



**Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas
Departamento de Química**

Trabajo de Tesis Doctoral

**Tratamiento biológico de aguas residuales
industriales**

Cintia Cecilia Lobo

**Director: Dr. Edgardo M. Contreras
Codirectora: Dra. Nora C. Bertola**

Año 2014

Esta Tesis es presentada como parte de los requisitos para optar al grado académico de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de la Plata. La misma contiene los resultados obtenidos en las investigaciones llevadas a cabo en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), dependiente de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata y del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), durante el período comprendido entre noviembre de 2009 y marzo de 2014.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCYT) y la Universidad Nacional de la Plata (UNLP) por haber solventado la realización del presente trabajo.

Al Centro de Investigación en Criotecnología de Alimentos (CIDCA) y en especial a su Directora, la Dra. Noemí Zaritzky, por haber proporcionado no sólo un ámbito físico adecuado para la realización del presente trabajo sino un entorno de excelencia académica.

A mi Director de Tesis, el Dr. Edgardo Contreras y a mi Co-Directora, la Dra. Nora Bertola, por su supervisión, enseñanzas, correcciones e invaluable apoyo.

Al grupo de personas que trabajan en los laboratorios de Quesos/Efluentes e Histología del CIDCA por ayudarme en los ensayos experimentales, brindarme su amistad, apoyo y comprensión en los momentos difíciles.

Al laboratorio de Electrónica (LEC) del CIDCA por el desarrollo del equipo de adquisición de datos, sin el cual parte de esta Tesis no hubiera sido posible.

Le agradezco hoy y siempre a mi familia por el esfuerzo realizado por ellos. A mi mamá, Elsita, mis hermanas Adriana y Marcela, mi hermano Javier, mis sobrinos Rocío, Aylén y Ramiro, por cuidarme y apoyarme siempre.

A Martín por su paciencia, apoyo y amor de cada día.

En fin, gracias a todos los que directa o indirectamente participaron leyendo, opinando, corrigiendo, compartiendo experiencias, dando ánimo, acompañando en los momentos difíciles y de felicidad.

- Parte de los resultados obtenidos han dado origen a las siguientes publicaciones:

“Stoichiometry and kinetic of the aerobic oxidation of phenolic compounds by activated sludge”. Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. *Bioresource Technology* (2013), 136 pp. 58-65. ISSN 0960-8524.

“Modelling the change in the oxidation coefficient during the aerobic degradation of phenol by acclimated activated sludge”. Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. *Water SA*. (2014), pp 125-131. ISSN 0378-4738.

“Error propagation in open respirometric assays”. Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E.. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. (2014), en prensa.

“Evaluación del desarrollo de biopelícula para el tratamiento de agua residual de industria láctea”. Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. VII Congreso Argentino de Ingeniería Química. "Energía - Sustentabilidad - Nanotecnologías - Bioprocesos - I&D, Desafíos del futuro". 2013. Rosario, Argentina. Trabajo completo publicado en CD.

“Producción de metabolitos estrogénicos del nonilfenol polietoxilado en reactores de barros activados”. Artutri, T.; Lobo, C.; Contreras, E.; Zaritzky, N. VII Congreso Argentino de Ingeniería Química. "Energía - Sustentabilidad - Nanotecnologías - Bioprocesos - I&D, Desafíos del futuro" 2013. Rosario, Argentina. Trabajo completo publicado en CD.

“Estudio de la Biooxidación de Compuestos Fenólicos por Lodos Activados mediante Respirometría Abierta” Lobo, C.; Contreras, E, Bertola, N. 1º Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología Ambiental. 1º Congreso Nacional de la Sociedad Argentina de Ciencia y Tecnología Ambiental. 2012. Mar del Plata, Argentina. Trabajo completo publicado en CD.

“Biooxidación individual y conjunta de compuestos fenólicos por lodos activados” Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. 2012. 18º Congreso de Saneamiento y Medioambiente.2012 Buenos Aires, Argentina. Trabajo completo publicado en CD.

“Variaciones en la cinética de biooxidación de fenol, suero de queso y acetato en barros activados inducidas por cambios en la composición de la alimentación” Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. Congreso Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas 2012. San Rafael, Mendoza, Argentina. Resumen publicado en CD. ISBN 978-987-575-106-4.

“Estudio de la biooxidación de compuestos fenólicos por barros activados” Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. XXV Interamerican Congress of Chemical Engineering & XVIII Chilean Congress of Chemical Engineering. “Developing collaboration networks”. 2011. Santiago de Chile, Chile. Resumen publicado en CD.

“Estrategias de aclimatación de barros activados en el tratamiento de aguas residuales conteniendo fenol” Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. VI Congreso Argentino de Ingeniería Química “Aportes de la Ingeniería Química a los Desafíos y Oportunidades del Siglo XXI”. 2010. Mar del Plata, Argentina. Trabajo completo publicado en CD. ISSN 1850 3519.

- Parte de los resultados obtenidos se encuentran en proceso de revisión para la siguiente publicación:

“Phenol biodegradation by activated sludge is a combination of Monod and Haldane kinetics”. Lobo, C.; Bertola, N.; Contreras, E. Enviado a Environmental Engineering and Management Journal el 27/09/2012 (EEMJ_712_Lobo_12).

Resumen

A nivel mundial la disponibilidad de recursos hídricos constituye un tema de gran preocupación. En la Tierra solo el 2.53% del total de agua corresponde a agua dulce y se estima que solo el 15% del total de aguas residuales de América Latina recibe tratamiento.

En Argentina la principal fuente de recursos hídricos son las aguas superficiales que representan un 80% del total de disponibilidad de agua; dentro de ellas se destaca la Cuenca del Plata que representa un 34% de la superficie total del país y un 83% del agua dulce de escurrimiento; sobre la misma se asienta un 70% de la población del país. En la franja costera de la provincia de Buenos Aires desde Buenos Aires a La Plata (80 km de costa) se asienta un tercio de la población de Argentina y se concentra la mayor actividad industrial del país, generando un fuerte impacto ambiental sobre el Río de La Plata. Se ha informado la presencia de diferentes tipos de descargas directas y difusas sin previo tratamiento (efluentes cloacales, industriales, etc.) sobre éste río y sus numerosos afluentes. Esto afecta la calidad físico-química de sus aguas, comprometiendo la vida acuática y su calidad microbiológica.

El Río Matanza - Riachuelo constituye uno de los cuerpos de agua más contaminados por fuentes domésticas e industriales en nuestro país. La cuenca Matanza - Riachuelo comprende una superficie aproximada de 2240 km², en su extensión de 60 km atraviesa la Ciudad de Buenos Aires, 8 partidos del Gran Buenos Aires y 5 partidos del resto de la provincia. Se estima que sobre la cuenca Matanza - Riachuelo se encuentran 15000 industrias, entre las cuales la industria química es la responsable de más de un tercio de la contaminación. Debido a la gran urbanización e industrialización, la cuenca recibe grandes aportes de contaminantes, siendo una de las 10 cuencas más contaminadas del mundo. La contaminación de recursos hídricos es un problema estrechamente relacionado a aguas residuales industriales. En Argentina el crecimiento de la actividad industrial y la falta de previsión sobre la construcción de plantas de tratamiento de efluentes, incrementó los problemas relacionados con los efluentes generados. Las industrias que generan efluentes líquidos con contenido de compuestos tóxicos son variadas, dentro de la cuenca se encuentran industrias petroleras, químicas y de galvanoplastia. Debido a su elevada toxicidad, son de principal interés aquellas industrias que contienen compuestos aromáticos en sus efluentes líquidos. Dentro de los compuestos aromáticos presentes en efluentes líquidos industriales, los compuestos

fenólicos son considerados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). Debido al gran uso del fenol y sus derivados en muchas industrias, tanto en Argentina como en el resto del mundo los compuestos fenólicos están muy extendidos en el ambiente.

Debido a que Argentina es el décimo productor de leche a nivel mundial y el sexto país exportador de productos lácteos, este sector industrial es un importante generador de efluentes líquidos. A diferencia de las aguas residuales con compuestos fenólicos, el principal problema de las aguas residuales del sector lácteo no está asociado a su toxicidad, sino al gran volumen generado. Las aguas residuales se generan durante la limpieza de tanques, pasteurizadores, bachas de cuajado, limpieza de superficies y servicios del personal. El volumen de agua residual vertida por la industria lechera se estima en 1-2 litros por litro de leche procesada.

En el presente trabajo de Tesis se propone como objetivo general reducir problemas de contaminación ambiental a través del desarrollo y optimización de procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales industriales que contienen suero de queso (como modelo de agua residual de industria láctea) y compuestos fenólicos (como modelo de aguas residuales industriales con compuestos tóxicos).

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| 1-INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1. Recursos Hídricos..... | 2 |
| 1.2. Contaminación, Saneamiento y Agua Potable: Situación mundial..... | 2 |
| 1.3. Contaminación del agua..... | 6 |
| 1.4. Efectos de la contaminación del agua sobre el ambiente y la salud..... | 10 |
| 1.5. Situación en Argentina | 11 |
| 1.5.1. Recursos hídricos disponibles..... | 11 |
| 1.5.2 Cobertura de agua potable y alcantarillado | 11 |
| 1.5.3. Contaminación de las aguas subterráneas..... | 13 |
| 1.5.4. Contaminación de las aguas de superficie | 14 |
| 1.6. Aguas residuales..... | 17 |
| 1.6.1. Aguas residuales domesticas..... | 17 |
| 1.6.2. Aguas residuales industriales..... | 17 |
| 1.7. Efluentes líquidos industriales..... | 18 |
| 1.7.1. Contaminación con compuestos fenólicos..... | 21 |
| 1.7.1.1. Efectos del fenol sobre la salud..... | 22 |
| 1.7.1.2. Efecto del fenol sobre el ambiente | 23 |
| 1.7.1.3. Tratamiento de aguas residuales conteniendo fenol..... | 23 |
| 1.7.1.4. Mecanismos de biodegradación de fenol | 24 |
| 1.7.2. Agua residual de industria láctea | 26 |
| 1.7.2.1. Tratamiento de aguas residuales de industria láctea..... | 27 |
| 1.8. Sistema tradicional de barros activados | 28 |
| 1.9. Reactores híbridos | 31 |
| 1.10.1 Objetivo general..... | 33 |
| 1.10.2 Objetivos particulares..... | 33 |
| 1.11. Estructura general del trabajo de Tesis | 34 |

| | |
|---|----|
| 2- MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES | 35 |
| 2.1. Generación de barros activados..... | 36 |
| 2.2. Aclimatación de barros activados a fenol | 37 |
| 2.3. Operación del reactor de barros activados..... | 38 |
| 2.4. Técnicas Respirométricas | 40 |
| 2.4.1. Respirimetría cerrada | 41 |
| 2.4.2. Respirimetría abierta..... | 42 |
| 2.5. Métodos analíticos | 46 |
| 2.5.1. Determinación de pH | 46 |
| 2.5.2. Determinación de la concentración de fenol..... | 46 |
| 2.5.3. Demanda Química de Oxígeno (DQO) | 47 |
| 2.5.4. Determinación de la concentración de biomasa (X) | 48 |
| | |
| 3- DEGRADACIÓN DE FENOL Y SUERO DE QUESO MEDIANTE LA UTILIZACIÓN DE REACTORES BIOLÓGICOS | 50 |
| 3.1. Consideraciones generales..... | 51 |
| 3.2. Objetivos..... | 52 |
| 3.3. Adaptación de los barros activados a fenol | 53 |
| 3.3.1. Ensayo experimental | 53 |
| 3.3.2. Remoción de fenol por barros activados no adaptados a degradar fenol | 54 |
| 3.3.3. Aclimatación de los barros activados a diferentes concentraciones de fenol... .. | 56 |
| 3.3.4. Estudio del proceso de aclimatación a fenol en dos etapas | 61 |
| 3.4 Variación de la velocidad específica de degradación de sustrato y de la actividad respiratoria de barros activados en función de cambios en la alimentación | 63 |
| 3.4.1. Ensayo experimental..... | 63 |

| | |
|---|----|
| 3.4.2. Variación de la velocidad específica de degradación de sustratos inducida por cambios en la alimentación del reactor | 64 |
| 3.4.3. Variación de la actividad respiratoria de barros activados asociada al consumo de suero de queso en respuesta a variaciones en la composición del agua residual | 69 |
| 3.4.5. Análisis de la actividad respiratoria de barros activados asociada al consumo de fenol en respuesta a variaciones en la composición del agua residual..... | 72 |
| 3.5. Conclusiones del Capítulo..... | 77 |
| | |
| 4- RESPIROMETRÍA ABIERTA. EJEMPLO DE APLICACIÓN Y EVALUACIÓN DEL ERROR ASOCIADO A LAS MEDIDAS DE RESPIRACIÓN..... | 79 |
| 4.1. Consideraciones generales..... | 80 |
| 4.2. Objetivos..... | 81 |
| 4.3. Estudio de la relación entre el consumo de fenol y la velocidad de respiración por barros activados aclimatados a fenol | 81 |
| 4.3.1. Ensayo experimental | 81 |
| 4.3.2. Perfil respirométrico correspondiente a la oxidación de fenol por barros aclimatados | 82 |
| 4.4. Error asociado a las medidas de velocidad de consumo de oxígeno y el oxígeno consumido obtenidas mediante respirometría abierta | 85 |
| 4.4.1. Ensayo experimental | 86 |
| 4.4.2. Obtención de las expresiones necesarias para estimar el error en la determinación de la velocidad de consumo de oxígeno y el oxígeno consumido a partir de perfiles respirométricos..... | 86 |
| 4.4.3. Incertidumbre de las mediciones en ensayos de respirometría abierta | 90 |
| 4.4.5. Evaluación de la desviación estándar del término $b_{tw,\Delta t}$ (σ_b) por la técnica de Monte Carlo | 91 |
| 4.4.6 Evaluación de las varianzas correspondientes a R_{exn} y OC_t | 95 |
| 4.5 Conclusiones | 96 |

| | |
|--|---------|
| 5- DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR BARROS ACTIVADOS ACLIMATADOS A FENOL..... | 98 |
| 5.1. Consideraciones generales..... | 99 |
| 5.2. Objetivos..... | 100 |
| 5.3. Oxidación de compuestos fenólicos por barros activados aclimatados a fenol. | 100 |
| 5.3.1. Ensayo experimental | 100 |
| 5.3.2. Variación de la velocidad de respiración de barros activados durante la oxidación de compuestos fenólicos..... | 101 |
| 5.3.3. Cambios en la velocidad específica de respiración (q_{EX}) durante la adición de pulsos sucesivos de compuestos fenólicos..... | 104 |
| 5.3.4. Efecto de los pulsos sucesivos de sustrato sobre de la velocidad específica de degradación..... | 108 |
| 5.3.5. Coeficiente de oxidación ($Y_{O/S}$) de los compuestos fenólicos estudiados | 112 |
| 5.4. Oxidación biológica de mezclas de compuestos fenólicos | 113 |
| 5.4.1. Ensayo experimental | 113 |
| 5.4.2. Cambios en la velocidad específica de respiración durante la biodegradación de mezclas de compuestos fenólicos..... | 114 |
| 5.4.3. Determinación del oxígeno consumido durante la oxidación de mezclas de compuestos fenólicos | 117 |
| 5.5. Conclusiones del capítulo | 119 |
| 6- VARIACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BIOMASA EN REACTOR DE BARROS ACTIVADOS Y REACTOR HÍBRIDO EN FUNCIÓN DE CAMBIOS EN LAS CONDICIONES DE OPERACIÓN | 120 |
| 6.1 Consideraciones generales..... | 121 |
| 6.2 Objetivos..... | 122 |
| 6.3. Efecto del tiempo de residencia celular y el tipo de sustrato de alimentación en el desempeño de un reactor semicontinuo de barros activados..... | 123 |

| | |
|---|-----|
| 6.3.1. Ensayo experimental | 123 |
| 6.3.2. Efecto del tiempo de residencia celular (θ_c) en la concentración de biomasa en un reactor semicontinuo alimentado con suero de queso o fenol como únicas fuentes de carbono..... | 123 |
| 6.3.3. Modelado del efecto del tiempo de residencia celular (θ_c) sobre la concentración de biomasa en un reactor semicontinuo..... | 126 |
| 6.4. Estudio del proceso de adhesión de los barros activados a un soporte: influencia del tipo de sustrato y el tiempo de residencia celular. | 133 |
| 6.4.1 Ensayo experimental | 133 |
| 6.4.2 Generación de biomasa adherida a soporte en reactor híbrido para diferentes tiempos de residencia celular para barros activados alimentados con suero de queso | 137 |
| 6.5. Estabilidad de la biomasa en el sistema híbrido frente a la modificación del sustrato de alimentación | 141 |
| 6.5.1 Ensayo experimental..... | 141 |
| 6.5.2 Variación de biomasa total en reactor híbrido y reactor de barros activados con fenol como sustrato..... | 141 |
| 6.6 Generación de biomasa adherida en reactor híbrido en diferentes tiempos de residencia celular para barros activados aclimatados a fenol..... | 143 |
| 6.6.1 Ensayo experimental | 143 |
| 6.6.2 Variación de la velocidad de degradación de fenol y generación de biomasa adherida en reactores híbridos | 144 |
| 6.7. Comparación de la generación de biomasa y la capacidad de biodegradación de suero y fenol entre el reactor de barros activados y el reactor híbrido..... | 148 |
| Conclusiones del Capítulo | 149 |
| 7-CONCLUSIONES GENERALES..... | 151 |
| NOMENCLATURA..... | 156 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 160 |

Capítulo 1



INTRODUCCIÓN

1.1. Recursos Hídricos

En la tierra solamente el 2.53% del agua total corresponde a agua dulce (35 millones de km³). La mayor parte del agua dulce se encuentra en forma de hielos perennes, nieves eternas o en profundos acuíferos de aguas subterráneas de forma tal que solo un 0.57% (200000 km³) del agua dulce total está disponible para uso humano, esta cantidad representa sólo el 0.01% del agua total del planeta. El continente asiático presenta la mayor provisión de agua dulce (36%) mientras que América del Sur ocupa el segundo lugar con 26% de los recursos hídricos disponibles totales del planeta. Cerca del 70% del agua dulce extraída de lagos, ríos y napas subterráneas se emplea en la agricultura fundamentalmente para riego, lo que posibilita el suministro del 40% de los alimentos del mundo (Comisión sobre el Desarrollo Sustentable., 1997 a).

1.2. Contaminación, Saneamiento y Agua Potable: Situación mundial

Actualmente el hombre desempeña un papel importante en el ciclo hidrológico. Si se considera el incremento mundial en la demanda de agua, producto del crecimiento demográfico e industrial, puede decirse que la cantidad de agua existente para todos los usos está comenzando a escasear, lo que significa que estamos frente a una crisis del agua. Unos 80 países (40% de la población mundial) sufrían a mediados de la década de los noventa una grave escasez de agua (Comisión sobre el Desarrollo Sustentable., 1997 a) y se estima que en menos de 25 años dos terceras partes de la población mundial estará viviendo en países con estrés hídrico. La Figura 1.1 muestra las zonas de escasez tanto material como económica de agua a nivel mundial (Evaluación de la Gestión del Agua en Agricultura., 2007). Debido al aumento de la población y el impacto de nuevas costumbres, el agua potabilizable ha comenzado a escasear, y eso puede convertirse en uno de los mayores problemas de la humanidad. Si bien toda el agua del Planeta se recicla naturalmente y se vuelve a utilizar, el problema radica en que hoy el agua disponible se malgasta y se degrada. El agua dulce es un recurso limitado y su calidad está bajo presión constante. La necesidad de agua dulce crece cada año, por ejemplo el consumo se multiplicó por nueve en los últimos 100 años, mientras la población se multiplicó sólo por seis. Actualmente, las 7 mil millones de personas que habitan la tierra destinan el 70% del

agua consumible a la agricultura, el 22% a la industria y sólo el 8% para uso doméstico (Evaluación de la Gestión del Agua en Agricultura., 2007).

