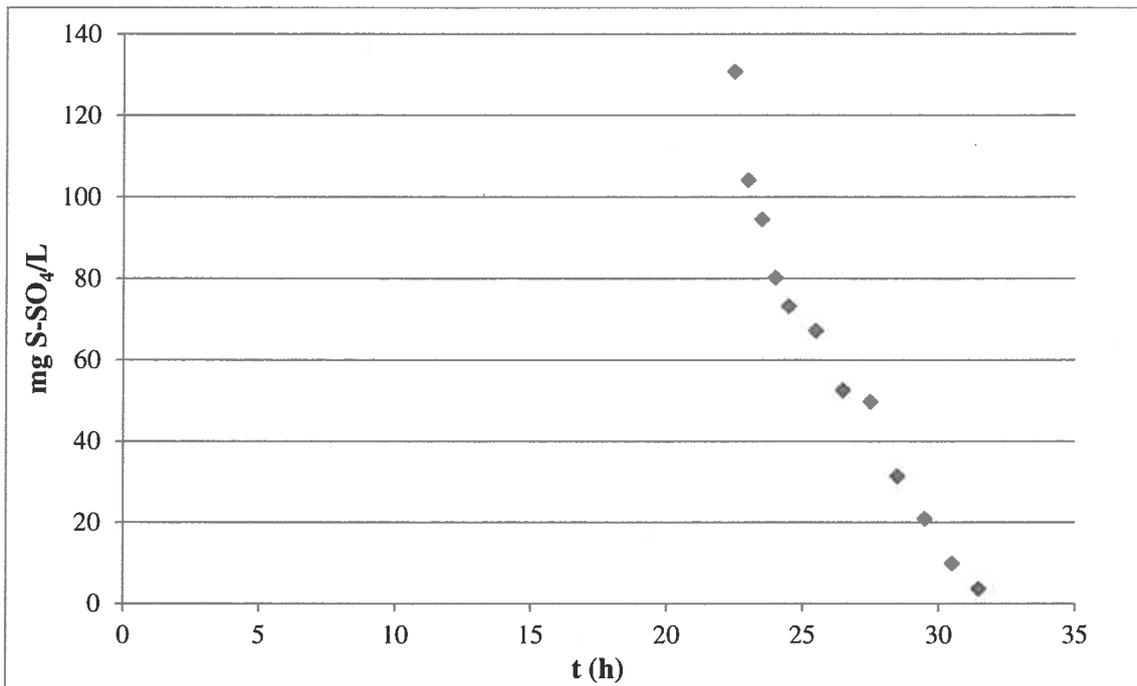


Figura 4.14. Evolución de los sulfatos en un reactor *batch* anaerobio. Ensayo 9.

En la *Figura 4.14* puede verse el rápido descenso de la concentración de sulfatos desde el momento en que se inyecta, manteniendo una tendencia lineal durante la mayor parte del experimento, lo que hace pensar que el valor del parámetro K_{SO_4} es bastante bajo.

Con el fin de confirmar estos resultados, se volvió a repetir el experimento en iguales condiciones, siendo los resultados mostrados en la *Figura 4.15*.