La situación resulta agravada si se considera la creciente contaminación de los recursos hídricos a nivel mundial. De acuerdo a un informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo (Organización Mundial de la Salud., 2003), 2 millones de toneladas de desechos son arrojados diariamente en aguas receptoras, incluyendo residuos industriales, domiciliarios y de origen agrícola, estimándose que la producción global de agua residual es de aproximadamente 1500 km³. En dicho informe se indica que el 50% de la población de países en desarrollo está expuesta a fuentes de agua contaminada.

Por diversos motivos, la disponibilidad del agua resulta problemática en muchos países, y por ello se ha convertido en una de las principales preocupaciones de gobiernos en todo el mundo. Actualmente, se estima que alrededor de mil millones de personas tienen un deficiente acceso al agua potable. Esta situación se agrava por el consumo de aguas en malas condiciones, que favorece la proliferación de enfermedades y brotes epidémicos. En la Figura 1.2 se encuentran los porcentajes de población con acceso a agua potable a nivel mundial. En muchos lugares del planeta ante la dificultad de disponer de agua potable para consumo humano, se ha consolidado un concepto intermedio, el agua segura como el agua que no contiene bacterias peligrosas, metales tóxicos disueltos, o productos químicos dañinos a la salud, y es por lo tanto considerada segura para beber, y se emplea cuando el suministro de agua potable está comprometido. Por otro lado, la falta de un adecuado tratamiento de los efluentes conduce a un deterioro de los ecosistemas acuáticos por la creciente contaminación y lleva a la proliferación de enfermedades infecciosas transmitidas por el agua.

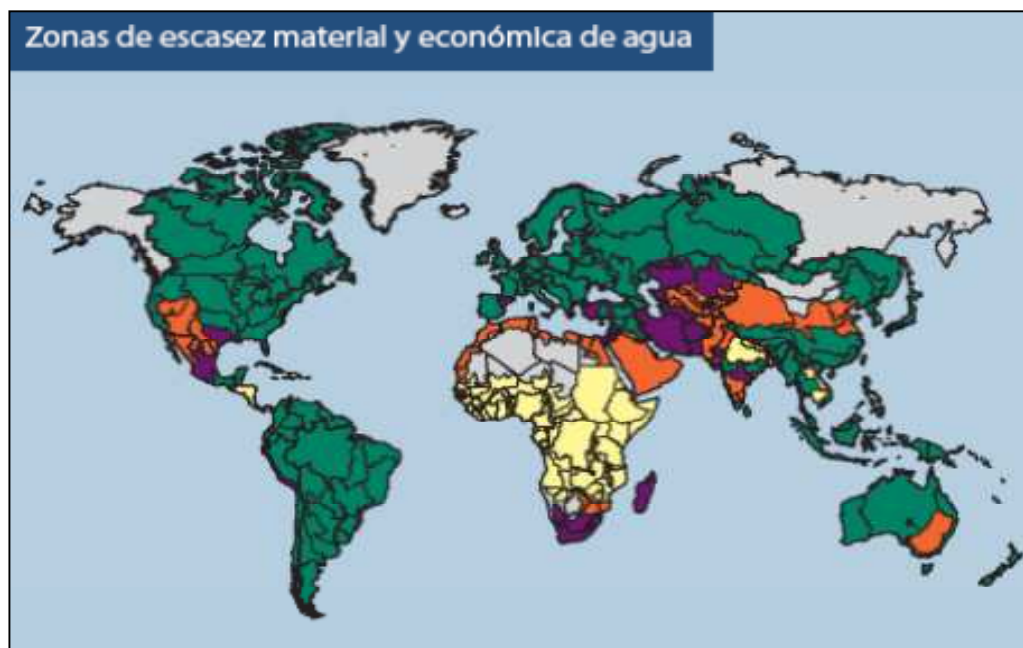


Figura 1.1. Zonas de escasez material y económica de agua a nivel mundial. Adaptado Evaluación de la Gestión del Agua en Agricultura, (2007).

Las diferentes zonas se encuentran demarcadas según:

(●) **Poca o ninguna escasez de agua:** Abundantes recursos hídricos con relación al uso, con menos del 25% del agua de los ríos extraída para uso humano.

(●) **Escasez material de agua:** la extracción de recursos hídricos se aproxima o ha excedido los límites sostenibles. Más del 75% del caudal de los ríos se extrae para la agricultura, la industria y el uso doméstico.

(●) **Proximidad a la escasez de agua:** Se extrae más del 60% del caudal de los ríos. Estas cuencas experimentarán escasez de agua material en el futuro próximo.

(●) **Escasez económica de agua:** factores humanos, institucionales y financieros limitan el acceso al agua, aunque esté disponible localmente para satisfacer las necesidades humanas. Hay abundantes recursos hídricos con relación al uso de agua, la extracción de agua de los ríos para consumo humano es inferior al 25%.

(●) **Sin estimar.**

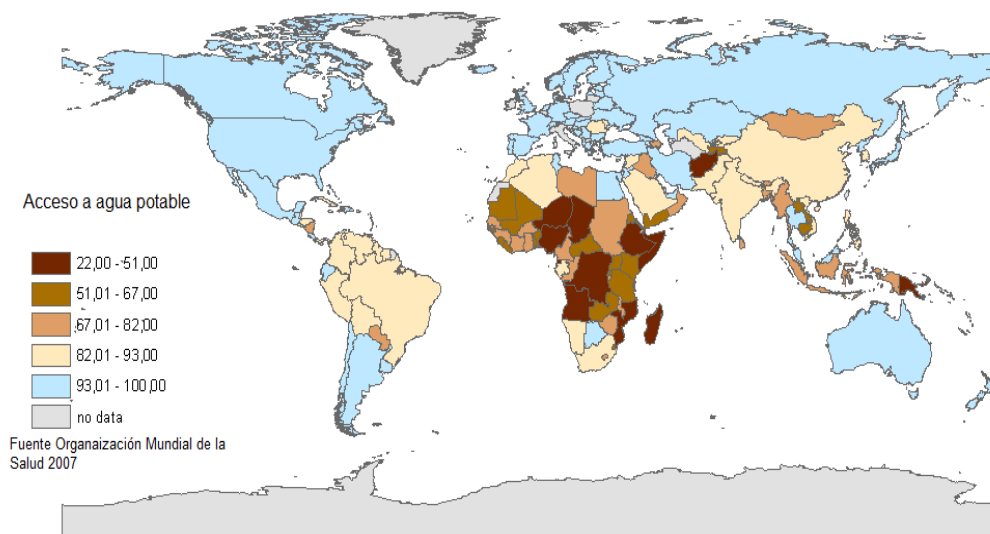


Figura 1.2. Porcentaje de población con acceso a agua potable a nivel mundial. Fuente Organización Mundial de la Salud, (2007).

En América Latina el acceso a agua y saneamiento en la actualidad es insuficiente. Además, existen grandes diferencias de cobertura tanto entre países como también dentro de muchos países. En el año 2000, un informe realizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) indicó que 2400 millones de personas en el mundo no poseen acceso a sistemas de saneamiento (Fig. 1.3). La falta de acceso al agua potable y saneamiento seguros causa cientos de millones de casos de enfermedades transmitidas por el agua y más de 5 millones de muertes por año. Se estima que solamente un 15% de las aguas residuales colectadas en América Latina son dirigidas a plantas de tratamiento, las cuales no funcionan adecuadamente en muchos casos. Si el abastecimiento de agua y saneamiento básico fueran ampliados a todas las personas carentes de estos servicios, el número de enfermedades transmitidas por el agua se reduciría alrededor de 70% (Organización Mundial de la Salud., 2003).

Se estima que más de la mitad de los principales ríos del planeta están contaminados y en situación de amenaza a la salud de las poblaciones que utilizan tales recursos (Water, 1999). En América Latina, durante los últimos 30 años, hubo un significativo deterioro en la calidad de aguas superficiales y subterráneas, siendo la agricultura y el vertido de aguas residuales urbanas e industriales no tratadas las principales fuentes de contaminación.

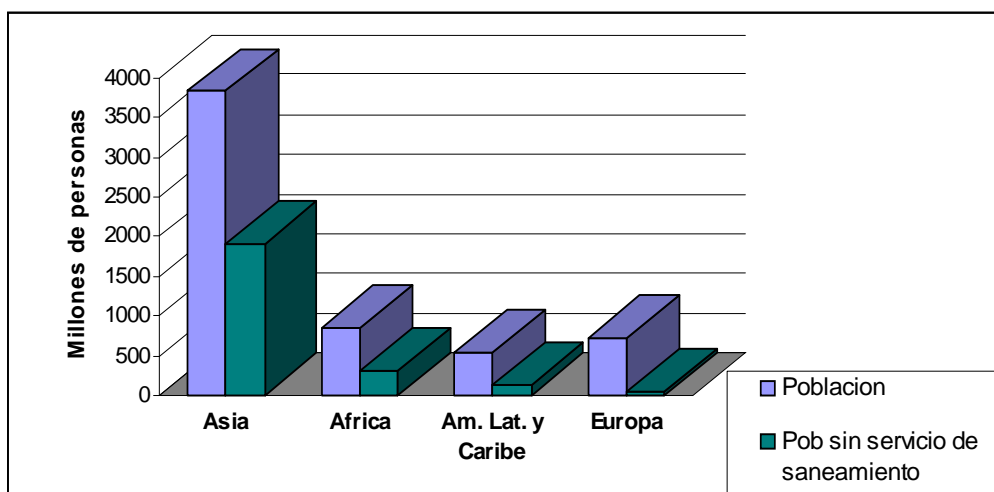






Figura 1.3. Distribución regional de población mundial que carece de servicios de saneamiento (tanques sépticos o desagües cloacales). Adaptado del Informe: Global Water Supply and Sanitation Assessment Report. (Organización Mundial de la Salud. y Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia., 2000)

1.3. Contaminación del agua

Según la Organización Mundial de la Salud, el agua se encuentra contaminada cuando se ve alterada en su composición o estado, directa o indirectamente, como consecuencia de la actividad humana, de tal modo que se reducen los usos para los cuales sería apta en su calidad natural. El 70% del agua consumible se utiliza en la agricultura, el 22% en la industria y sólo el 8% en uso doméstico. En la Tabla 1.1 se encuentran algunos ejemplos de los litros de agua gastados en actividades industriales y cotidianas. Por ejemplo, para la producción de 1 kg de carne se consumen 15497 L. Sin embargo, otras tareas domésticas cotidianas como lavado de platos o automóviles emplean cientos de litros de agua.

Tabla 1.1. Comparación de los litros de agua consumidos en diferentes actividades.

| | Actividad | Consumo de agua (litros) |
|---|-------------------------|---------------------------------|
|  | producir 1kg de carne | 15497 |
|  | producir un pantalón | 11000 |
|  | una descarga de inodoro | 16 |
|  | un lavado de auto | 500 |
|  | una ducha de 10 minutos | 100 |
|  | un ciclo de lavarropas | 100 |
|  | un lavado de platos | 100 |

Adaptado de www.aysa.com.ar

La calidad del agua es lo que determina su uso potencial. De esta manera, si un determinado contaminante está presente o se encuentra en concentraciones superiores a un límite máximo permitido, el agua no será apta para un uso particular; sin embargo, podrá emplearse para otros propósitos para los cuales el factor o parámetro en cuestión no resulta contaminante.

Los contaminantes del agua suelen clasificarse en tres categorías:

- Químicos

-Físicos

-Biológicos

Los compuestos químicos pueden ser tanto inorgánicos como orgánicos. Dentro de los primeros pueden encontrarse sales, ácidos y bases, metales pesados, gases (H_2S , NH_3 , CO_2 , etc.), sustancias minerales no disueltas (sílice, arcillas, etc.), etc. Los compuestos químicos orgánicos incluyen hidratos de carbono, proteínas, aceites y grasas, hidrocarburos, jabones y detergentes, pesticidas, entre otros. Muchos de los compuestos químicos mencionados como contaminantes del agua son tóxicos para los seres humanos, tales como los iones de metales pesados (mercurio, arsénico, cobre, zinc, níquel, cromo, cadmio, etc.) o contaminantes orgánicos como fenoles, clorofenoles, pesticidas, bifenilos policlorados, hidrocarburos aromáticos policíclicos, etc. (Orozco Barrenetxea y col., 2002).

Entre los contaminantes físicos se incluyen:

1) Contaminación térmica por descarga de aguas con elevada temperatura provenientes de intercambiadores de calor de plantas industriales.

2) Color.

3) Turbidez generada por la presencia de sólidos en suspensión.

4) Formación de espumas debido a la presencia de detergentes.

5) Radioactividad.

La contaminación biológica se atribuye a la presencia de microorganismos (bacterias, virus, hongos y algas), de los cuales algunos pueden ser patógenos responsables de la transmisión de enfermedades en aguas de abastecimiento. Este constituye el problema de contaminación de agua más importante a nivel mundial (Botkin y Keller, 2000). Desde el punto de vista histórico, la prevención de las enfermedades originadas por el agua constituyó la razón fundamental del control de la contaminación.

Las aguas residuales, generadas como consecuencia de diversas actividades antropogénicas son, en general, grandes fuentes de contaminación si no son tratadas correctamente antes de su descarga a un cuerpo de agua receptor (mar, río, lago, etc.). De acuerdo con Ramalho (1993), se distinguen cuatro tipos fundamentales de aguas residuales:

1- Aguas Domésticas o Urbanas.

2- Aguas Residuales Industriales.

3- Escorrentías de Usos Agrícolas.

4- Pluviales.

Asimismo, deben considerarse otras fuentes de contaminación que afectan tanto a aguas superficiales como subterráneas. Entre estas últimas se encuentran derrames o fugas a partir de tanques de almacenamiento o tuberías (combustibles, químicos, etc.), filtraciones a partir de sitios de disposición de residuos domésticos, industriales y radioactivos, filtraciones de sistemas cloacales y sépticos, etc.

Para evaluar la calidad global del agua existen diferentes índices que están basados en la determinación de características físico-químicas y/o biológicas del agua. Los índices basados en características físico-químicas son valores numéricos que agrupan las magnitudes de diferentes parámetros, en su mayor parte físicos y químicos (aunque en algunos casos incluyen alguna medida microbiológica), considerados como los más importantes para definir la calidad de un agua (Orozco Barrenetxea y col., 2002). Los índices de calidad global permiten observar la evolución del estado de los ríos a lo largo de los años y a lo largo de su recorrido y evaluar las mejoras ocasionadas por la implementación de planes de saneamiento (plantas de tratamiento de efluentes domésticos e industriales) de una cuenca hidrográfica determinada. Los parámetros más importantes que determinan la calidad global o ecológica de aguas superficiales son: Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO), Demanda Química de Oxígeno (DQO), conductividad eléctrica, materia en suspensión, oxígeno disuelto, pH, fosfatos totales, nitratos y coliformes totales.

La Demanda Bioquímica de Oxígeno corresponde a la cantidad de oxígeno requerido para la oxidación bioquímica aerobia de la materia orgánica biodegradable presente en el agua. Cuando la degradación aerobia es tan completa como sea posible, el oxígeno disuelto (OD) consumido corresponde a la DBO total o final (DBO_t) que se alcanza luego de varias semanas. Sin embargo, las condiciones normalmente aceptadas para la determinación de dicho parámetro corresponden a una incubación de 5 días a 20°C (período en el que se descompone alrededor del 60-70% de la materia orgánica biodegradable), obteniéndose así la DBO_5 . Por otra parte, la Demanda Química de Oxígeno corresponde a la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la fracción orgánica de una muestra de agua susceptible a la oxidación por dicromato en medio ácido. En este caso, la mayoría de los compuestos orgánicos biodegradables o inertes (no biodegradables) son oxidados completamente.

1.4. Efectos de la contaminación del agua sobre el ambiente y la salud

Todos los cuerpos de agua presentan la capacidad para degradar desechos orgánicos (procedentes de fuentes naturales, escorrentías de suelos agrícolas o efluentes domésticos e industriales) por actividad aerobia bacteriana. No obstante, cuando la carga de tales desechos sobrepasa la capacidad natural de autodepuración de los sistemas acuáticos receptores, se produce una disminución apreciable del oxígeno disuelto debido a su utilización para oxidación biológica de la materia orgánica, pudiendo afectar a diferentes especies sensibles a bajas concentraciones de oxígeno disuelto. La demanda bioquímica de oxígeno (DBO) disminuye gradualmente aguas abajo en la medida que la materia orgánica descargada va oxidándose progresivamente hasta alcanzar un valor aproximado a los 2 mg/L, indicativo de agua no contaminada (Ramalho, 1993). La DBO y el OD están relacionadas de tal forma que la concentración de oxígeno disuelto es baja donde la DBO es alta y viceversa.

Los pesticidas, herbicidas y metales pesados procedentes de actividades agrícolas e industriales pueden causar daño ecológico en sistemas acuáticos superficiales, contaminar cuerpos de agua subterránea y afectar la salud de las poblaciones que se abastecen de tales fuentes de agua. Por otra parte, el nitrógeno y el fósforo presentes en aguas residuales aceleran el proceso de eutrofización de cuerpos de agua receptores, fenómeno caracterizado por una alta productividad de algas y sedimentación. La proliferación de algas verde-azuladas hace que el agua presente un color verdoso y malos olores, asociado muchas veces, a la producción de toxinas que afectan la fauna ictícola y el ganado (Ramalho, 1993).

En síntesis, la descarga de aguas residuales industriales, cloacales y pluviales produce una degradación de la calidad de los ecosistemas acuáticos receptores que comprende alteraciones en sus propiedades físico-químicas y cambios en la comunidad biológica, afectando a su vez a la población por efectos directos en la salud, por el encarecimiento del tratamiento de potabilización del agua o por el deterioro de las áreas de esparcimiento. En este sentido, el tratamiento de aguas residuales tiene como objetivo remover o convertir los contaminantes a una forma inocua, preservando de esta manera la calidad del agua de los cuerpos receptores. Por tal motivo, resulta muy importante que los sistemas de tratamiento de efluentes operen en forma adecuada, protegiendo en última instancia los ecosistemas acuáticos y la salud del hombre.

1.5. Situación en Argentina

1.5.1. Recursos hídricos disponibles

En Argentina, los recursos hídricos superficiales cuentan con un caudal medio de 26000 m³/seg con una calidad globalmente buena. Sin embargo, el 83% del total corresponden a la cuenca del Plata (34% del territorio y 22000 m³/seg), en tanto que las cuencas de áreas áridas y semiáridas disponen de menos del 1% del total de los recursos hídricos superficiales (11% del territorio y 223 m³/seg). El agua extraída se emplea básicamente para uso domiciliario, agrícola e industrial. Las áreas urbanas y rurales de regiones áridas y semiáridas se abastecen total o parcialmente con agua subterránea, la cual es también empleada en la industria y riego de tales regiones. No obstante, su uso presenta limitaciones pues en una vasta zona del centro y norte del país, los acuíferos suelen contener arsénico, vanadio y flúor como condición natural, altos contenidos de nitratos por contaminación y presentan problemas de salinización por sobreexplotación (Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria., 1997).

1.5.2 Cobertura de agua potable y alcantarillado

Debido a la importancia de la escasez del agua en el mundo se ha declarado en la Cumbre del Milenio de la Organización de Naciones Unidas (ONU) que es necesario, “Garantizar la sostenibilidad del medio ambiente” lo que incluye “reducir a la mitad, para el 2015, la proporción de personas sin acceso al agua potable y a servicios básicos de saneamiento”. Según el Censo del 2001, la información acerca del abastecimiento de agua en Argentina indicaba que el 80% empleaba la red pública como fuente principal de agua para beber y cocinar, 17% agua de perforaciones o pozos, mientras que un 3% tenían como fuente principal de agua para beber y cocinar la colecta de agua de lluvia, carro-cisternas, ríos, canales o arroyos. Los detalles se muestran en la Tabla 1.2.

Según el Informe País del Consejo Nacional de Coordinación de Políticas Sociales de la Presidencia de la Nación, la cobertura de agua potable en 2011 fue del 80% y el acceso a desagües cloacales fue de 62%. Según este mismo informe, las metas propuestas para 2015 incluyen incrementar la cobertura de agua potable a un 90% y el acceso a desagües cloacales a 65%. Debe considerarse que en áreas urbanas el agua potable se suministra a través de las redes de distribución o se obtiene a partir de

perforaciones domiciliarias, mientras que en áreas rurales la cobertura de agua potable por red es del 30% y la cobertura de desagües cloacales por red alcanza sólo el 1%.

Tabla 1.2. Acceso al agua en la Argentina. Hogares con servicio sanitario en vivienda, según provisión y procedencia del agua para beber y cocinar en el total del país.

| | Por cañería dentro de la vivienda | Fuera de la vivienda pero dentro del terreno | Fuera del terreno | Total |
|------------------------------|-----------------------------------|--|-------------------|-------------|
| Red pública (agua corriente) | 72.4% | 6.5% | 1.2% | 80.1% |
| Perforación | 9.1% | 3.2% | 0.6% | 12.8% |
| Pozo | 1.7% | 1.9% | 0.6% | 4.3% |
| Agua de lluvia | 0.4% | 0.5% | 0.2% | 1.1% |
| Transporte por cisterna | 0.4% | 0.2% | 0.3% | 0.9% |
| Río, canal, arroyo | 0.1% | 0.3% | 0.4% | 0.8% |
| Total | 84.1% | 12.5% | 3.4% | 100% |

Fuente Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INDEC), Argentina Censo 2001

En lo referente al saneamiento, los sistemas de recolección de las aguas residuales son insuficientes para manejar el creciente flujo a medida que un número cada vez mayor de hogares se conecta a los sistemas de alcantarillado, lo que provoca frecuentes desbordes. Alrededor de 5 millones de personas dependen de tanques sépticos, cámaras u otros sistemas *in situ* que permean directamente al acuífero Epipelche, estos métodos son la principal causa de contaminación del acuífero. Por otro lado, los lodos que se extraen de los tanques sépticos generan un riesgo ambiental adicional, debido a que son arrojados indebidamente en basurales, ríos, cloacas y alcantarillados que ya están sobrecargados. Adicionalmente, 5 millones de personas están conectadas al servicio de alcantarillado y cloacas que descargan grandes cantidades de aguas servidas sin tratar o con un tratamiento parcial en los principales cuerpos de agua del país.

1.5.3. Contaminación de las aguas subterráneas

La contaminación de las aguas subterráneas es uno de los principales problemas ambientales en nuestro país debido a que, como se mencionó anteriormente, en el Gran Buenos Aires una parte de la población utiliza agua contaminada de los acuíferos Epipelche y del Puelche (Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria., 2001). Cientos de miles de personas reciben el agua de las redes públicas locales que bombean del acuífero Puelche, el cual presenta problemas de salinización en muchas áreas como así también como niveles de nitratos que exceden los límites permisibles para el agua potable. También se ha documentado la contaminación con mercurio y cromo, posiblemente por vertido ilegal de desechos industriales en basurales que permean al agua subterránea del Área Metropolitana de Buenos Aires (AMBA).

La fuente principal de contaminación de agua subterránea corresponde a los tanques sépticos de uso doméstico (71% Gran Buenos Aires, 62% en el país) que no están conectados a la red de alcantarillado (Banco Mundial, 1994). Los efluentes industriales que se depositan en pozos lixiviantes y tanques sépticos constituyen una segunda fuente de contaminación. Tanto los tanques sépticos industriales como los domésticos permean al acuífero Epipelche.

Diferentes estudios han caracterizado los recursos hídricos subterráneos del nordeste de la Provincia de Buenos Aires en lo que respecta a parámetros hidráulicos, composición química, relación recarga-descarga, uso y extracción y contaminación (Sala, 1969; Hernández y col., 1979; Auge, 1986; Momo y col., 2000). Por ejemplo, en Lomas de Zamora se ha informado la presencia de hidrocarburos, ácidos grasos, metales pesados, plaguicidas organofosforados y carbamatos provenientes de vertidos industriales en las aguas subterráneas correspondientes a los acuíferos Epipelche y Puelche (Hernández y col., 1992). Adicionalmente, en la zona de la laguna Santa Catalina se detectaron niveles de nitratos en agua subterránea fuera del límite admisible de potabilidad para consumo humano (45 mg/L) (Custodio y Llamas, 1983). En la cuenca de los arroyos Martín y Carnaval, afluentes del Río de La Plata, el acuífero freático superficial se encuentra contaminado principalmente por metales pesados, hidrocarburos y nitratos (González y col., 1999). Por otra parte, en la ciudad de La Plata y localidades vecinas se ha detectado un elevado contenido de nitratos y salinidad. Los nitratos provienen de pozos ciegos, basurales y pérdidas de la red cloacal, alcanzando una concentración media de 77 mg/L. En las áreas de actividad ganadera de la región se detectaron en el acuífero freático

algunos valores de nitratos superiores a 200 mg/L indicando contaminación puntual, mientras que en ciertas áreas de la zona agrícola se registraron valores elevados de nitratos por el uso de fertilizantes nitrogenados (Auge y Bucich, 1995). Respecto de la calidad bacteriológica del agua subterránea utilizada para abastecimiento en zonas del Partido de La Plata y Berisso, un estudio indicó que un 65% de las muestras analizadas provenientes de la zona de La Plata y un 30% de las provenientes de Berisso resultaron no potables (Barrionuevo y col., 1997).

1.5.4. Contaminación de las aguas de superficie

El Río de La Plata es el segundo río más grande de Sudamérica. Cuenta con una superficie de 35000 km² y un caudal comprendido entre 16000 y 28000 m³/seg. El Río de La Plata recibe las aguas de los ríos Paraná y Uruguay que aportan caudales de alrededor de 16000 y 6000 m³/seg respectivamente. Su cuenca hidrográfica denominada cuenca del Plata se extiende sobre 3.1 millones de km², comprendiendo parcialmente el territorio de Argentina, Brasil, Bolivia, Paraguay y Uruguay. Dentro de la Argentina, la cuenca del Plata representa un 34% de la superficie total del país y un 83% del agua dulce de escurrimiento; sobre la misma se asienta un 70% de la población del país (Fasce, 1982). El Río de La Plata representa más del 80% de las disponibilidades de agua en Argentina. En la franja costera de la provincia de Buenos Aires desde Buenos Aires a La Plata (80 km de costa) se asienta un tercio de la población de Argentina y se concentra la mayor actividad industrial del país, generando un fuerte impacto ambiental sobre el Río de La Plata. Se ha informado la presencia de diferentes tipos de descargas directas y difusas sin previo tratamiento (efluentes cloacales, industriales, etc.) sobre éste río y sus numerosos afluentes. Esto afecta la calidad físico-química de sus aguas, comprometiendo la vida acuática y su calidad microbiológica (Serra y col., 1994).

El Río Matanza - Riachuelo constituye uno de los cuerpos de agua más contaminados por fuentes domésticas e industriales en nuestro país. La cuenca Matanza - Riachuelo comprende una superficie aproximada de 2240 km², en su extensión de 60 km atraviesa la Ciudad de Buenos Aires, 8 partidos del Gran Buenos Aires (Almirante Brown, Avellaneda, Esteban Echeverría, Ezeiza, Merlo, La Matanza, Lanús, Lomas de Zamora) y 5 partidos del resto de la provincia (General Las Heras, Marcos Paz, Presidente Perón, San Vicente, Cañuelas). En la Figura 1.4 se encuentra la evolución de la población sobre la cuenca según los censos realizados en 1991, 2001 y 2011 por el Instituto Nacional de

Estadísticas y Censos (INDEC). Actualmente se encuentran radicados en la Cuenca alrededor de 8210000 habitantes. Es un área de gran diversidad social: existen desde barrios marginales carentes de toda infraestructura, hasta sectores de alto poder adquisitivo. Las más recientes urbanizaciones ubicadas entre otros, en los partidos creados en 1993 y 1994 (Pte. Perón y Ezeiza respectivamente, siendo este último el de mayor crecimiento poblacional entre los partidos de la Cuenca), en particular los barrios menos consolidados, y la proliferación de asentamientos espontáneos en áreas no habitables (villas de emergencia) incrementan la insuficiencia de infraestructura de servicios básicos, como la provisión de agua potable y redes cloacales, lo que afecta directamente la calidad de vida y la salud humana.

Se estima que sobre la cuenca Matanza - Riachuelo se encuentran 15000 industrias, entre las cuales la industria química es la responsable de más de un tercio de la contaminación. Debido a la gran urbanización e industrialización mencionadas, la cuenca recibe grandes aportes de contaminantes, siendo una de las 10 cuencas más contaminadas del mundo (Plan de Gestión Ambiental., 1995; Malpartida, 2002; Instituto Blacksmith. y Cruz Verde Suiza., 2013). En el informe presentado por el Instituto Blacksmith y la Cruz Verde Suiza sobre los ríos más contaminados del mundo en 2013, se estableció que el 80% del agua de pozo extraída en inmediaciones de la cuenca Matanza - Riachuelo no es apta para beber debido a la contaminación (Instituto Blacksmith. y Cruz Verde Suiza., 2013). Este aspecto es muy importante dado que un 35% de la población de la cuenca carece de agua potable (Greenpeace, 2013). Además, su lecho contiene una gruesa capa de materia orgánica, microorganismos y contaminantes diversos. La visibilidad en las aguas es prácticamente nula. Los problemas de contaminación de la cuenca son de larga data, existiendo crónicas al respecto de fines del siglo XIX (Malpartida, 2002).

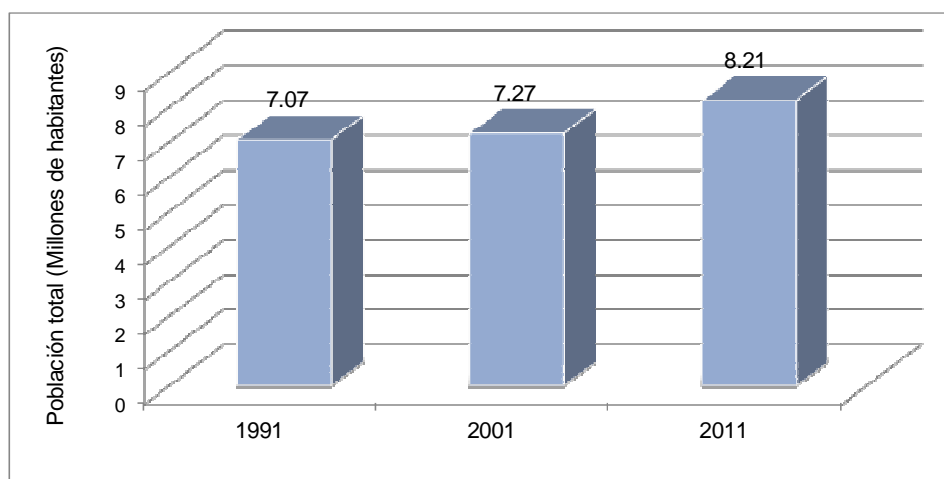


Figura 1.4. Evolución de la población total (Cuidad de Buenos y partidos de Gran Buenos Aires) sobre el área de la cuenca Matanza Riachuelo, censos 1991, 2001 y 2011. Fuente Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INDEC) actualizado julio 2012.

De los cursos de agua que desembocan en el río de La Plata, el Riachuelo es el que aporta mayor cantidad de contaminantes. Las dos principales fuentes de contaminación de la cuenca son los vertidos cloacales y los vertidos industriales. Los vertidos industriales constituyen un foco contaminante muy importante, no sólo por su peso cuantitativo, sino también cualitativo: se vierten compuestos altamente tóxicos como metales pesados (plomo, mercurio, zinc, cadmio, cobre, cromo, magnesio, níquel), hidrocarburos y sus derivados y compuestos orgánicos volátiles (Ronco y col., 2008; Instituto Blacksmith. y Cruz Verde Suiza., 2013). Los contaminantes más importantes encontrados en muestreos realizados en la cuenca son:

- Metales pesados.
- Hidrocarburos alifáticos.
- Hidrocarburos aromáticos.
- Plaguicidas.
- Bifenilos policlorados.

1.6. Aguas residuales

1.6.1. Aguas residuales domesticas

Las aguas residuales domésticas provienen de casas particulares (domiciliarias), oficinas, aguas sanitarias de pequeñas y medianas industrias (no relacionadas con el proceso de fabricación en sí), hospitales, escuelas; también incluyen aguas domiciliarias no sanitarias (agua de lluvia y napas). Este tipo de agua residual constituye una importante fuente de contaminación de los recursos hídricos de la Argentina. Esto se debe principalmente a que solo un pequeño porcentaje de las aguas residuales domésticas recibe tratamiento. Además, el porcentaje de las aguas residuales que recibe tratamiento varía en gran escala entre las provincias del país. Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), a nivel nacional, el 10% de las aguas servidas recibió tratamiento en 1999. En algunas capitales de provincias, como Mendoza, Córdoba, Tucumán, Neuquén, Jujuy, Salta y San Juan la mayor parte de las aguas residuales fue tratada, mientras que en las dos regiones urbanas más grandes del país, Buenos Aires y Rosario, el tratamiento no alcanza el promedio del país, lo que resulta en problemas graves para el medio ambiente.

1.6.2. Aguas residuales industriales

Las aguas residuales industriales son aquellas generadas durante procesos de producción y su composición varía según el tipo de industria. Las descargas de aguas residuales industriales son otra fuente de contaminación importante en Argentina. Según un informe del Ministerio de Trabajo, Empleo y Seguridad Social, en el último trimestre de 2012 la Argentina contaba con un total de 641616 empresas (Fig. 1.5). El caudal y la composición de las aguas residuales industriales depende principalmente de tres factores: tipo y tamaño de la industria, grado de reutilización del agua y la presencia de un sistema de tratamiento. Las industrias con escasos procesos húmedos consumen $7.5-28 \text{ m}^3/(\text{ha d})$. En las industrias que no poseen programas de reutilización de agua se estima que el 85 – 95% del agua de operaciones y procesos es convertida en agua residual. Si bien el porcentaje de industrias solo representa el 10% del total de empresas, el sector de industrias dedicadas al procesamiento de alimentos es uno de los mayores productores de aguas residuales seguido por la industria textil. Por otra parte se debe tener en cuenta que

en muchos procesos industriales se generan aguas residuales con un elevado contenido de compuestos recalcitrantes con efectos adversos sobre el medio ambiente y la salud.

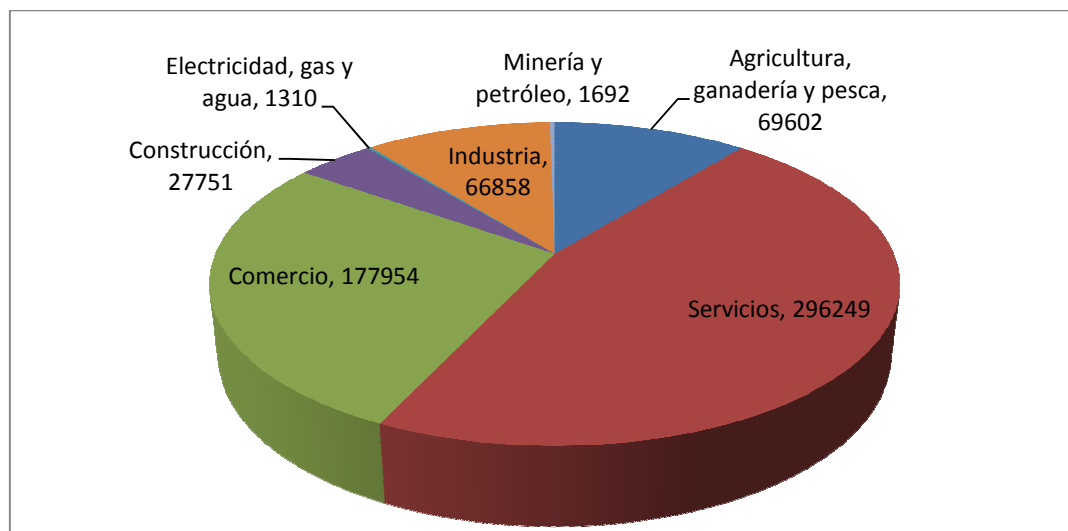


Figura 1.5. Cantidad de empresas por sector en el último trimestre de 2012 en Argentina.

1.7. Efluentes líquidos industriales

La contaminación de recursos hídricos es un problema estrechamente relacionado a aguas residuales industriales. En Argentina el crecimiento de la actividad industrial y la falta de previsión sobre la construcción de plantas de tratamiento de efluentes, incrementó los problemas relacionados con los efluentes generados. Comúnmente, es posible que una industria pueda descargar sus efluentes directamente en la planta de tratamiento municipal. De este modo, el tratamiento conjunto de la industria y aguas residuales municipales pueden ser una opción económica y ambientalmente beneficiosa para la industria. Si bien la planta municipal puede depurar una parte importante de los residuos industriales, las sustancias tóxicas como cianuros, fenoles y metales pesados, no pueden ser removidos mediante estos sistemas e incluso pueden perjudicar el proceso de tratamiento.

En la Tabla 1.3 se encuentra la distribución de industrias en los diferentes partidos que atraviesa la cuenca Matanza - Riachuelo en el año 2007. Según determinó la Autoridad de la cuenca Matanza - Riachuelo la cuenca recibe 2000000 m³/día de efluentes líquidos industriales (Autoridad de Cuenca Matanza-Riachuelo., 2007). Como puede

observarse, las industrias que generan efluentes líquidos con contenido de compuestos tóxicos son variadas, dentro de la cuenca se encuentran industrias petroleras, químicas y de galvanoplastia. Debido a su elevada toxicidad, son de principal interés aquellas industrias que contienen compuestos aromáticos en sus efluentes líquidos. En la Tabla 1.4 se indica el origen y los principales efectos sobre la salud de los contaminantes más frecuentemente hallados en aguas y sedimentos de la cuenca Matanza - Riachuelo. Muchos de estos contaminantes son tóxicos aún en bajas concentraciones, y algunos tienen la capacidad de bioacumularse (Informe de la Auditoria General de la Nación, 1995-2005). Algunos de los contaminantes que más afectan el medio ambiente son los compuestos aromáticos. Estos están considerados como uno de los grupos peligroso debido a su baja biodegradabilidad y su elevada toxicidad a bajas concentraciones.

Tabla 1.3. Distribución de industrias por partidos de la cuenca Matanza-Riachuelo

| Industria | Partido | | | | | | | | | | | Total |
|----------------|------------|------------|----------|-----------------|-----------------|--------|------------|-------|-----------|-----------------|-------|-------|
| | Alm. Brown | Avellaneda | Cañuelas | Capital Federal | Est. Echeverría | Ezeiza | La Matanza | Lanús | Las Heras | Lomas de Zamora | Merlo | |
| Carne | 1.9% | 3.8% | 1.9% | 46% | 6.1% | - | 22.1% | 9.4% | 1.4% | 5.6% | 1.9% | 100% |
| Cuero | - | 5.9% | - | 3.6% | 0.9% | - | 2.3% | 85.5% | - | 1.8% | - | 100% |
| Petróleo | - | 100% | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 100% |
| Química | 5.3% | 8.8% | 0.9% | 20.2% | 10.1% | 2.2% | 26.3% | 17.1% | - | 8.8% | 0.4% | 100% |
| Galvanoplastia | 1.8% | 6.3% | - | 30.6% | 3.6% | 0.9% | 21.6% | 25.2% | - | 9.9% | - | 100% |
| Total | 2.3% | 6.5% | 0.8% | 24% | 5.4% | 0.8% | 17.6% | 35.5% | 0.4% | 6.1% | 0.6% | 100% |

Adaptado de ACUMAR, informe C.S.J.N 9/11/2007

Tabla 1.4. Principales contaminantes hallados en agua y sedimentos de la Cuenca Matanza-Riachuelo.

| Tipo de compuesto hallado | Posible origen |
|--|---|
| Diclorobencenos | Industria química, insecticidas, desengrasantes empleados en industrias automotriz y metalúrgica |
| Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos | Combustión incompleta de carbón, petróleo, madera, gas, basura y otras sustancias orgánicas, efluentes industriales, insecticida. |
| Hidroxitolueno butilado | Industria química, industria petroquímica, uso en alimentos. |
| PCBs (Bifenilos Policlorados) | Grandes transformadores y capacitores, fluidos hidráulicos, aceites lubricantes, pinturas, tintas de impresión. |
| Esteres de ftalato | Plastificantes en productos de PVC, solventes de tintas, repelente de insectos, aditivo en cemento. |
| Beta-Hexaclorociclohexano | Insecticida |
| Arsénico | Fundiciones, elaboración de plaguicidas agrícolas, industria química, industria farmacéutica. |
| Cadmio | Fertilizantes, industrias de tratamiento de superficies, disposición final de baterías, colorantes. |
| Cobre | Fundiciones, enchapados, fertilizantes, funguicidas. |
| Cromo | Industria metalúrgica, industria química, curtiembres, acabado de metales, centrales de energía eléctrica, entre otras. |
| Mercurio | Industria química, minería de oro, bactericidas, industria farmacéutica. |
| Níquel | Producción de acero, industria plástica, baterías y acumuladores. |
| Plomo | Fundiciones, procesamiento de metales, emisiones de automotores, colorantes. |
| Zinc | Galvanoplastías fundiciones, minería, industria química. |

1.7.1. Contaminación con compuestos fenólicos

Dentro de los compuestos aromáticos presentes en efluentes líquidos industriales, los compuestos fenólicos son considerados como contaminantes prioritarios por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA). Debido al gran uso del fenol y sus derivados en muchas industrias, tanto en Argentina como en el resto del mundo los compuestos fenólicos están muy extendidos en el ambiente. Varias industrias, tales como las plantas de procesamiento de petróleo, refinerías, hornos de coque, y farmacéuticas generan grandes cantidades de aguas residuales con compuestos fenólicos (Lepik y Tenno, 2011; Pramparo, y col, 2012).