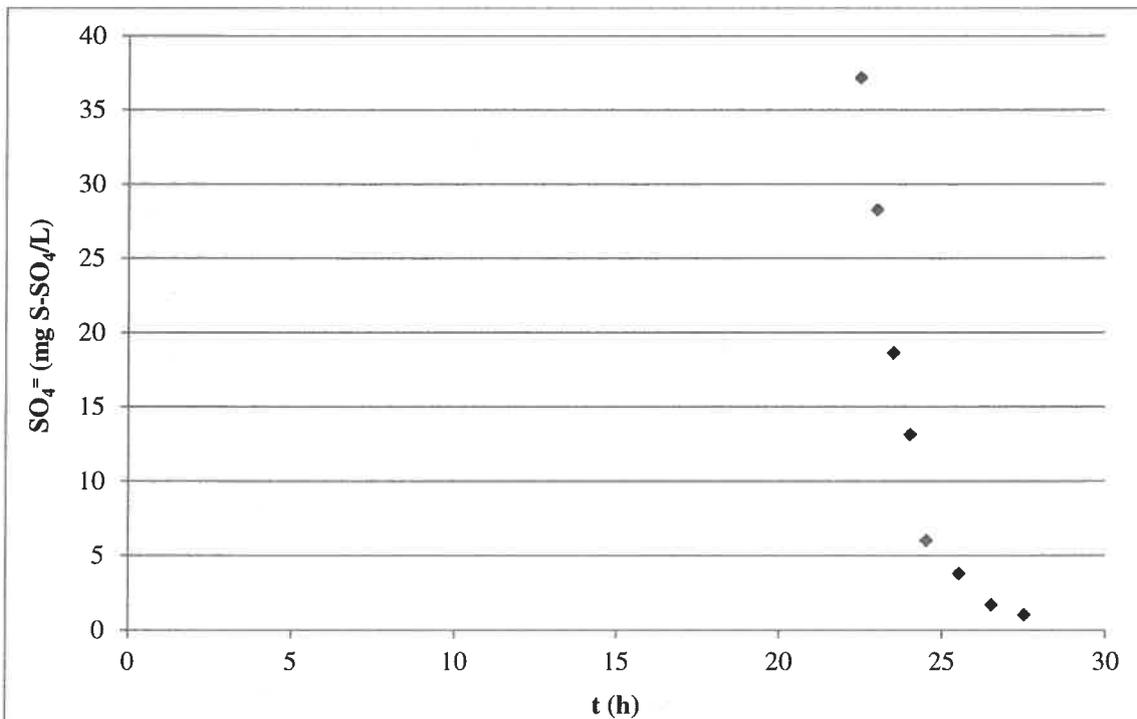


Figura 4.15. Evolución temporal de los sulfatos en reactor *batch* anaerobio. Reproducción ensayo 9.

La evolución de la concentración de sulfatos obtenida en la repetición del ensayo 9 dio valores muy similares, reafirmando la elevada velocidad de consumo de éstos y el bajo valor esperado de la constante K_{SO_4} .

Para ambos experimentos se realizó el cálculo de la constante de semisaturación, estimando los valores teóricos de sulfato que se obtendrían y minimizando el error relativo entre este valor calculado con el modelo y el real obtenido experimentalmente. El hecho de emplear el error relativo se debe a la existencia de puntos muy diversos que se intentan ajustar porcentualmente, ya que los datos abarcan valores tanto altos como muy bajos. Los resultados obtenidos son los mostrados a continuación:

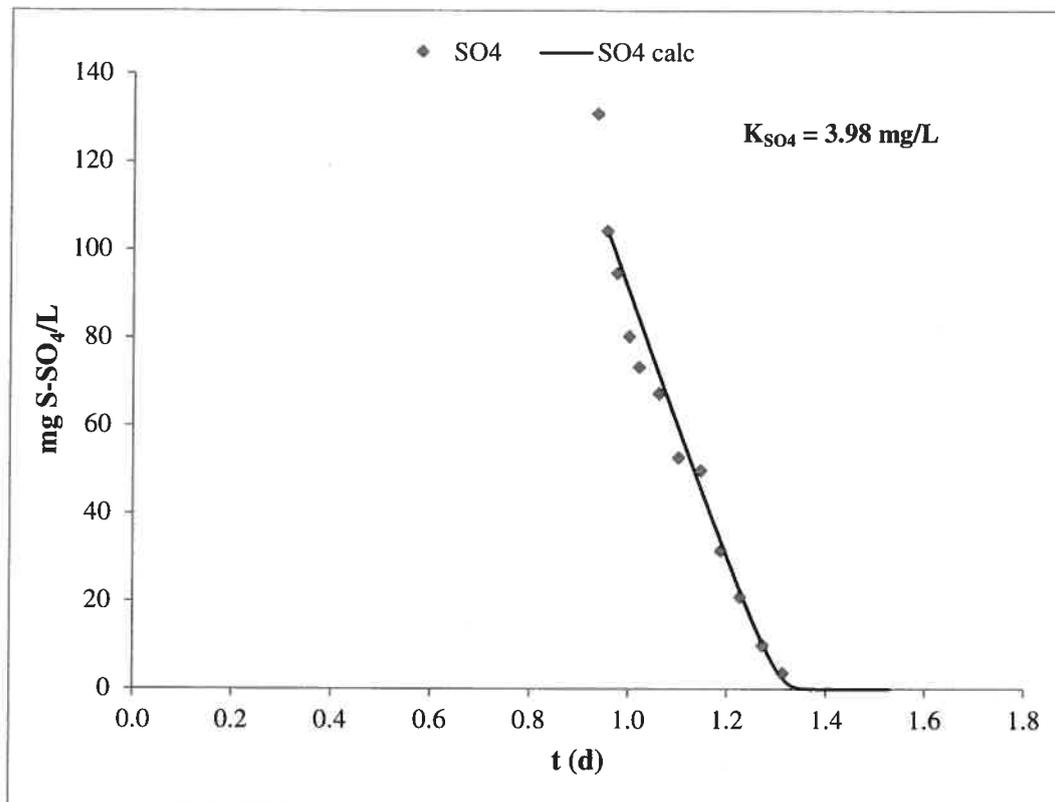


Figura 4.16. Estimación de la K_{SO_4} del ensayo 9.

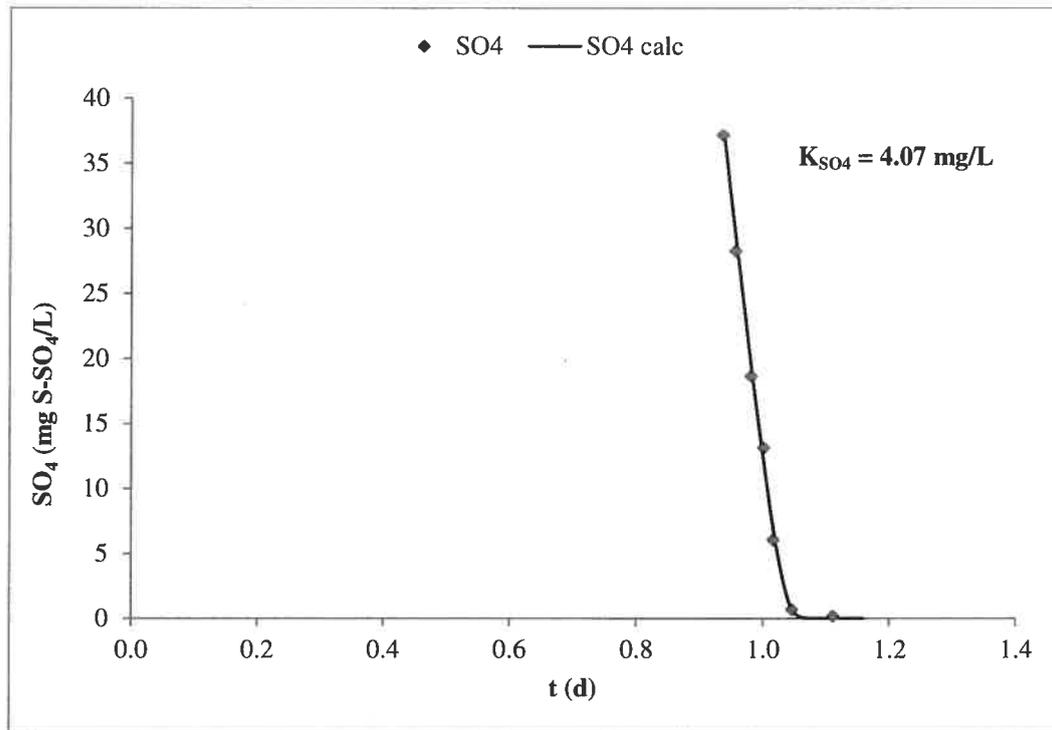


Figura 4.17. Estimación de la K_{SO₄} de la repetición del ensayo 9.