Los compuestos fenólicos y sus derivados son considerados como potenciales carcinogénicos o letales en concentraciones entre 5 y 25 mg/L. Debido a los efectos adversos que generan en la salud, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha establecido como límite de concentración de fenol en agua para beber de 1 µg/L (Organización Mundial de la Salud., 1994; WHO, 1994). Por su parte, en los Emiratos Árabes Unidos se estableció un límite de descarga de fenoles en agua superficial de 0.1 mg/L (Al Zarooni y Elshorbagy, 2006).

En nuestro país la Autoridad de la Cuenca Matanza Riachuelo (ACUMAR) es el ente interjurisdiccional de derecho público creado por la Ley nacional 26168 adherido por las Legislaturas de la Provincia de Buenos Aires y de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires que tiene a su cargo la ejecución del Plan Integral de Saneamiento ambiental de la cuenca del Río Matanza-Riachuelo. La ACUMAR elabora anualmente un informe sobre la calidad de agua superficial y subterránea de la cuenca. ACUMAR ha fijado como límite mínimo de descarga de fenoles en agua superficial, conducto cloacal y absorción en suelo de 0.5, 0.5 y 0.1 mg/L respectivamente (artículo 5, ley 26164). Por otro lado la autoridad del agua en la provincia de Buenos Aires ha fijado 1 µg/L como límite de descarga de fenoles totales en agua superficial dulce, mediante la resolución ADA N° 335. En el informe presentado por la ACUMAR en diciembre de 2012 se observó que la concentración de fenoles en la cuenca principal se encuentra fuera de este límite establecido de vuelco permitido por la autoridad del agua (Fig. 1.6).

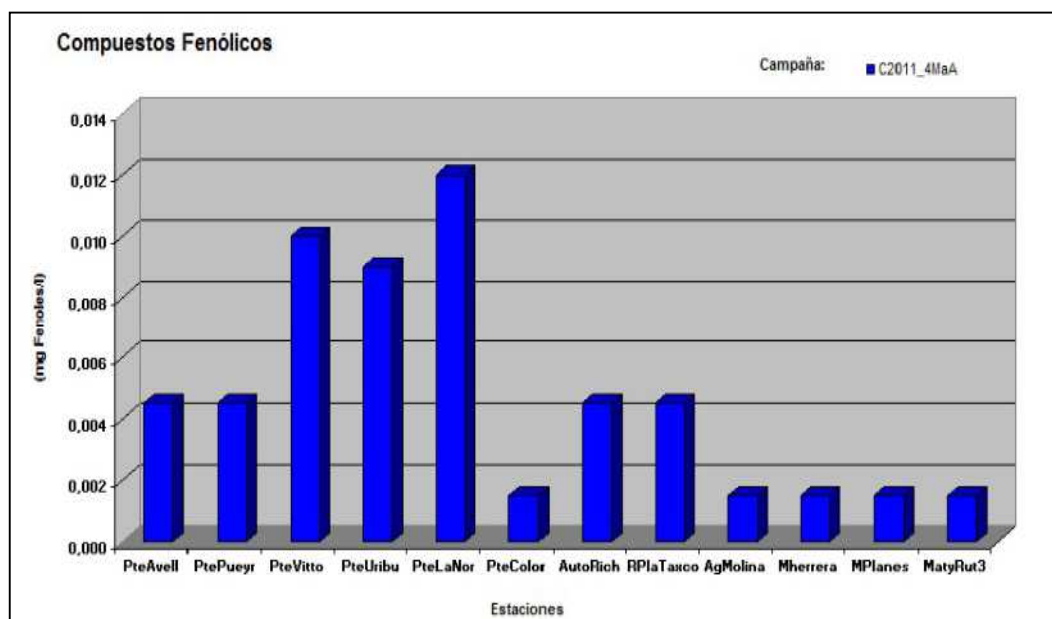


Figura 1.6. Concentración de Fenoles totales en el tramo principal de la Cuenca Matanza-Riachuelo. Adaptado de www.acumar.com.ar.

1.7.1.1. Efectos del fenol sobre la salud

El fenol es rápidamente absorbido por vía oral, cutánea o por inhalación, produciendo graves quemaduras en la piel y en los ojos. La vía de ingreso al metabolismo es oral o por inhalación, junto con la conjugación de sulfatos y ácido glucurónico. Los metabolitos primarios oxidativos pueden incluir hidroquinona y catecol, mientras que los metabolitos secundarios pueden incluir benzoquinona y trihidroxibenceno. El fenol se distribuye ampliamente en el cuerpo, principalmente en pulmón, hígado, y riñón. La eliminación de fenol del cuerpo es rápida a través de la orina, principalmente como conjugados con sulfatos y glucurónico. El fenol no suele acumularse significativamente en el cuerpo (Agencia de Protección Ambiental, 2000). Si bien no existen evidencias significativas del efecto tóxico de fenol sobre la reproducción; se ha informado una reducción del peso fetal (Instituto de Investigaciones Médicas EEUU., 1999) Respecto a los efectos neurológicos, se han informado temblores relacionados con elevadas exposiciones a fenol por vía oral (Mosera y col., 1995) o por inhalación (Dalin y Kristofferson, 1974).

Existe poca información acerca de la exposición de la población general al fenol. Por ejemplo, existen datos sobre personas expuestas a fenol a través de la inhalación de aire en áreas fuertemente industrializadas o exposición relacionada con el consumo

frecuente de alimentos ahumados con alto contenido de fenol. En estos casos, se han determinado dosis tóxicas de fenol de 4 mg y 2 mg por día, para inhalación y consumo de alimentos ahumados, respectivamente (Michałowicz y Duda, 2007). Además, se ha estimado que se liberan 0.3-0.4 mg de fenol por la combustión de un cigarrillo. Por otra parte, la exposición al fenol también puede ocurrir de forma accidental. Un caso de estudio se focalizó en trabajadores que bebieron agua contaminada con fenol con una exposición de 10 a 240 mg de fenol por persona. Los síntomas presentados fueron un significativo aumento de la tasa de diarreas, presencia de llagas, orina oscura y dolor ardiente en la boca (Delfino y Dube, 1976).

La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA) de Estados Unidos ha establecido un límite ocupacional de exposición de 5 partes de fenol por cada millón de partes de aire (5 ppm) en el trabajo durante una jornada de 8 horas diarias y que la concentración no exceda 16 ppm durante un período de 15 minutos

1.7.1.2. Efecto del fenol sobre el ambiente

La toxicidad del fenol ha sido ampliamente estudiada en microorganismos (bacterias, hongos, protozoarios, y algas) y en numerosos vertebrados e invertebrados acuáticos. Se ha demostrado que la mayoría de los compuestos fenólicos en muy bajas concentraciones afectan principalmente el sistema nervioso y circulatorio de peces y mariscos (Guerra, 2001). La Organización Mundial de la Salud enunció los efectos tóxicos del fenol en organismos superiores de agua dulce, los cuales incluyen: daño del epitelio de las branquias, hígado, riñones e intestinos. En invertebrados se observó principalmente inhibición del crecimiento; los valores mínimos de concentración letal (LC50) para crustáceos y peces se encuentran dentro del rango de 3 a 7 mg/L.

1.7.1.3. Tratamiento de aguas residuales conteniendo fenol

Considerando que el fenol está presente en una amplia variedad de efluentes y presenta una elevada toxicidad para la biota acuática, el estudio de su degradación posee un interés creciente. Las metodologías convencionales para el tratamiento de aguas residuales conteniendo fenol incluyen tratamientos fisicoquímicos y biológicos. Dentro de los tratamientos fisicoquímicos se destaca la oxidación química. Existen en la actualidad varios métodos de oxidación: ozono, ozono con UV, ozono con peróxido de hidrogeno, Foto Fenton y oxidación catalítica húmeda (Villaseñor y col., 2002; Suarez-Ojeda y col.,

2007). Es importante destacar que la oxidación química suele ser más costosa que otros sistemas. Por otro lado, durante el tratamiento químico de compuestos fenólicos se pueden generar productos de oxidación parcial que suelen ser más tóxicos y menos biodegradables que los compuestos originales (Santos y col., 2004; Hsu y col., 2007). Por ello, la biodegradación de fenol y otros compuesto fenólicos ha sido foco de interés en los últimos años (Wigmore y Bayly, 1974; Groseclose y Ribbons, 1981; Kumaran y Paruchuri, 1997; Goudar y col., 2000).

El metabolismo de fenol ha sido ampliamente estudiado en microorganismos procariontes; existe una extensa información acerca de la capacidad de biodegradar fenol por diferentes especies de bacterias. Se ha investigado la biodegradación de fenol por especies de *Pseudomonas*, por ejemplo en *Pseudomonas putida* se ha demostrado capacidad para tolerar elevadas concentraciones de fenol (8.5mM) y derivados sustituidos como clorofenoles (Hinteregger y col., 1992; Kwon y Yeom, 2009). Luego de numerosos años de investigación sobre biodegradación de compuestos aromáticos se han descrito varias especies de bacterias degradadoras de fenol tales como *Bacillus stearothermophilus* (Buswell, 1975), *Alcaligenes* cepa TW1 (Essam y col., 2010), *Rhodococcus opacus* (Matera y col., 2010), etc.

Si bien los cultivos microbianos puros son de gran utilidad a la hora de investigar en el laboratorio los mecanismos involucrados en el proceso de remoción de fenol, a escala industrial estos presentan grandes desventajas relacionadas con la necesidad de trabajar en condiciones de esterilidad. En este sentido la utilización de cultivos mixtos como los barros activados parece ser una tecnología viable y prometedora.

1.7.1.4. Mecanismos de biodegradación de fenol

Aunque el fenol es un compuesto tóxico para muchos microorganismos, también puede resultar una fuente de carbono y energía para bacterias o consorcios microbianos que se han adaptado o aclimatado a su presencia. Por lo tanto, a pesar de la toxicidad intrínseca del fenol, los procesos biológicos pueden ser usados para eliminar el fenol y sus derivados presentes en aguas residuales.

Para poder emplear fenol como fuente de carbono y energía, los microorganismos deben clivar el anillo aromático. En condiciones aeróbicas, el anillo aromático es oxidado mediante dos oxigenasas que actúan en forma secuencial. En el primer paso de oxidación de fenol, la enzima fenol hidrolasa utiliza oxígeno molecular para añadir un grupo hidroxilo

al anillo de fenol en posición orto. La reacción requiere de nucleótidos de piridina reducidos (NADH). La molécula de catecol resultante (1,2-dihidroxibenceno) puede ser luego degradada por dos vías alternativas, dependiendo del microorganismo (Fig. 1.7). En la vía orto, la enzima catecol 1,2-dioxigenasa escinde el anillo aromático entre los dos hidroxilos para dar cis-cis-muconato, el cual se metaboliza posteriormente a través del ciclo de Krebs (Harwood y Parales, 1996). En la vía meta, la ruptura del anillo ocurre adyacente a los grupo hidroxilos mediante la enzima catecol 2,3-dioxigenasa (Bayly y Barbour, 1984). Esta enzima transforma el catecol en ácido 2-hidroximucónico. Este compuesto también se metaboliza a través del ciclo de Krebs. Es importante destacar que tanto la enzima catecol 1,2-dioxigenasa como la catecol 2,3-dioxigenasa han sido encontradas en microorganismos que comúnmente se hallan presentes en los sistemas biológicos de tratamiento de aguas residuales, como por ejemplo *Brevibacterium fuscum* (Nakagawa y Takeda, 1962), *Trichosporon cutaneum* (Neujahr y Gaal, 1975) y en varias especies de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas* (Kirchner y col., 2003; Bitton, 2005).

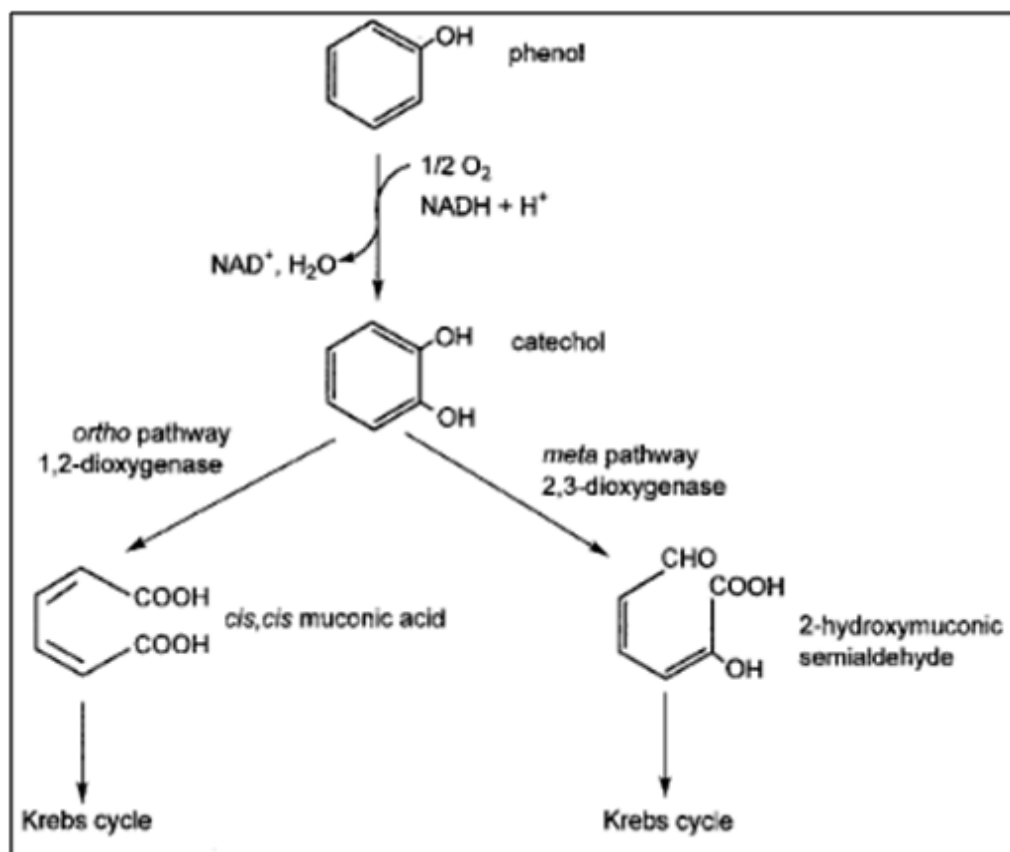


Figura 1.7. Esquema general de la biodegradación aerobia de fenol. Tomado de (van Schie y Young, 2000).

1.7.2. Agua residual de industria láctea

Debido a que Argentina es el décimo productor de leche a nivel mundial y el sexto país exportador de productos lácteos, este sector industrial es un importante generador de efluentes líquidos. A diferencia de las aguas residuales con compuestos fenólicos, el principal problema de las aguas residuales del sector lácteo no está asociado a su toxicidad, sino al gran volumen generado. En 2011 la producción lechera fue de 11206 millones de litros (Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca., 2011). En el año 2006 existían alrededor de 12500 establecimientos lecheros, los cuales produjeron alrededor de 10161 millones de litros de leche cruda. En la actualidad, el 52% de la producción de leche se destina a quesos, el 31% a leche en polvo, el 9% a manteca y un 8% a otros productos lácteos (Mancuso y Teran, 2012).

Los efluentes provenientes de la industria láctea constituyen una fuente importante de contaminación orgánica de aguas superficiales, dichos efluentes poseen diferentes características de acuerdo al producto final obtenido (yogur, leche, queso, manteca helados, etc.) y las condiciones de operación, clima y tipos de limpieza. Entre los parámetros clave para la caracterización de estas aguas residuales se encuentran la demanda bioquímica y la demanda química de oxígeno (DBO y DQO). El índice de biodegradabilidad (DBO_5/DQO) se encuentra entre 0.4 a 0.8. El elevado contenido de materia orgánica se debe principalmente a hidratos de carbono (lactosa) y proteínas (caseína). El suero de queso es un efluente rico en nutrientes, contiene alrededor de 91-94% de agua además de lactosa, proteínas solubles, minerales, ácido láctico y grasas (Prazeres y col., 2012). En la Figura 1.8 se encuentran los principales componentes del suero de queso. Las aguas residuales se generan durante la limpieza de tanques, pasteurizadores, bachas de cuajado, limpieza de superficies y servicios del personal. El volumen de agua residual vertida por la industria lechera se estima en 1-2 litros por litro de leche procesada. En la Tabla 1.5 se indican los caudales de producción de leche diarios, el caudal de suero de queso vertido y el equivalente de contaminación en número de habitantes.

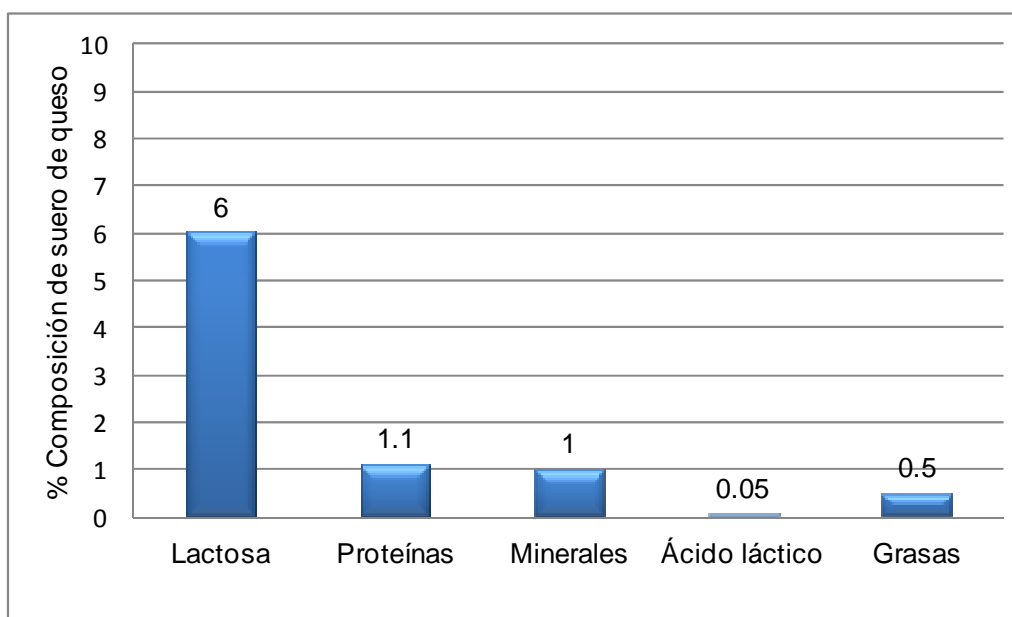


Figura 1.8. Composición del efluente de suero de queso. Sobre cada barra se indica el porcentaje promedio de cada componente; el porcentaje de agua es de 92%. Fuente: Instituto de Tecnología Industrial.