Los valores calculados de sulfatos con los que se realiza el ajuste de los datos para poder obtener el valor de K_{SO₄}, se lleva a cabo mediante la ecuación 4.4:

$$\frac{dSO_4}{dt} = -k \cdot \frac{SO_4}{K_{SO_4} + SO_4} \quad [\text{Ec. 4.4}]$$

Donde *k* es una constante que engloba el valor de la velocidad de crecimiento, la concentración de bacterias y el rendimiento asociado.

Cabe destacar que en el ajuste realizado en la Figura 4.16 de los datos experimentales y los calculados, se desprecia el primero de los valores puesto que se desvía de la tendencia de los demás y tenerlo en cuenta incrementaría la pendiente de los resultados de forma irreal.

Los valores encontrados de esta constante en la bibliografía han sido obtenidos por simulación y, pese a ser valores bajos como era de esperar, presentan gran variabilidad (Tabla 4.3).

Autor	K _{SO₄}	Unidades
Martin <i>et al.</i> (2002)	0.35	g S/m ³
Fedorovich <i>et al.</i> (2003)	3.00	g S/m ³
Lizarralde <i>et al.</i> (2010)	9.60	g S/m ³

Tabla 4.3. Valores de K_{SO₄} obtenidos por simulación.

Esto corrobora la necesidad de calibrar los parámetros del modelo empleado para cada caso concreto, con el fin de poder adaptarlo y validarlo para que represente la realidad lo más fielmente posible.

Así mismo, estos resultados demuestran la validez de la metodología empleada para poder llevar a cabo las calibraciones dado que, conocido uno de los parámetros más sencillos como es la K_{SO_4} pueden obtenerse otros como la velocidad de crecimiento de las SRB acetotróficas (μ_{SRB-ac}), conociendo el rendimiento y estimando la concentración de bacterias a partir de los SSV.

En estos resultados, existe el riesgo de que en los valores iniciales donde todavía no hay una elevada concentración de sulfuros en el medio, el volumen de sal de hierro cogido con la jeringa sea excesivo. Esto daría lugar a una excesiva presencia de hierro en la muestra, lo que provocaría que ésta adquiriera una coloración naranja que interferiría en su medida dado que se realiza por colorimetría.

Tras corroborar que llevar a cabo los ensayos en reactor mejora los resultados, porque el proceso es el mismo desde un inicio, y que la precipitación de los sulfuros es la mejor técnica para medir los sulfatos en el fango sin que el resultado se vea alterado, se debe probar cuál sería el resultado con otra sal metálica y en qué dosis se puede agregar para que no suponga una interferencia.

Ensayo 10

Se realizó un experimento cambiando la sal de hierro por $ZnCl_2$ puesto que ambas sales precipitan bien los sulfuros. En este ensayo se procedió a dosificar 2, 4 y 6 mL de para comprobar si tiene algún efecto el incremento de la concentración de Fe y Zn en la medida de los sulfatos. Los resultados fueron muy similares debido a que tanto el $FeCl_3$ como el $ZnCl_2$ en exceso generan interferencias en la medida, pero existen entre ellos ciertas diferencias que permiten decantarse por la sal de hierro.

El cloruro de zinc en exceso no muestra coloración, por lo que no se puede apreciar a simple vista si la muestra es válida o no, mientras que con el cloruro férrico se puede descartar la muestra en cuanto se observa su coloración anaranjada, lo que permite extraer otra inmediatamente con una dosificación inferior y, por tanto no perder una medida.



Figura 4.18. Muestra con diferentes dosis de hierro y zinc (a). Diferentes dosis de zinc (b).

En la *Figura 4.18a* puede verse la coloración que adquiere la muestra tras la adición de 2, 4 y 6 mL de FeCl_3 y de ZnCl_2 , de izquierda a derecha respectivamente. Sólo el exceso de hierro muestra coloración, pero tanto el exceso de hierro como de zinc alteran la medida. En la *Figura 4.18b* se observa que un defecto de zinc si puede ser apreciado porque el sobrenadante queda turbio tras el centrifugado (2, 4 y 6 mL de izquierda a derecha) pero en el exceso no muestra ningún cambio en su aspecto, esto es debido a que las sales metálicas son buenos coagulantes-floculantes.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

- Para llevar a cabo experimentos de calibración de parámetros anaerobios se deben emplear reactores cerrados herméticamente, debido a que el desarrollo de dichos experimentos en botellas individuales no asegura que el proceso que se esté llevando a cabo en cada una de ellas sea exactamente el mismo. Hecho que se corrobora con la diferente producción de metano mostrada
- La media de la evolución SO_4^{-2} y de AGV permite obtener los valores de los parámetros anaerobios y, por tanto, realizar una calibración de ellos mediante distintos ensayos.
- Problemática asociada a la medida de sulfatos:
 - La manipulación de muestras de fango que contienen sulfuros debe ser cuidadosa si se pretende llevar a cabo un análisis de los sulfatos presentes, puesto que los sulfuros se oxidan químicamente a sulfatos al entrar en contacto con la atmósfera, alterando de esta forma la medida.
 - La adición de FeCl_3 precipita los sulfuros en forma de FeS evitando que éstos puedan interferir en la medida de sulfato. Así mismo, la adición de la sal de hierro disminuye el pH pero éste se va recuperando a medida que se consume la sal.
 - La extracción de la muestra del reactor mediante jeringa evita la alteración de la biomasa restante en el reactor. En la jeringa con la cual se extrae la muestra se introduce previamente el FeCl_3 , dándose lugar a la mezcla con la sal en la propia jeringa, sin entrar en contacto con oxígeno y evitando tener que introducir la sal en el reactor para evitar alterar el proceso lo menos posible. Esto permite la dosificación progresiva de hierro.
 - Un exceso de sales metálicas a la hora de extraer la muestra del reactor interfiere en la medida.
 - Otras sales metálicas como el ZnCl_2 son capaces de precipitar los sulfuros pero la sal de hierro le proporciona un característico color naranja que permite detectar visualmente cuando existe un exceso de sal, facilitando la toma inmediata de otra medida con menos dosis.
- Se comprueba la validez de la metodología empleada para manipular y analizar las muestras y, por tanto, para poder llevar a cabo un calibrado, puesto que ha permitido obtener el valor de la K_{SO_4} y de la Y_{SRB} . De esta forma, podrían obtenerse otros valores como la $\mu_{\text{SRB-ac}}$.

BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

APHA (2005). *Standard methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th edition*. American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environmental Federation, Washington DC, USA.

Batstone, D.J., Keller, J., Angelidaki, I., Kalyuzhnyi, S., Pavlostathis, S., Rozzi, A., Sanders, W., Siegrist, H. and Vavilin, V., (2002). *The IWA Anaerobic Digestion Model No1*. *Water Science and Technology*, 45(10), 63-73.

Batstone, D.J., Keller, J. and Steyer, J.P., (2005). *A review of ADM1 extensions, applications and analysis 2002-2005. Proceedings of the First International Workshop on the IWA anaerobic digestion model No. 1 (ADM1)*. Lyngby, Denmark, 2-4 Sept, 1-9.

Bhattacharya S.K., Uberoi V., Dronamraju M. (1996). *Interacton Between acetate fed sulfate reducers and methanogens*. *Water Research*, 30 (10), 2239-2246.