Tabla 1.5. Características del vertido de suero de queso por producción de leche.

| Producción (L de leche/d) | Caudal de suero (L/d) | Carga (kgDBO/d) | Equivalente en Población (N° de habitantes) |
|------------------------------|--------------------------|--------------------|---|
| 5000 | 4000 | 140 | 2333 |
| 10000 | 8000 | 280 | 4666 |
| 50000 | 40000 | 1400 | 23330 |

Fuente: Instituto Nacional de Tecnología Industrial

1.7.2.1. Tratamiento de aguas residuales de industria láctea

En el pasado las aguas residuales de industria láctea se descargaban directamente a cuerpos de agua (ríos, lagunas) sin un tratamiento previo. Otra alternativa consistía en la descarga de las aguas residuales a la red de alcantarillado municipal y el posterior tratamiento en plantas de tratamiento biológico municipales. Sin embargo, incluso los efluentes diluidos pueden afectar la eficiencia y la estabilidad de los microorganismos en la planta de tratamiento (Gannoun y col., 2008). Por ello, el tratamiento de aguas residuales

de la industria láctea se ha convertido en un reto importante para las pequeñas y medianas empresas que deben ajustarse a las normas de vuelco vigentes.

La mayoría de los estudios de tratamiento de aguas residuales de industria láctea se han llevado a cabo por biodegradación tanto en condiciones aerobias como anaerobias (Fang, 1991; Gutiérrez y col., 1991; Frigon y col., 2009; Rivas y col., 2010; Saminathan y col., 2013). En general, los procesos biológicos son muy efectivos en la remoción de los compuestos orgánicos, llegando a remover hasta el 90% de la DQO (Janczukowicz y col., 2008). Bajo condiciones aerobias la biodegradación de proteínas genera aminoácidos y amonio, los cuales son utilizados como fuente de carbono y nitrógeno por los microorganismos presentes en los barros activados. Sin embargo, ciertas proteínas presentes en la leche, tales como la caseína, son resistentes a la biodegradación y por esto se requieren microorganismos que hayan sido previamente adaptados. En condiciones anaerobias la lactosa presente en aguas residuales es biodegradada a ácido propiónico y etanol, mientras que en condiciones aerobias la biodegradación de lactosa requiere la adición de fuentes de fósforo y nitrógeno.

La mayoría de los tratamientos biológicos se llevan a cabo con tiempos de residencia hidráulicos (θ_H) elevados de hasta 8 días. Sin embargo, se puede reducir θ_H por medio de la combinación de fases de degradación aerobia-anaerobia o la aplicación de pretratamientos como procesos de coagulación-floculación (Rivas y col., 2010) o precipitación alcalina (Rivas y col., 2011). En comparación con otros sistemas biológicos como lagunas aireadas o lagunas de estabilización, el sistema de barros activados posee la ventaja de una elevada eficiencia de remoción, instalación en espacios reducidos, las cuales se consiguen gracias a una elevada concentración de microorganismos en el reactor. Estas características lo constituyen como una opción viable y eficiente en el tratamiento de aguas residuales de industria láctea.

1.8. Sistema tradicional de barros activados

El sistema de barros activados o lodos activados es un proceso ampliamente utilizado en el tratamiento secundario de efluentes. El sistema típico de barros activados se compone fundamentalmente de un tanque de aireación (reactor biológico) y un sedimentador secundario. El tanque de aireación provee el ambiente para la remoción y transformación de contaminantes particulados y solubles por intermedio de un consorcio mixto y variable de micro y macroorganismos, denominado barros activados. El

sedimentador secundario provee un ambiente estático que permite la separación por floculación y sedimentación de la biomasa generada en el tanque de aireación.

El crecimiento floculante de los microorganismos presentes en los barros activados es una de las características más importantes del proceso, ya que permite una rápida, eficiente y económica forma de separar los barros del agua residual ya tratada (Winkler M., 1996). Los flóculos de barros activados presentan dos niveles de estructura, denominados microestructura y macroestructura (Sezgin y col., 1978). La microestructura es impartida por procesos de adhesión, agregación y floculación microbiana. Estos mecanismos que intervienen en la formación de flóculos dependen de la capacidad de ciertos microorganismos, denominados floculantes, de formar grandes agregados. El mecanismo de biofloculación en barros activados resulta de la interacción entre polímeros microbianos extracelulares que funcionan como polielectrolitos. Estos polímeros, que han sido denominados glicocalix por Costerton y col.,(1981) forman una envoltura alrededor de células individuales o grupos de células y están representados por diferentes tipos de polisacáridos y glicoproteínas. Por otro lado, la macroestructura de los flóculos es determinada por microorganismos filamentosos, los cuales forman una red o esqueleto dentro de los flóculos sobre el cual las bacterias floculantes se adhieren (Sezgin y col., 1978). Estos microorganismos filamentosos son responsables del gran tamaño de los flóculos puesto que la red que ellos forman provee a los mismos de la fuerza suficiente para evitar su desagregación bajo la turbulencia imperante en el tanque de aireación.

Si bien los barros activados pueden ser separados en dos grupos microbianos según el papel que desempeñen en la formación de la estructura de los flóculos (floculantes y filamentosos), la comunidad microbiana está constituida por poblaciones de diferentes géneros y especies de bacterias, hongos, algas, protozoos y metazoos con diversas y complejas interacciones. Muchos de los géneros bacterianos mencionados previamente con la capacidad de biodegradar fenol pueden ser encontrados como componentes de los barros activados. En la Figura 1.9 se muestra una micrografía de un flóculo de barros activados típico.

La composición de un barro activado depende, entre otros factores, de los sustratos disponibles para el crecimiento. Por lo tanto, los consorcios microbianos que proliferan en los sistemas de tratamiento de aguas residuales conteniendo fenoles deben estar enriquecidos en microorganismos que contengan las enzimas capaces de clivar el anillo aromático. La mayoría de los estudios de degradación de fenol y compuestos relacionados se han realizado sobre consorcios microbianos que han sido aclimatados previamente a

los compuestos en estudio (Rozich y Gaudy, 1985; Buitron y Gonzalez, 1996; Antizar-Ladislao y Galil, 2004). Sin embargo, hasta el momento existe muy poca información sobre la dinámica y el grado de adaptación alcanzado según la estrategia empleada para la aclimatación del consorcio microbiano al fenol.

Por otro lado, diversos autores sugieren que la aclimatación de un consorcio microbiano puede verse afectada por la ausencia del sustrato (hambre) (Moreno-Andrade y col., 2009) o durante períodos de alimentación con otros sustratos (Chong y col., 2008). Es importante considerar que los procesos industriales generan aguas residuales las cuales poseen una amplia variabilidad en su composición. Como se mencionó previamente, diversos factores, tales como lavado de reactores, descartes de producción, cambios de procesos y otros, determinan que normalmente existan grandes variaciones tanto en la composición de las aguas residuales como en la concentración de sustancias tóxicas o inhibitoras. Por esta razón, aunque para el dimensionamiento de sistemas de tratamiento biológico usualmente se asume estado estacionario, los sistemas reales operan en condiciones altamente dinámicas. Estas alteraciones tienen un efecto importante sobre la actividad de los barros activados y por lo tanto, en el desempeño del sistema de tratamiento (Babcock y col., 1992; Coello Oviedo y col., 2003; Chong y Chen, 2007). Por ello, es importante determinar el efecto de variaciones en la en la composición y concentración de sustratos sobre los barros activados.



Figura 1.9. Flóculo de barros activados típico (X400).

1.9. Reactores híbridos

En los sistemas de tratamiento biológico de aguas residuales urbanas e industriales, la biomasa puede desarrollarse suspendida en el reactor, como por ejemplo en el sistema de barros activados, o estar adherida a un material de soporte, como en los lechos percoladores o en discos rotatorios. Por otro lado, los sistemas de tratamiento en lechos fluidizados con materiales de soporte porosos han sido utilizados para la eliminación simultánea de carbono y nitrógeno (Yang y col., 1997; Xing y col., 2000; Falletti y Conte, 2007) y para la remoción de sustancias tóxicas como por ejemplo nitrobenzeno (Majumder y Gupta, 2003). Finalmente, existen sistemas híbridos de tratamiento de aguas residuales, los cuales contienen tanto biomasa suspendida como biomasa fija a un soporte.

En los reactores biológicos híbridos los soportes se mantienen constantemente en suspensión, ya sea mediante un mezclador o un sistema de aireación. El patrón de aireación se diseña para proporcionar un movimiento ascendente de los soportes; los reactores pueden tener forma rectangular o cilíndrica, pero el diseño siempre debe favorecer el ascenso vertical de los soportes. Además, se utiliza normalmente un tamaño de burbuja gruesa para generar un mayor mezclado. El objetivo del empleo de un reactor biológico híbrido es aumentar la concentración de biomasa y por lo tanto, incrementar la eficiencia del tratamiento sin aumentar el volumen del reactor (Jianlong y col., 2000).

La selección del soporte para la adhesión de los barros activados constituye un factor importante para asegurar el adecuado funcionamiento del sistema. Existen en la actualidad diferentes tipos de soportes que se encuentran disponibles comercialmente en Europa, como por ejemplo: Captor®, Limpor® y Kaldnes®. En particular, el soporte Kaldnes K1 está fabricado en polietileno con una densidad de 0.95 g/cm^3 lo cual le permite mantenerse fácilmente en suspensión; además, proporcionan una superficie efectiva elevada ($500 \text{ m}^2/\text{m}^3$) para el desarrollo de la biomasa adherida. Estos soportes poseen una forma cilíndrica con aletas longitudinales finas y una cruz en el centro para maximizar el área disponible. En la Figura 1.10 se encuentra una fotografía de un reactor híbrido y soportes K1 con biomasa adherida. La biomasa adherida forma una biopelícula que crece sobre el material de soporte. Esta biopelícula está constituida por células y productos celulares que conforman una estructura compleja y definida (Gavrilescu y Macoveanu, 2000). La formación de una biopelícula le confiere a los microorganismos que la componen una mayor capacidad de resistir eficazmente condiciones adversas en comparación con los microorganismos en suspensión. Esto constituye una ventaja para la degradación de

compuestos tóxicos tales como hidrocarburos aromáticos volátiles, solventes clorados, fenoles y aromáticos clorados.



Figura 1.10 Planta de tratamiento con soportes K1 (izquierda), biomasa adherida sobre soportes K1 (derecha).

El concepto de reactores híbridos se implementó en Europa a partir de 1990. Este tipo de reactores se han utilizado para el tratamiento de aguas residuales de la industria de queso (Rusten y col., 1996), papeleras (Rusten y col., 1994), refinerías y frigoríficos (Johnson y col., 2000) y farmacéuticas (Falås y col., 2012). Además, se han utilizado en el tratamiento de aguas residuales municipales (Rusten y col., 1995). Actualmente, los reactores biológicos híbridos se utilizan en más de 400 plantas de tratamiento a escala real en 22 países del mundo (Rusten y col., 2006). En Argentina se utiliza este sistema en la planta de tratamiento de aguas residuales de alimentos enlatados en la provincia de San Juan perteneciente a la empresa Arcor Frutos de Cuyo.

A pesar del empleo de reactores híbridos a escala real, aún existe poca información sobre la actividad de la biomasa adherida y suspendida frente para el tratamiento de aguas residuales con compuestos fenólicos. Por otra parte, como se describió previamente la actividad de los microorganismos en los sistemas de tratamiento biológico varía tanto por las condiciones de operación del reactor como por la composición del agua residual. Estos aspectos constituyen un enfoque interesante para el estudio del tratamiento biológico de aguas residuales industriales.

1.10. Objetivos del trabajo de Tesis

1.10.1 Objetivo general

En el presente trabajo de Tesis se propone reducir problemas de contaminación ambiental a través del desarrollo y optimización de procesos biológicos de tratamiento de aguas residuales industriales que contienen suero de queso (como modelo de agua residual de industria láctea) y compuestos fenólicos (como modelo de aguas residuales industriales con compuestos tóxicos).

El sistema a analizar es complejo debido a que intervienen diversos componentes tales como concentración del sustrato a degradar y de la biomasa, diferentes fuentes de carbono y la utilización de reactores híbridos. Por esta razón se generan diferentes interacciones que deben ser analizadas tanto individualmente como en forma combinada. Por lo tanto, la realización de los ensayos y su análisis fueron agrupados considerando la influencia de los siguientes componentes:

- Generación de biomasa aclimatada a fenol.
- Influencia de los cambios de sustrato en el reactor sobre la biodegradación de fenol.
- Biodegradación de otros compuestos fenólicos por barros activados aclimatados a fenol.
- Influencia del tiempo de residencia celular sobre la generación de biomasa en el sistema de barros activados convencional y en reactores híbridos.
- Desarrollo de reactores híbridos para tratar aguas residuales.

1.10.2 Objetivos particulares

- Optimizar el tratamiento biológico de aguas residuales industriales conteniendo suero de queso y compuestos fenólicos como modelo de sustancia tóxica.
- Analizar la influencia de diversos factores tales como concentración de fenol, presencia de otra fuente de carbono no tóxica (suero de queso), grado de aclimatación de la biomasa, cambios de fuentes de carbono, toxicidad de diversos compuestos fenólicos y tiempo de residencia celular sobre la actividad de barros activados.

- Evaluar y comparar la efectividad de reactores biológicos híbridos con relación al sistema tradicional (barros activados) en el tratamiento de aguas residuales industriales conteniendo suero de queso y fenol.

1.11. Estructura general del trabajo de Tesis

A continuación se detallan los contenidos principales de los diferentes Capítulos que fueron desarrollados para cumplir con los objetivos propuestos.

En el Capítulo 2 se exponen los Materiales y Métodos utilizados en la realización del presente trabajo de Tesis.

En los Capítulos 3, 4 y 5 se analiza la remoción de fenol, compuestos fenólicos y suero de queso en reactores de barros activados.

En el Capítulo 3 se analiza la capacidad de los barros activados no adaptados a degradar fenol para su utilización en la detoxificación de aguas residuales conteniendo fenol. Por otro lado, se estudia el efecto de la concentración inicial de fenol sobre la biodegradación de diferentes concentraciones de fenol y se analizan estrategias de aclimatación de los barros activados a diferentes concentraciones de fenol. Finalmente, se estudia la velocidad de degradación y la actividad respiratoria asociada al consumo de suero de queso y fenol, frente a variaciones en la alimentación del reactor.

En el Capítulo 4 se analiza la relación entre la degradación de fenol y el perfil respirométrico obtenido. Asimismo, se plantea la determinación de los errores en las determinaciones de velocidad de respiración exógena y oxígeno consumido durante ensayos de respirometría abierta.

El Capítulo 5 se ha dedicado al estudio de la oxidación de compuestos fenólicos por barros aclimatados a fenol. Se estudia la estequiometría y la estabilidad de la capacidad de biodegradación de compuestos fenólicos por barros activados aclimatados a fenol. Se analiza el efecto tóxico en forma individual y conjunta de fenol combinado con otros compuestos fenólicos.

En el Capítulo 6 se evalúa la dinámica de la biomasa en el sistema de barros activados alimentados con suero de queso y fenol. Por otro lado, se estudia la efectividad de reactores biológicos híbridos con relación al sistema tradicional (barros activados) en el tratamiento de aguas residuales.

Finalmente, el Capítulo 7 contiene las conclusiones generales del presente estudio.



**MATERIALES Y MÉTODOS
GENERALES**

2.1. Generación de barros activados

Los barros activados utilizados en el presente trabajo de Tesis fueron generados en reactores biológicos aerobios semicontinuos en escala laboratorio, cada reactor estaba constituido por un tanque de aireación de 3 L de volumen con 2.5 L de volumen utilizable (Fig. 2.1).



Figura 2.1. Fotografía de los reactores de barros activados utilizados en este trabajo de Tesis.

Los reactores fueron alimentados con un medio de cultivo modelo de efluente de industria láctea con la siguiente composición (Orozco y col., 2008): suero de queso deshidratado 1000 mg/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 940 mg/L, K_2HPO_4 500 mg/L y KH_2PO_4 250 mg/L. La Demanda Química de Oxígeno (DQO) inicial del medio era de 1000 mgDQO/L; el pH se ajustaba a 8.00 ± 0.05 mediante el agregado de gotas de una solución de NaOH o H_2SO_4 (1M) según fuera necesario. El suero de queso deshidratado empleado en este trabajo fue suministrado por la empresa Food SA, Argentina. La Tabla 2.1 muestra las características del suero de queso deshidratado empleado.

Tabla 2.1. Características del suero de queso deshidratado utilizado en el presente trabajo de Tesis.

| | |
|---|--|
| Aspecto | Polvo fino, blanco amarillento, de aroma agradable |
| pH | 6.5 ± 1 en solución al 10% |
| Acidez | Expresada en ácido láctico, no superior a 0.20 %. |
| Humedad | 5.0 % |
| Lípidos totales | mínimo 3.0 % |
| Proteínas totales | mínimo 12.0 % |
| Lactosa | mínimo 20.0 % |
| Cenizas (500-550 °C) | máximo 5.0 % |
| Recuento de: | |
| Bacterias mesófilas aerobias | 100 UFC/dgr |
| Bacterias coliformes 30 °C | 1 UFC/dgr |
| Levaduras | 5 UFC/dgr |
| Hongos | 5 UFC/dgr |
| Bacterias coliformes 45 °C | Negativo en 1 gr |
| <i>Staphylococcus</i> Coagulasa Positivo | Negativo en 3 gr |
| <i>Salmonella</i> | Negativo en 25 gr |

Fuente Food SA.

2.2. Aclimatación de barros activados a fenol

En los ensayos de generación de barros activados aclimatados a fenol se utilizaron los reactores descritos en la sesión 2.1. Los barros activados generados en suero de queso fueron aclimatados a fenol empleando un medio de cultivo modelo de agua residual industrial con fenol como única fuente de carbono y energía (Nuhoglu y Yalcin, 2005). El medio de cultivo estaba compuesto por (NH₄)₂SO₄ 226 mg/L, MgSO₄·7H₂O 25 mg/L, MnSO₄·H₂O 2.5 mg/L, FeCl₃ 2 mg/L, CaCl₂·2H₂O 2 mg/L, KH₂PO₄ 250 mg/L, K₂HPO₄ 500 mg/L. La concentración inicial de fenol en el reactor se ajustó según los ensayos realizados agregando volúmenes apropiados de una solución un stock de fenol de 50 g/L.

2.3. Operación del reactor de barros activados

En la Figura 2.2 se muestra un ejemplo de la variación de concentración de biomasa (X) y sustrato (S , suero de queso o fenol) en función del tiempo (t) durante un ciclo de operación del reactor semicontinuo. Cada ciclo de operación se iniciaba con el llenado del reactor con el modelo de agua residual a tratar. Como resultado de dicha operación, se obtenía una concentración de sustrato y biomasa al inicio de la etapa de reacción S_0 y X_0 , respectivamente. Luego, se comenzaba la etapa de reacción mediante el encendido de los aireadores, los cuales proporcionaban una correcta agitación y permitían mantener el oxígeno disuelto en valores mayores a $2 \text{ mgO}_2/\text{L}$. El tiempo de reacción (t_R) empleado para cada ciclo de operación era lo suficientemente largo como para que en algún tiempo crítico (t_C) del ciclo $S \cong 0$; además, para ese tiempo crítico X alcanzaba un cierto valor máximo (X_{max}). Posteriormente, debido a la ausencia de una fuente de carbono y energía, la concentración de biomasa descendía debido al proceso denominado metabolismo endógeno (Orhon y Artan, 1994) hasta alcanzar un cierto valor (X_F) hacia el final de la etapa de reacción. A continuación, se realizaba la purga de barros retirando un cierto volumen V_P del líquido del reactor; este volumen era variable y se ajustaba a fin de obtener diferentes tiempos de residencia celular. Como la purga se realizaba en condiciones de mezclado, la concentración de biomasa en la purga era igual a X_F . Una vez extraída la purga, se apagaba el aireador y se dejaban sedimentar los barros durante 30 minutos para separar los mismos del efluente tratado. Finalmente, se retiraba un cierto volumen (V_S) del sobrenadante, el cual correspondía al efluente del proceso de tratamiento y así, el reactor se encontraba listo para iniciar otro ciclo de operación (Fig. 2.2). Se realizaban 5 ciclos de operación por semana. De lunes a jueves los ciclos duraban 1 d; cada viernes se alimentaba el reactor y se dejaba en aireación (etapa de reacción) hasta el lunes siguiente, en este caso el ciclo tenía una duración de 3 d. La duración (promedio) de un ciclo de operación era $t_T = 7/5 \text{ d}$.

En general, los reactores tuvieron un buen desempeño para el tratamiento de los dos sistemas modelo de agua residual. Al final de cada ciclo de operación el pH del licor de mezcla del reactor fue de 7.0 ± 0.5 . La DQO soluble del efluente estuvo comprendida entre 50 y 80 mgDQO/L cuando el reactor era alimentado con suero de queso, y 10 mgDQO/L cuando se alimentaba con medio conteniendo fenol, indicando en ambos casos un buen funcionamiento del sistema de tratamiento.

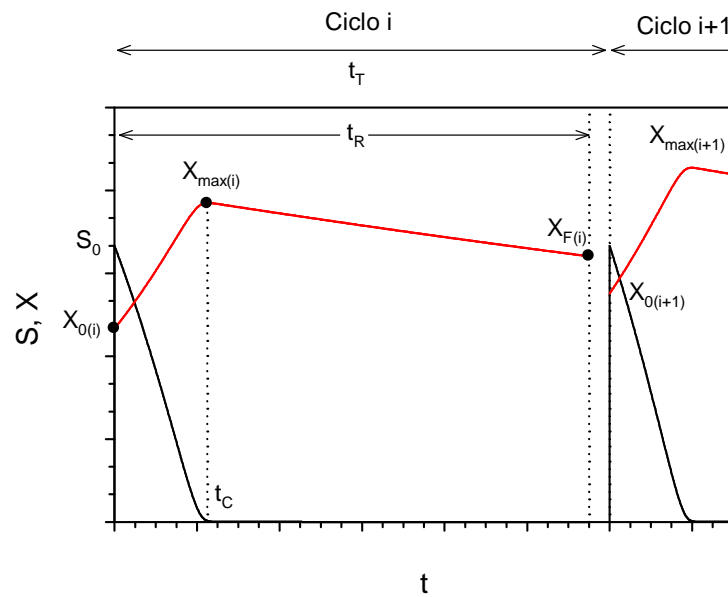


Figura 2.2. Variación de concentración de biomasa (X, líneas rojas) y sustrato (S líneas negras) en función del tiempo (t) en un reactor semicontinuo durante los ciclos de operación i e i + 1. Las líneas punteadas indican el tiempo crítico (t_C), de reacción (t_R) y total del ciclo (t_T). Los puntos representan las concentraciones de biomasa inicial ($X_{0(i)}$), máxima ($X_{max(i)}$) y final ($X_{F(i)}$) correspondientes al ciclo i de operación.

El conocimiento del caudal de agua residual a tratar (Q_{AR}), los tiempos de residencia hidráulico (θ_H) y celular (θ_C) y el caudal de purga (Q_P) es clave para el dimensionamiento y la operación de cualquier sistema de tratamiento de aguas residuales (Metcalf y Eddy, 2003). En particular, considerando que el ciclo de operación del reactor semicontinuo se iniciaba con el agregado de un volumen $V_P + V_S$ de agua residual cruda (o sea, el mismo volumen extraído del reactor durante el ciclo de operación anterior) y que la duración total de cada ciclo era t_T , el caudal tratado de agua residual (Q_{AR}) resulta

$$Q_{AR} = \frac{V_P + V_S}{t_T} \quad (2.1)$$

Además, considerando que al final de la etapa de reacción se extraía un volumen V_P con el fin de purgar la biomasa del reactor, el caudal de purga (Q_P) resulta

$$Q_P = \frac{V_P}{t_T} \quad (2.2)$$

Si V es el volumen del reactor al inicio de la etapa de reacción (volumen máximo en condiciones de operación), el tiempo de residencia hidráulico (θ_H) es

$$\theta_H = \frac{V}{Q_{AR}} = \left(\frac{V}{V_P + V_S} \right) t_T \quad (2.3)$$

Por definición, el tiempo de residencia celular (θ_C) es el cociente entre la biomasa total en el reactor y la biomasa que sale del reactor por unidad de tiempo (Orhon y Artan, 1994). Como la purga de barros se realizaba al final de la etapa de reacción, la concentración de barros en la purga era igual a X_F . Debido a que el efluente tratado no contenía cantidades significativas de biomasa, la biomasa que salía del reactor por unidad de tiempo era igual al producto $Q_P X_F$. Considerando que en ese instante la biomasa total en el reactor era el producto $V X_F$, la expresión de θ_C para el reactor semicontinuo resulta

$$\theta_C = \frac{V X_F}{Q_P X_F} = \left(\frac{V}{V_P} \right) t_T \quad (2.4)$$

En este trabajo los reactores fueron operados con un tiempo de residencia hidráulico (θ_H) de 80 h y un tiempo de residencia celular (θ_C) entre 10 y 45 días. Los volúmenes V_S y V_P fueron ajustados para obtener las condiciones de operación deseadas de acuerdo a las ecuaciones (2.3) y (2.4). Para el cálculo se consideró una duración (promedio) del ciclo de operación $t_T = 1.4$ d y un volumen de reactor $V = 2.5$ L.

2.4. Técnicas Respirométricas

La respirometría es la medición e interpretación de la velocidad de consumo de oxígeno por parte de los microorganismos (biomasa) en estudio, bajo condiciones definidas y controladas. Las medidas respirométricas están basadas en la determinación de los cambios que se producen en la velocidad de respiración de los microorganismos cuando son expuestos a un pulso de sustrato. En el presente trabajo se emplearon dos tipos de respirómetros: uno cerrado y uno abierto. El respirómetro cerrado permite determinar la velocidad de consumo de oxígeno de los microorganismos en una condición determinada. Por otra parte, el respirómetro abierto permite determinar además parámetros cinéticos y estequiométricos que caracterizan la biodegradación aeróbica de los compuestos estudiados. Si bien con la segunda técnica se obtiene mayor información, la respirometría cerrada tiene la ventaja de ser experimentalmente más sencilla debido a que consume menos volumen de barros, por

lo cual es más conveniente para investigar gran cantidad de condiciones experimentales.

2.4.1. Respirometría cerrada

El respirómetro cerrado consistió en un reactor conteniendo un electrodo de oxígeno, un aireador y agitación magnética. La Figura 2.3 muestra un esquema del respirómetro utilizado. El electrodo de oxígeno (YSI Modelo 58) fue calibrado en aire saturado en vapor de agua. Las medidas de oxígeno disuelto (OD) registradas por el electrodo fueron almacenadas en una PC con una frecuencia de 1 dato/segundo. Las muestras de barros activados (25 mL) fueron colocadas en el respirómetro y aireadas durante 2 minutos. Posteriormente se detuvo la aireación y se registró el descenso de la concentración de OD en función del tiempo (Fig. 2.4). La pendiente de la recta obtenida corresponde a la velocidad total de respiración (R_T ; $\text{mgO}_2/(\text{L h})$). La velocidad total de respiración de los microorganismos puede ser dividida en una velocidad de respiración endógena (R_{en}) y una exógena (R_{ex}). En ausencia de un sustrato externo oxidable, los microorganismos oxidan su propia biomasa con el objeto de generar energía para las funciones de mantenimiento celular, en este caso $R_T = R_{en}$. Al agregar un sustrato adecuado, los microorganismos lo oxidan observándose un aumento en la velocidad de consumo de oxígeno; en este caso $R_T = R_{en} + R_{ex}$ (Vanrolleghem y col., 1994); se determina R_{ex} como la diferencia entre R_T y R_{en} . Con el objeto de comparar experimentos con diferente concentración de biomasa, en este trabajo de Tesis los valores obtenidos de R_{en} y R_{ex} se dividieron por la concentración de biomasa presente en la muestra y se obtuvieron los valores de velocidad específica de respiración endógena (q_{en}) y exógena (q_{ex}).

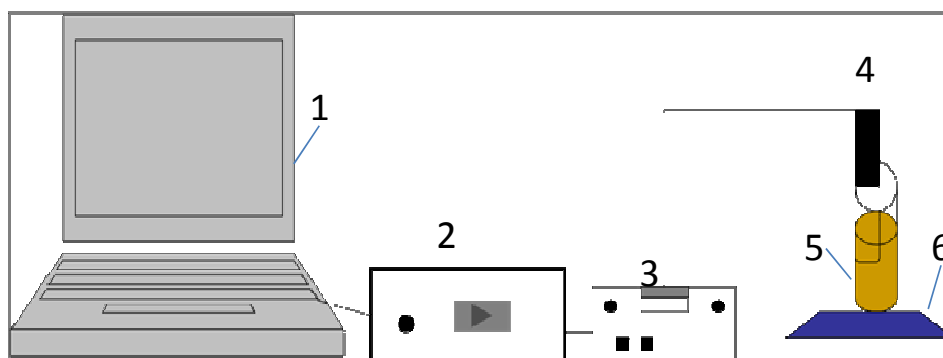


Figura 2.3. Esquema del respirómetro cerrado utilizado. 1. Computadora, 2. Adquisidor de datos, 3. Banco de medición de OD, 4. Sensor de OD, 5. Muestra de barros activados, 6. Agitador magnético.

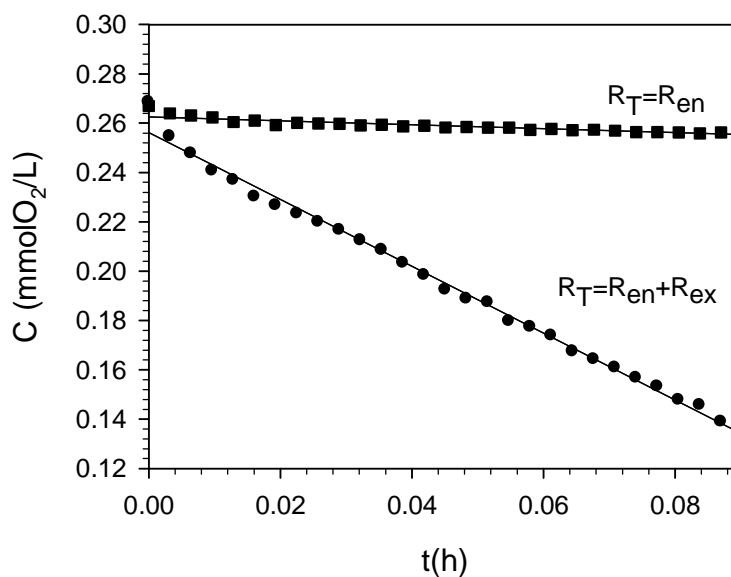


Figura 2.4. Curva típica obtenida mediante respirometría cerrada para barros activados aclimatados a 300 mgF/L. (■) sin sustrato y (●) pulso de 50 mgF/L. La línea continua corresponde a la regresión lineal de la concentración de oxígeno disuelto (C) en función del tiempo.

2.4.2. Respirometría abierta

El respirómetro abierto estuvo compuesto por un reactor cilíndrico de 500 mL de volumen, un sistema de provisión de aire (bomba y difusor), un agitador magnético (IKA, 1200 rpm, modelo RET CONTROL/T), un caudalímetro (Bruno Schilling modelo MB 60V) y un electrodo de oxígeno disuelto YSI (modelo 58) conectado a una PC que permitió la adquisición de 1 dato/segundo. La muestra se acondicionó de manera de evitar la presencia de un sustrato oxidable (carbono y/o nitrógeno) antes de iniciar las mediciones. Para el acondicionamiento de la muestra, los barros activados fueron lavados dos veces con buffer fosfato (15 mM, pH = 7) y resuspendidos en 500 mL del mismo buffer. Luego, se adicionaron 0.5 mL de soluciones de micronutrientes M1 y M2. La composición de la solución M1 fue la siguiente (g/100mL): FeSO₄·7H₂O 1.5, ZnSO₄·7H₂O 0.5, MnSO₄·H₂O 0.3, CuSO₄·5H₂O 0.075, CoCl₂·6H₂O 0.015, y ácido cítrico 0.6. La composición de M2 fue (g/100mL): (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O 0.05, BO₃H₃ 0.01, KI 0.01 (Contreras y col., 2011).

Antes de cada experimento se realizó la calibración del respirómetro. Se llenó el reactor con 500mL de barros activados acondicionados y se ajustaron el caudal de aire y la agitación. Una vez que se estabilizó la lectura de concentración de oxígeno disuelto (OD), se interrumpió la aireación y se registró el descenso de la concentración de OD en función del tiempo. El balance de materia para el OD en esta etapa es:

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C_S - C) - R_{en} \quad (2.5)$$

donde C es la concentración de OD, C_s es la concentración OD de saturación, $k_L a$ es el coeficiente de transferencia de oxígeno en las condiciones ensayadas y R_{en} la velocidad de respiración endógena. Cuando se interrumpe la aireación la concentración de OD disminuye siguiendo la ec. (2.5). Si el ingreso de oxígeno desde la superficie no es significativo, $k_L a \cong 0$ y se observa una disminución lineal de C en función del tiempo (Fig. 2.5, Etapa I). Si R_{en} es constante durante el ensayo, la expresión 2.5 se puede integrar, obteniéndose la siguiente ecuación:

$$C = C_i - R_{en} t \quad (2.6)$$

donde C_i es la concentración de OD para $t = 0$. Posteriormente, a un tiempo t_0 se enciende la aireación y se registra un aumento de la concentración de OD en el tiempo (Fig. 2.5, Etapa II). En este caso, la integración de la ecuación 2.5 resulta:

$$C = C_s - \frac{R_{en}}{k_L a} - \left(C_s - C_0 - \frac{R_{en}}{k_L a} \right) \exp^{-k_L a (t - t_0)} \quad (2.7)$$

donde $C_0 = C_i - R_{en} t_0$ es la concentración de OD cuando $t = t_0$ y $k_L a$ es el coeficiente de transferencia de oxígeno correspondiente a las condiciones de operación con el aireador encendido (Etapa II). Las ecuaciones 2.6 (para $t < t_0$) y 2.7 (para $t \geq t_0$) fueron ajustadas a los datos experimentales (C en función de t) mediante el programa Sigma Plot 10.0. Este procedimiento permitía ajustar simultáneamente ambas ecuaciones para determinar C_i , C_s , R_{en} , $k_L a$ y t_0 .

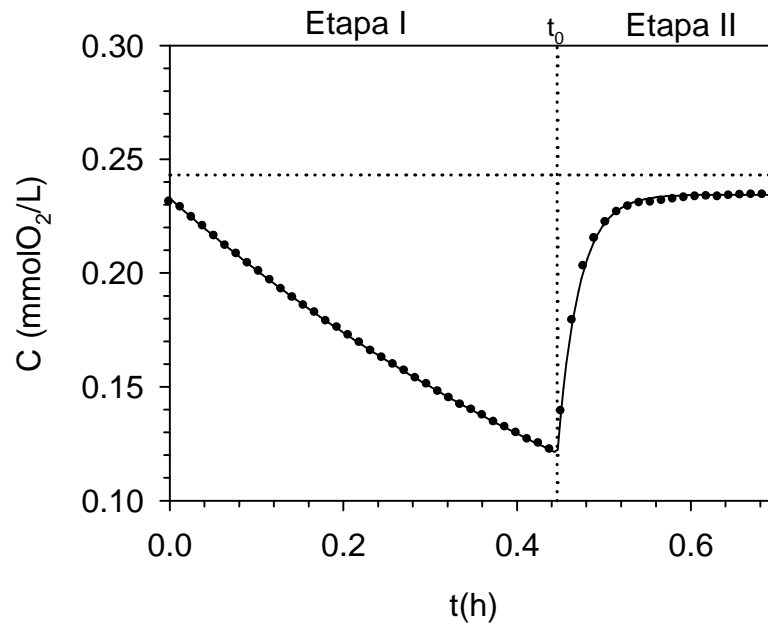


Figura 2.5. Calibración del respirómetro mediante método dinámico. (●) Datos experimentales, (-) ecs. (2.6) y (2.7). En este caso $C_i = 0.23 \text{ mmolO}_2/\text{L}$; $C_s = 0.24 \text{ mmolO}_2/\text{L}$; $R_{en} = 0.35 \text{ mmolO}_2/(\text{Lh})$; $t_0 = 0.45$, $k_L a = 40.1 \text{ 1/h}$.

Una vez realizada la calibración del respirómetro, éste se empleó para medir la variación de la velocidad de respiración (R) de los barros activados. Usualmente, las condiciones de aireación (por ejemplo, el caudal de aireación y la agitación) son constantes durante el ensayo. En cambio, la velocidad de respiración depende de la presencia de sustratos oxidables. En ausencia de sustrato, los microorganismos poseen una velocidad de respiración endógena (R_{en}) correspondiente a la oxidación de su biomasa con el objeto de generar energía para mantenimiento celular. Por otro lado, la velocidad de respiración exógena (R_{ex}) corresponde a la velocidad de respiración asociada al consumo de un sustrato externo (Contreras y col., 2008). Considerando estos procesos, el balance de oxígeno disuelto en el respirómetro resulta:

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C_s - C) - R_{en} - R_{ex} \quad (2.8)$$

donde $k_L a$ es el valor del coeficiente de transferencia de oxígeno correspondiente a las condiciones de operación con el aireador encendido y C_s es la concentración de oxígeno de saturación en las condiciones experimentales. En ausencia de sustrato oxidable $R_{ex} = 0$, entonces la concentración de OD (C) alcanza un valor constante (C_e) debido al equilibrio entre el oxígeno transferido y la velocidad de respiración endógena:

$$R_{en} = k_L a (C_S - C_e) \quad (2.9)$$

Combinando las ecuaciones (2.8) y (2.9) se obtiene la siguiente expresión para el cálculo de R_{ex} :

$$R_{ex} = k_L a (C_e - C) - \frac{dC}{dt} \quad (2.10)$$

Como puede observarse en la Figura 2.6, el agregado de un sustrato provoca un aumento en R_{ex} (Fig. 2.6.b) el cual determina un rápido descenso en la concentración de OD (Fig. 2.6.a). Asimismo, a medida que el sustrato es oxidado y se agota, el valor de R_{ex} disminuye y el OD retorna paulatinamente al valor inicial.