Bodik I., Herdová B., Dritl M. (2000) *Anaerobic treatment of the municipal wastewater under psychrophlic conditions*. *Bioprocess Engineering*, 22, 385-390.

Doeagrist H., Vogot D., García-Heras J., Gujer E. (2002). *Mathematical model for meso-and thermophilic anaerobic sewage sludge digestion*. *Environmental Science and Technology*, 36(5), 1113-1123.

Fedorovich, V., Lens, P. and Kalyuzhnyi, S., (2003). *Extension of Anaerobic Digestion Model No. 1 with Processes of Sulfate Reduction*. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 109, 33-45.

Ferrer Polo, J., Seco Torrecillas, A., (2003). *Tratamientos biológicos de aguas residuales*. Editorial Universidad Politécnica de Valencia.

Ferrer, J., Seco, A., Serralta, J., Ribes, J., Manga, J., Asensi, E., Morenilla, J.J., and Llavador, F., (2008). *DESASS: a software tool for designing, simulating and optimizing WWTPs*. *Environmental Modeling and Software*, 23, 19-26.

Gatti M.N., Martí N., Giménez J.B., Carretero L., Ruano V., Seco A. (2010) *Sulfate-rich wastewater treatment using a Submerged Anaerobic Membran Bioreactor (SAMBR)*.

Grady C.P.L. Jr., Daigger G.T., Lim H.C. (1999) *Biological wastewater treatment*. 2nd Edition. Marcel Dekker, New York.

Henze, M., Gujer, W., Mino, T. and van Loosdrecht, M.C.M., (2000). *Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3*. IWA STR No 9. IWA Publishing, London, UK

Kuba T., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J (1996b) *Phosphorus and nitrogen removal with minimal COD requirement by integration of denitrifying dephosphatation and nitrification in two-sludge system. Water Research, 30(7), 1702-1710.*

Knobel, A. N., Lewis, A. E., (2002). *A mathematical model of a high sulphate wastewater anaerobic treatment system. Water Research 36 (2002) 257–265.*

Koster, I.W., Rinzema, A., De veigt, A.L., Lettinga, G., (1986). *Sulfide inhibition of the methanogenic activity of granular sludge at various pH levels. Water Research 20, 1561-1567.*

Laanbroek, J.H., Geerlings, H., Sitjtsma, L. Veldkamp, H., (1984). *Competition for sulphate and ethanol among Desulfobacter, Desulfobabus and Desulfovibrio species isolated from intertidal sediments. Appl. Environmental Microbiology, 128, 329-334.*

Lizarralde, I., de Gracia, M., Sancho, L., Ayesa, E. and Grau, P., (2010). *New mathematical model for the treatment of wastewaters containing high sulphate concentration*

Manga J., Ferrer J., García-Usach F., Seco A. (2001) *A modification to the Activated Sludge Model N° 2 based on the competition between phosphorus-accumulating organisms and glycogen-accumulating organisms. Wat Sci Technol. 43, (11) 161-171*

Martí Ortega, N., (2007). *Estudio de las estrategias de operación de la digestión anaerobia de fangos para optimizar la recuperación de fósforo en EDAR. Tesis doctoral. Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Valencia.*

Martin S., Vorneau Y., Ginestet P., Héduit, A. (2002). *Modeling acidogénica and sulfate-reducing processes for the determination of fermentable fractions in wastewater. Biotechnology and Bioengineering. 80(5),525-536.*

McCartney, D.M., Oleszkiewicz, J.A., (1991). *Sulfide inhibition of anaerobic degradation of lactate and acetate. Water Research 15 (2), 203-209.*

McCartney, D.M., Oleszkiewicz, J.A., (1993). *Competition between methanogens and sulphate reducers: effect of COD/sulphate ratio and acclimatization. Water Environment Research 65, 655-664.*

Metcalf & Eddy (1995) *Ingeniería de aguas residuales. Tratamiento, vertido y reutilización. Mc Graw Hill.*

Monod J. (1942) *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Herman et Cie, Paris, France.*