A partir de los respirogramas obtenidos de R_{ex} en función del tiempo, se determinó el oxígeno consumido (OC) durante la oxidación del sustrato mediante la siguiente ecuación (Orhon y Artan, 1994):

$$OC = \int_0^t R_{ex} dt \quad (2.11)$$

En la Figura 2.6b se muestra el oxígeno consumido en función del tiempo para un ejemplo de respirograma. Es importante destacar que según Marsili-Libelli y Tabani, (2002) el valor de OC corresponde a la Demanda Química de Oxígeno del sustrato evaluada a corto plazo. Así, se define el coeficiente de oxidación del sustrato ($Y_{O/S}$) como la cantidad de oxígeno que consumen los microorganismos (OC) por unidad de sustrato agregado (S_0):

$$Y_{O/S} = \frac{OC}{S_0} \quad (2.12)$$

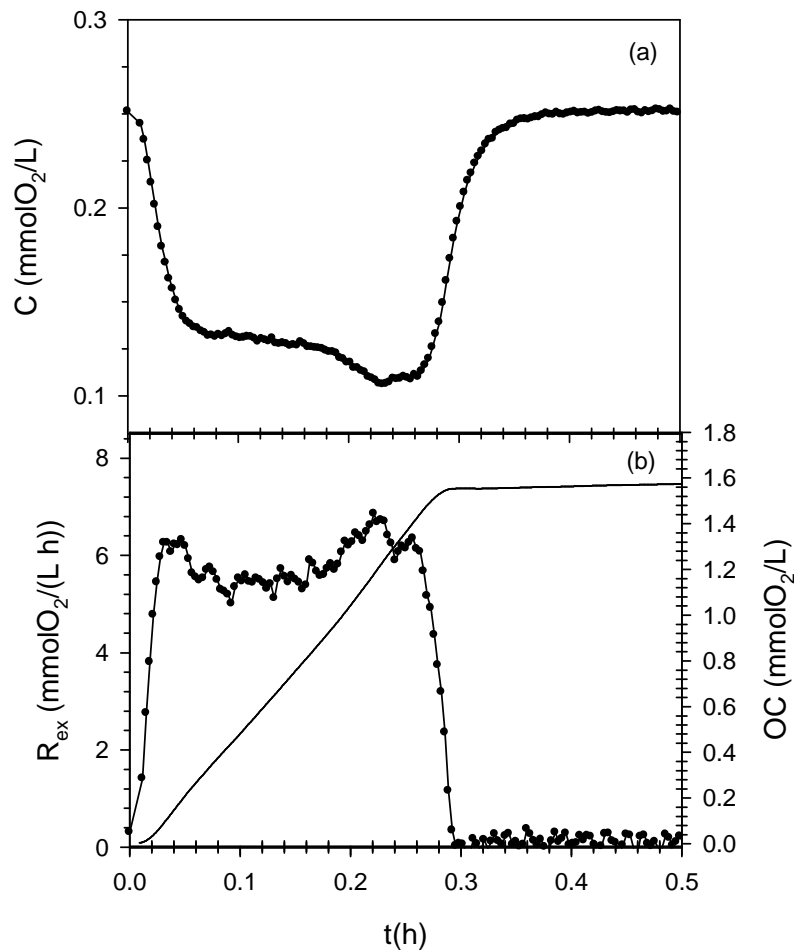


Figura 2.6. Ejemplo de un respirograma. **a.** Concentración de oxígeno disuelto (C); **b.** Velocidad de respiración exógena (R_{ex}) y oxígeno consumido (OC) en función del tiempo, $t = 0$ corresponde al agregado de un pulso de sustrato.

2.5. Métodos analíticos

2.5.1. Determinación de pH

El pH de los cultivos fue determinado con un peachímetro Hach modelo senSION PH3, la calibración del equipo se realizó periódicamente mediante el empleo de soluciones tampón de pH 4.01, 7.01 y 9.21 disponibles comercialmente (Hach).

2.5.2. Determinación de la concentración de fenol

La concentración de fenol fue medida colorimétricamente por el método 4-amino antipirina (Peter y col., 1973). En solución alcalina los compuestos fenólicos

meta, orto y algunos para sustituidos reaccionan con 4 amino-antipirina en presencia de ferricianida generando un producto rojizo, cuya absorbancia es medida a 510 nm. Para concentraciones menores a 10 mg/L de fenol la absorbancia a 510 nm se relaciona linealmente con la concentración de fenol (Fig. 2.7); la curva de calibración se determinó periódicamente utilizando soluciones de fenol de concentraciones conocidas en un rango de concentración de 1 a 8 mg/L de fenol. Para determinar fenol, se tomaron 5 mL de muestra a la cual se le adicionó 1 mL de solución de 4-amino antipirina (20.8 mM) en carbonato de sodio (0.25 M) y 1 mL de solución de ferricianida (83.4 mM) en carbonato de sodio (1 M). Transcurrido un tiempo de contacto de 10 minutos se midió la absorbancia a 510 nm con un espectrofotómetro HACH DR/2000. El blanco se preparó sustituyendo la muestra con agua destilada.

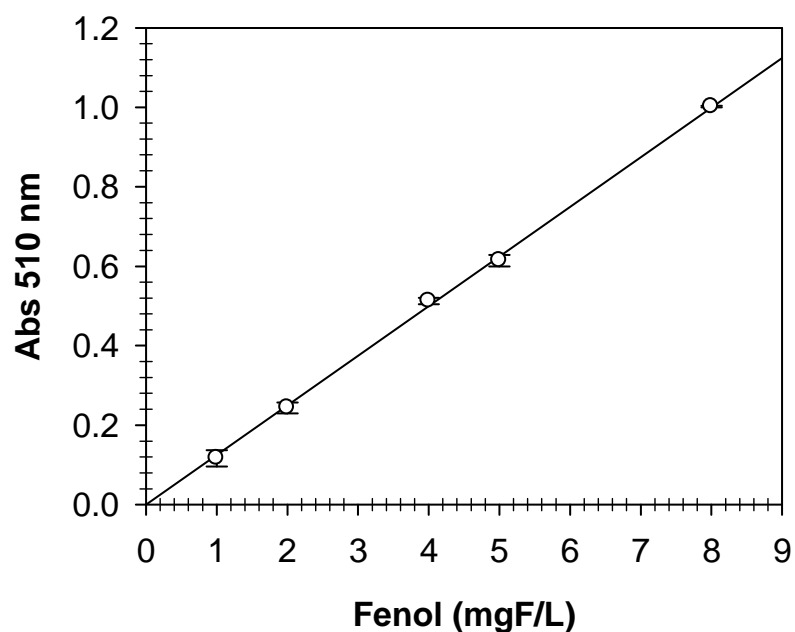
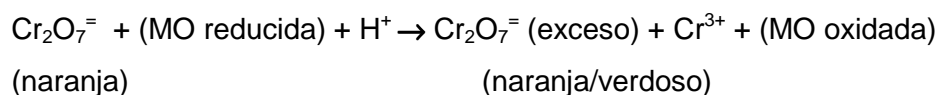


Figura 2.7. Concentración de fenol en función de la absorbancia (510 nm).

2.5.3. Demanda Química de Oxígeno (DQO)

La demanda química de oxígeno (DQO) corresponde a la cantidad de oxígeno requerido para oxidar la fracción de materia orgánica (MO) de una muestra de agua residual susceptible a la oxidación por dicromato ($\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$) en medio ácido. La mayoría de los compuestos orgánicos tanto biodegradables como inertes (no biodegradables) son oxidados completamente:



El cambio de color puede ser seguido por un método espectrofotométrico simple y es proporcional al avance de la reacción. En la determinación de la DQO los compuestos orgánicos son oxidados por el dicromato de potasio en medio sulfúrico a 150 °C durante dos horas. El ensayo se realiza en presencia de un catalizador, sulfato de plata (Ag_2SO_4), para facilitar la oxidación de los compuestos orgánicos. Así, el carbono presente en la mayoría de los compuestos se oxida completamente a CO_2 ; sin embargo, en algunos hidrocarburos aromáticos y piridinas la oxidación puede resultar parcial. La interferencia más común son los iones cloruro, ya que en las condiciones del ensayo los mismos pueden ser oxidados por el dicromato. Para minimizar esta interferencia la mezcla de reacción contiene sulfato de mercurio (HgSO_4). En las condiciones del ensayo, el amonio no puede ser oxidado y por lo tanto, no interfiere en los resultados.

Las determinaciones de la demanda química de oxígeno (DQO) se realizaron empleando un kit comercial (HACH, método 8000), el cual se encuentra aprobado por la USEPA para el análisis de aguas residuales. Las muestras que contenían microorganismos fueron centrifugadas a 13000 r.p.m. durante 10 minutos con el objeto de eliminar esta interferencia y así determinar la DQO correspondiente a los compuestos en solución (DQO soluble). El sobrenadante obtenido luego de la centrifugación se retiró cuidadosamente con micropipeta y fue adicionado a la mezcla de reacción. Se utilizó un reactor HACH para el tratamiento térmico de las muestras a 150 °C a reflujo cerrado durante dos horas. Posteriormente, los tubos conteniendo las muestras se dejaron enfriar y se determinó la absorbancia a 620 nm con un espectrofotómetro HACH DR/2000. Mediante una curva de calibración incorporada en el equipo, las lecturas de absorbancia fueron convertidas en valores de DQO.

2.5.4. Determinación de la concentración de biomasa (X)

La concentración de biomasa (X) se determinó como sólidos suspendidos totales (SST). Para ello, se realizó el siguiente procedimiento:

- 1) Un volumen (V_M , mL) determinado de muestra conteniendo biomasa fue colocado en tubos de vidrio de peso conocido (m_o , mg), luego se centrifugó y se descartó el sobrenadante.
- 2) El precipitado contenido en los tubos fue lavado con agua destilada, nuevamente centrifugado y se descartó el sobrenadante.

- 3) Los tubos conteniendo el precipitado se colocaron en estufa (105 °C) durante 24 horas con el objeto de eliminar el agua remanente. Luego de este período, los tubos se pesaron (m_1 , mg). La concentración de biomasa (X , gSST/L) se calculó mediante la siguiente expresión:

$$X = \frac{m_1 - m_0}{V_M} \quad (2.13)$$



**DEGRADACIÓN DE FENOL y
SUERO DE QUESO
MEDIANTE LA UTILIZACIÓN
DE REACTORES
BIOLÓGICOS**

3.1. Consideraciones generales

Los compuestos fenólicos están presentes en una amplia variedad de efluentes industriales, tales como los generados por petroquímicas, farmacéuticas, producción de celulosa y madera, manufactura de plaguicidas, plásticos y resinas (Lepik y Tenno, 2011). Tanto el fenol como sus derivados son compuestos tóxicos que afectan los ecosistemas acuáticos y tienden a acumularse en los cuerpos receptores de aguas residuales alterando el ecosistema (van Schie y Young, 2000). La concentración de fenoles en aguas residuales varía entre 10 a 300 mg/L, pero puede alcanzar hasta 10 g/L en aguas altamente contaminadas (Krastanov y col., 2013).

Aunque el fenol es un compuesto tóxico para muchos microorganismos, también puede resultar una fuente de carbono y energía para bacterias o consorcios microbianos que se han adaptado o aclimatado a su presencia. Por lo tanto, a pesar de la toxicidad intrínseca del fenol, los procesos biológicos pueden ser usados para eliminar fenol y sus derivados de aguas residuales. El primer paso en la biodegradación de fenol en un reactor biológico consiste en la aclimatación de la comunidad microbiana (Buitrón y Capdeville, 1995; Buitron y Gonzalez, 1996). Durante este proceso existe una selección y multiplicación de microorganismos especializados. De esta forma, la comunidad microbiana se enriquece en las bacterias que son capaces de tolerar y metabolizar los compuestos tóxicos presentes, obteniéndose así una comunidad microbiana aclimatada (Wiggins y col., 1987). Diversos autores sugieren que la aclimatación de un consorcio microbiano al fenol no es permanente (Buitrón y Moreno, 2004; Rezouga y col., 2009) y se podría perder en casos de ausencia del sustrato tóxico (períodos de hambruna) (Moreno-Andrade y col., 2009) o durante períodos de alimentación con otros sustratos (Chong y col., 2008). Si bien el efecto de períodos de hambruna ha sido objeto de estudio previamente, existe poca información sobre el efecto de períodos de alimentación con sustratos no tóxicos sobre barros activados adaptados a degradar compuestos tóxicos (Chong y col., 2008; Rezouga y col., 2009). Por ejemplo, se ha demostrado que la presencia de un sustrato tóxico (2,4-diclorofenoxiacético) luego de un período de alimentación de los barros activados con un sustrato no tóxico (sacarosa) produce una disminución en la eficiencia del tratamiento debido a la inhibición del crecimiento de la biomasa (Chong y Chen, 2007). Por lo tanto, el tratamiento biológico de aguas residuales mediante barros activados es afectado tanto por variaciones en períodos de

ausencia/presencia del tóxico como por las condiciones de alimentación. Estas variaciones pueden ser monitoreadas empleando técnicas respirométricas.

Las técnicas respirométricas se basan en la medición e interpretación de la velocidad de consumo de oxígeno por parte de los microorganismos presentes en los barros activados en condiciones definidas y controladas. En comparación con otros métodos, la respirometría es una técnica rápida y poco costosa, por esta razón ha sido aplicada en la caracterización de la biodegradación aeróbica de compuestos de carbono (Gernaey y col., 2002; Contreras y col., 2008) y nitrógeno (Chandran y Smets, 2000), en estudios de toxicidad y biodegradabilidad de aguas residuales (Caravelli y col., 2003; Hsu y col., 2004; Cokgor y col., 2008; Ferro Orozco y col., 2013), en la determinación de la demanda bioquímica de oxígeno (Spanjers y col., 1994) y parámetros cinéticos (Vanrolleghem y col., 1994; Orupöld y col., 2001; Lepik y Tenno, 2011). En particular, la respirometría puede ser empleada para monitorear los cambios que se producen en los barros activados como respuesta a variaciones en la composición del agua residual.

3.2. Objetivos

- Analizar la capacidad de los barros activados no adaptados a degradar fenol para su utilización en la detoxificación de un modelo de agua residual industrial conteniendo fenol.

- Estudiar el efecto de la concentración inicial de fenol sobre la velocidad de biodegradación de fenol.

- Evaluar diferentes estrategias de aclimatación de barros activados.

- Estudiar la velocidad de degradación de suero de queso (modelo de agua residual de industria láctea) y de fenol (modelo de agua residual industrial) en función de variaciones en la alimentación del reactor.

- Analizar la actividad respiratoria asociada al consumo de suero de queso y de fenol en barros activados en función de variaciones en la composición de la alimentación del reactor.

- Determinar los parámetros que describen la velocidad de respiración asociada a la presencia de suero de queso y de fenol en función del tipo de alimentación en el reactor (suero de queso o fenol).

3.3. Adaptación de los barros activados a fenol

3.3.1. Ensayo experimental

El ensayo fue realizado en un reactor de tipo semicontinuo descrito en el Capítulo 2 (sección 2.1) empleando barros activados alimentados con suero de queso. Los barros activados fueron centrifugados a 1000 rpm y resuspendidos en el modelo de agua residual industrial con fenol como única fuente de carbono y energía (Sección 2.2, Capítulo 2.2). Se utilizaron concentraciones de fenol 100, 300 y 800 mgF/L. Al inicio de la aclimatación, el tiempo de residencia hidráulico (θ_H) estuvo determinado por el tiempo empleado por los barros para degradar el fenol; además, el reactor se operó sin purga con el objeto de obtener una alta concentración de biomasa (Chong y Chen, 2007). Luego del primer ciclo de degradación, se continuó con una estrategia de tiempos de ciclo variables, en la cual la fase de reacción fue detenida cuando la remoción del fenol inicial era mayor a un 95%. Posteriormente, el sobrenadante fue reemplazado y se inició un nuevo ciclo de degradación (Moreno-Andrade y col., 2009). Se realizaron dos modos de aclimatación: a) aclimatación directa a tres concentraciones de fenol (100, 300 y 800 mg/L) y b) aclimatación en dos etapas. En este último caso se utilizaron barros aclimatados a 300 mg/L como inóculo para realizar la aclimatación a 800 mg/L de fenol.

En determinados ciclos de alimentación se determinó la cinética de consumo de fenol; para ello se midió su concentración en función del tiempo. Se calculó la velocidad de degradación de fenol (R_F) como la pendiente de la porción lineal de dichas curvas (Buitrón y Gonzalez, 1996; Melo y col., 2005). El valor de velocidad obtenido se dividió por la concentración de biomasa para obtener la velocidad específica de degradación de fenol (q_F):

$$q_F = \frac{R_F}{X} \quad (3.1)$$

siendo X la concentración inicial de biomasa. Los métodos analíticos utilizados para la medición de biomasa (X) y fenol (F) han sido descritos en el Capítulo 2 "Materiales y Métodos".

3.3.2. Remoción de fenol por barros activados no adaptados a degradar fenol

En la Figura 3.1 se encuentran los perfiles de degradación de fenol en función del tiempo para el primer ciclo de alimentación con diferentes concentraciones iniciales de fenol. Como puede observarse, la forma de las curvas obtenidas de concentración de fenol en función del tiempo fue aproximadamente similar. Sin embargo, los tiempos de degradación del fenol se incrementaron en función del aumento de la concentración de fenol. En las curvas se puede observar que en las primeras horas la concentración de fenol se mantuvo constante y luego, disminuyó en forma aproximadamente lineal. En la biodegradación de compuestos tóxicos como fenol, los microorganismos requieren un período de adaptación en el cual se induce la expresión de las enzimas necesarias para degradar el sustrato tóxico presente. Por ello, los perfiles de degradación de fenol en el tiempo pueden ser divididos en dos fases, un período de adaptación (en donde no se observa una variación en la concentración de fenol) y un período de degradación (en el cual se observa una marcada disminución en la concentración de fenol) (Kwon y Yeom, 2009).

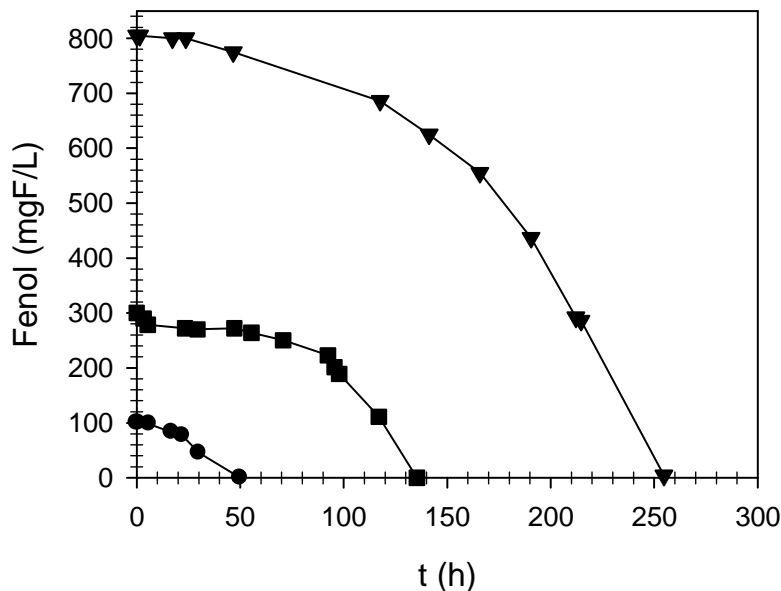


Figura 3.1. Perfil de degradación de fenol en el tiempo para el primer ciclo de alimentación con un modelo de agua residual industrial; (●) 100 mgF/L, (■) 300 mgF/L, (▼) 800 mgF/L.

Como puede observarse en la Figura 3.1, para la degradación de 100 mgF/L los barros activados presentaron un período de adaptación de aproximadamente 5 h; luego de este período la concentración de fenol disminuyó considerablemente, obteniéndose la degradación del 95% del fenol inicial en 50 h. Para concentraciones iniciales de 300 y 800 mgF/L, el período de adaptación se extendió por 45 y 47 h, y la degradación del 95% del fenol inicial se obtuvo en 137 y 255 h, respectivamente. Diversos autores informan que el periodo de adaptación depende tanto de la concentración del compuesto tóxico como de las características y concentración de los microorganismos (Hill y Robinson, 1975). Por ejemplo, el período de adaptación informado por Kwon y Yeom, (2009) para degradar 100 mg/L de fenol por un cultivo de *Pseudomonas fluorescence* KNU417 fue de 15 h, mientras que Saravanan y col., (2008) informaron solo 5 h para barros activados. En concentraciones cercanas a 300 mg/L de fenol, los valores informados por distintos autores para la extensión del período de adaptación varían considerablemente. Por ejemplo, Saravanan y col., (2008) informan un valor de 15 h para barros activados. En cambio, para mezclas de cultivos de *Alcaligenes faecalis* JH 1013 y *Micrococcus sp* el período de adaptación encontrado por Zeng y col., (2010) fue de 3 h. En el caso de concentraciones mayores de fenol (700 - 800 mg/L) los períodos de adaptación informados por otros autores son similares a los obtenidos en este trabajo de Tesis. Por ejemplo, Saravan y col., (2008) informaron que *Pseudomonas fluorescence* KNU417 necesitaba un período de adaptación de 45 h para degradar 700 mgF/L mientras que barros activados de una planta de tratamiento solo necesitaron 40 h.

Si bien existe una amplia diversidad en los tiempos de adaptación de los microorganismos, en general se puede establecer que estos períodos se incrementan en función del aumento de la concentración de fenol a la que son expuestos. Otro factor importante a tener en cuenta es la heterogeneidad en la composición microbiana de los barros activados utilizados. Esta diversidad depende, entre otros factores, de la composición del agua residual con la que se alimenta la planta de tratamiento (Moreno y Buitrón, 2004). En el presente trabajo de Tesis los barros activados utilizados para el estudio de la adaptación a fenol fueron tomados de un reactor alimentado con un modelo de agua residual de industria láctea. En la Figura 3.2 se encuentra una micrografía de los barros activados alimentados con suero de queso, los cuales fueron utilizados en los ensayos de degradación de fenol. Los barros activados empleados en el presente trabajo de Tesis estaban constituidos por diferentes especies de bacterias, hongos, protozoos y metazoos, los cuales establecen diversas interacciones como competencia, predación

parasitismo, comensalismo, mutualismo y amensalismo (Caravelli y col, 2004). Se observaron los flóculos característicos que conforman los barros activados, constituidos por microorganismos floculantes. En la Figura 3.2 se muestran flóculos compactos, densos con aspecto resistente, estos flóculos evidencian un equilibrio entre los microorganismos formadores de flóculos y los filamentosos. Estos barros activados presentaron un índice volumétrico de lodos entre 80 y 120 mL/g, con un sobrenadante poco turbio, indicando el buen funcionamiento de la planta de tratamiento.



Figura 3.2. Barros activados alimentados con suero de queso. 20x

3.3.3. Aclimatación de los barros activados a diferentes concentraciones de fenol

En la Figura 3.3 se muestran los perfiles de concentración de fenol en función del tiempo para diferentes ciclos de alimentación del reactor con 100 mgF/L; puede observarse una notoria disminución del tiempo empleado en degradar el fenol en función de los ciclos sucesivos de alimentación (Fig. 3.3). Se determinó que durante el período de aclimatación el tiempo necesario para que la remoción de fenol fuera mayor a un 95% se redujo gradualmente; mientras que en el primer ciclo el tiempo empleado fue de 50 h, en el ciclo #10 se redujo a 1.1 h.

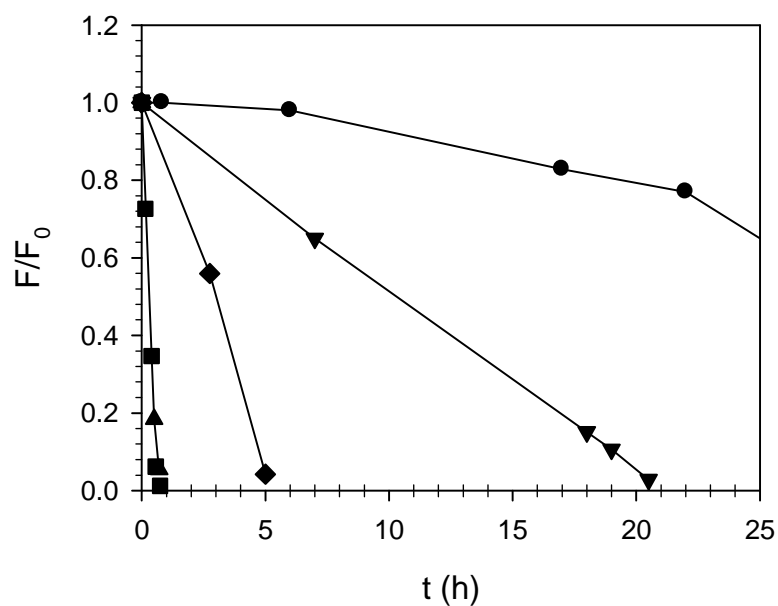


Figura 3.3. Cinética de degradación de fenol durante el proceso de aclimatación de barras activadas. La concentración inicial de fenol era 100 mg/L. (●) ciclo 1, (▼) ciclo 2, (◆) ciclo 9, (▲) ciclo 10, (■) ciclo 15.

Los valores obtenidos de la velocidad específica de degradación de fenol (q_F) en función del número de ciclos de aclimatación para 100 mgF/L se encuentran en la Figura 3.4. En el transcurso de la aclimatación el valor de q_F se incrementó gradualmente hasta alcanzar un valor constante, correspondiente a la máxima velocidad específica de degradación de fenol luego de 10 ciclos de operación del reactor. El valor promedio de q_F obtenido una vez alcanzada la aclimatación de los barras a 100 mg/L de fenol fue de 37.2 ± 1.1 mgF/(gSST h) y se mantuvo aproximadamente constante a lo largo de 20 ciclos más.

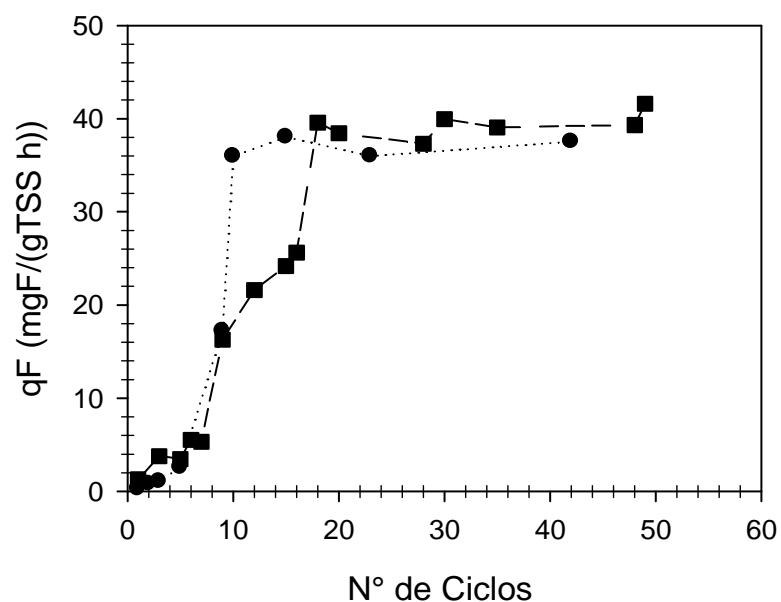


Figura 3.4. Variación de la velocidad específica de consumo de fenol (q_F) en función del número de ciclos de operación correspondientes a una alimentación con 100 mgF/L (●) y 300 mgF/L (■).

En la Figura 3.5 se presentan algunos ejemplos de la cinética de degradación de fenol para la aclimatación a 300 mgF/L. El tiempo empleado en la biodegradación del 95% del fenol inicial para el primer ciclo fue de 137 h. Sin embargo, puede observarse que a lo largo de los primeros ciclos de operación del reactor el tiempo empleado en la biodegradación de fenol se redujo significativamente. El tiempo empleado para una degradación del 95% del fenol inicial se redujo a 23 h en el ciclo #5 y disminuyó a sólo 3 h en el #18. Durante la operación del reactor el valor de q_F fue aumentando hasta estabilizarse en un valor aproximadamente constante a partir del ciclo #18 de alimentación con fenol (Fig. 3.4). El valor promedio de q_F para 300mg/L de fenol fue de 39.3 ± 1.3 mgF/(gSST h), similar al q_F obtenido para 100 mgF/L.

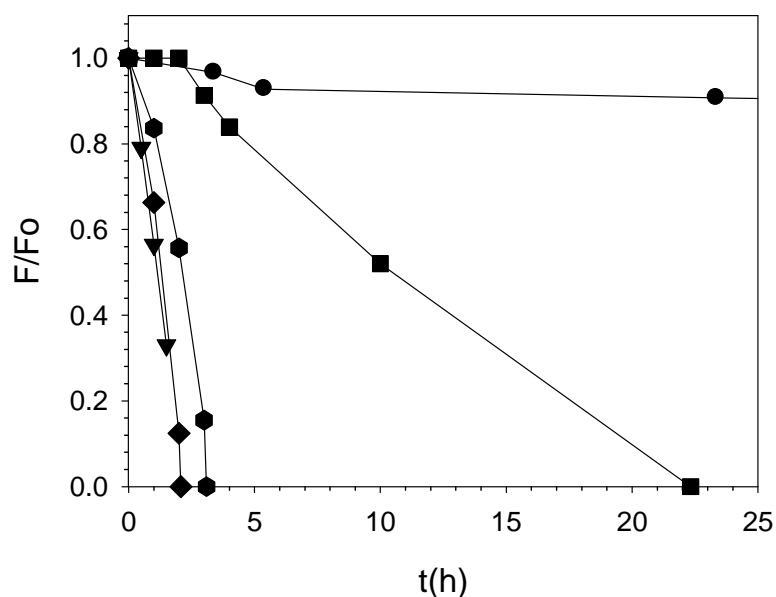


Figura 3.5. Cinética de degradación de 300 mg/L de fenol durante el proceso de aclimatación de barros activados. (●) ciclo 1, (■) ciclo 5, (●) ciclo 18, (◆) ciclo 35, (▼) ciclo 49.

En la Figura 3.6 se encuentran ejemplos de cinética de degradación de 800 mgF/L. Se observó que el tiempo empleado en la biodegradación de 800 mgF/L se redujo de 255 h en el primer ciclo a 5 h en el ciclo #23. Durante la aclimatación q_F se incrementó y a partir del ciclo #23 su valor se mantuvo constante durante los siguientes ocho ciclos (Fig. 3.7); el valor de q_F correspondiente a la aclimatación directa a 800 mgF/L fue de 13.0 ± 1.6 mgF/(gSST h), el cual resultó ser marcadamente inferior a los valores obtenidos para 100 y 300 mgF/L (Fig. 3.4). Esta disminución de q_F pudo deberse a la inhibición de los barros activados debido a la elevada concentración de fenol. Yoong y col., (2000) observaron que la degradación de fenol en concentraciones elevadas como 1300 mgF/L genera problemas de inhibición y pérdida de actividad en el consorcio microbiano. Además, la inhibición de los microorganismos a elevadas concentraciones de fenol se ha asociado a la perturbación hidrofóbica de la membrana celular (Léonard y Lindley, 1999).

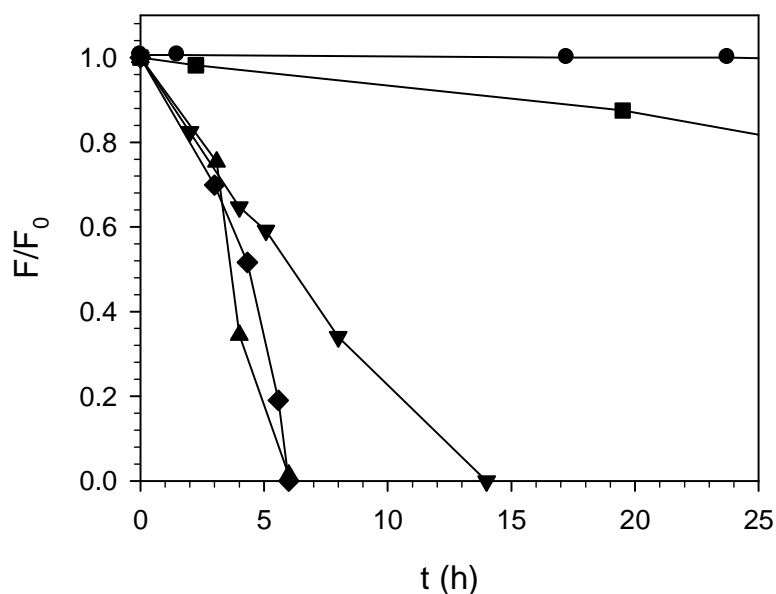


Figura 3.6. Cinética de degradación de 800 mg/L de fenol durante el proceso de aclimatación directa de barros activados. (●) ciclo 1, (■) ciclo 2, (▼) ciclo 11, (▲) ciclo 23, (◆) ciclo 29.

Los valores q_F obtenidos en el presente trabajo están comprendidos dentro del rango informado por otros autores. Buitrón y col., (2007) informaron valores de q_F de 50 mgF/(gSST h) para barros activados aclimatados a 350 mgF/L. Orupold y col., (2001) informaron un valor máximo de q_F de 61 mgF/(gSST h) en barros activados adaptados a degradar compuestos fenólicos. Sin embargo, cuando las concentraciones de fenol se incrementan, los valores de q_F informados disminuyen considerablemente. Por ejemplo, para 2.8 gF/L el valor máximo de velocidad de degradación para barros activados fue de 3.9 mgF/(gSST h) (Amor y col., 2005).

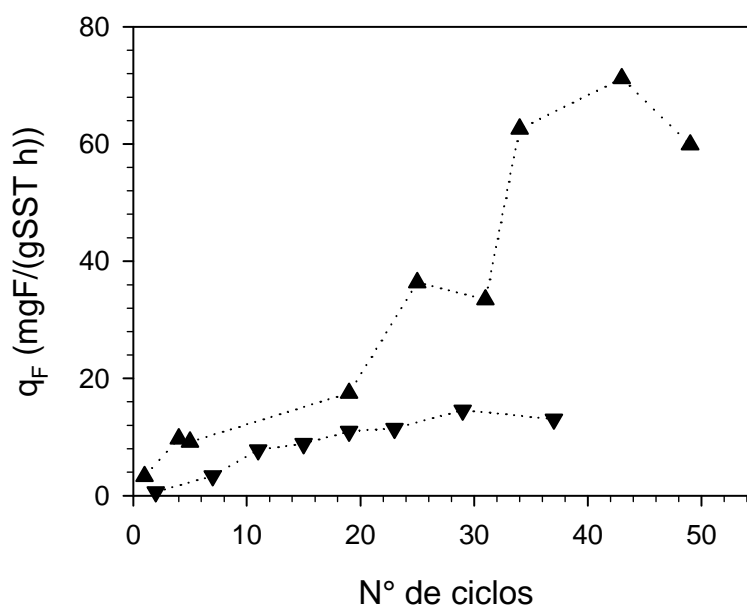


Figura 3.7. Variación de la velocidad específica de consumo de fenol (q_F) en función del número de ciclos obtenidos en la aclimatación a 800 mg/L de fenol en forma directa (▼) y en dos etapas (▲).

3.3.4. Estudio del proceso de aclimatación a fenol en dos etapas

Para estudiar la aclimatación de los barros activados en dos etapas, la biomasa aclimatada a 300 mg/L de fenol fue utilizada como inóculo para comenzar los experimentos de aclimatación a 800 mg/L. En la Figura 3.8 se muestran algunos ejemplos de cinéticas de degradación de fenol. En el primer ciclo de alimentación con 800 mgF/L a barros activados adaptados a degradar 300 mgF/L, el período de adaptación fue de solo 5h; este valor resultó significativamente menor al observado en el primer ciclo de degradación de 800 mgF/L con barros activados no adaptados a fenol (47 h). Este tipo de disminución en el período de adaptación también fue observado por Kwon y Yeom (2009), quienes informaron una reducción en el período de adaptación de 45 a 5 h para degradar 700 mgF/L con *Pseudomonas fluorescense* pre-adaptada a biodegradar 100 mgF/L.

En el presente trabajo de Tesis se observó que en la aclimatación en dos etapas se redujo el tiempo total de degradación de fenol en comparación con los resultados obtenidos en la aclimatación directa. Por ejemplo, el tiempo total empleado en la biodegradación de 800 mg/L de fenol para el primer ciclo de aclimatación en dos etapas fue de 70 h, mientras que para la aclimatación directa fue de 255 h.

En la Figura 3.7 se encuentran los valores de q_F en función del número de ciclos de alimentación con 800 mgF/L para las estrategias de aclimatación directa y en dos etapas. Si bien el valor máximo de q_F para los barros aclimatados a 300 mgF/L era 39.3 ± 1.3 mgF/(gSST h), en el primer ciclo de aclimatación con 800 mgF/L estos barros sufrieron una disminución del valor de q_F a un valor aproximado de 3.3 mgF/(gSST h). Posteriormente, en el ciclo #25 se alcanzó un valor de q_F de 36.4 mgF/(gSST h) similar al obtenido en el ciclo #18 de la aclimatación a 300 mgF/L de fenol. Si bien se observó una disminución de los valores de q_F en los primeros ciclos de degradación, la aclimatación a 800 mgF/L en dos etapas resultó más efectiva que la aclimatación directa. Por ejemplo, el valor máximo de q_F obtenido en la aclimatación directa a 800 mgF/L fue de 13.0 ± 1.6 mgF/(gSST h), similar al obtenido en la aclimatación en dos etapas ($q_F = 9.7$ mgF/(gSST h)) con solo 4 ciclos de alimentación. En la aclimatación en dos etapas a 800 mgF/L, los valores de q_F se mantuvieron aproximadamente constantes a partir del ciclo #34; la velocidad específica máxima de consumo de fenol fue de 69.4 ± 11 mgF/(gSST h), marcadamente superior al valor obtenido en la aclimatación directa a 800 mgF/L. Además, esta velocidad fue mayor a la obtenida para 100 y 300 mgF/L. Los resultados obtenidos sugieren que durante la aclimatación a 300 mgF/L de fenol los microorganismos que se multiplicaron en esta fase desarrollaron la actividad enzimática necesaria para la degradación de fenol. Por lo tanto, la primera aclimatación a 300 mgF/L permitió la selección de microorganismos y la transformación de las rutas metabólicas necesarias para la biodegradación del compuesto tóxico, lo cual facilitó la posterior aclimatación a 800 mgF/L (Kwon y Yeom, 2009; Moreno-Andrade y col., 2009).

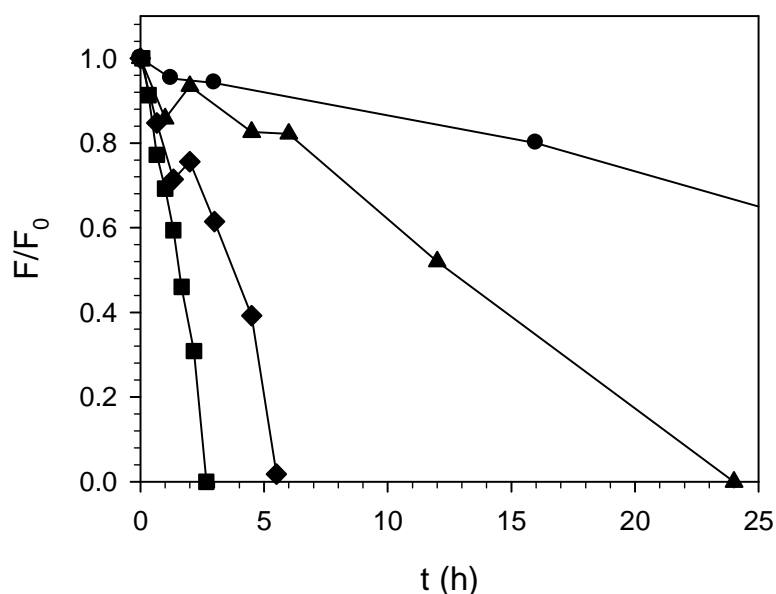


Figura 3.8. Cinética de degradación de 800 mg/L de fenol durante el proceso de aclimatación de barros activados en dos etapas. (●) ciclo 1, (▲) ciclo 4, (◆) ciclo 19, (■) ciclo 31.

3.4 Variación de la velocidad específica de degradación de sustrato y de la actividad respiratoria de barros activados en función de cambios en la alimentación

En esta sección se analiza la variación en la velocidad específica de degradación de suero de queso (q_S) y de fenol (q_F), en función de la composición del agua residual. Además, se estudia la variación de la actividad respiratoria de los barros activados asociada a la biodegradación de suero de queso y fenol en función del sustrato de alimentación del reactor.

3.4.1. Ensayo experimental

Los ensayos se realizaron en el reactor biológico descrito en la sección 2.1, Capítulo 2 Materiales y Métodos. El estudio se dividió en cinco etapas, de acuerdo al sustrato utilizado en cada una de ellas. En la Etapa I el reactor fue alimentado durante 84 días con un modelo de agua residual de industria láctea con 1000 mgDQO/L aportada por suero de queso. En la Etapa II se modificó la alimentación a un medio con 300 mg/L de fenol (correspondiente a 715 mgDQO/L) durante 146 días. En la Etapa III se reanudó la

alimentación con suero de queso por 61 días. En la Etapa IV el reactor fue alimentado nuevamente con 300 mg/L de fenol por 72 días. Finalmente, en la Etapa V se reanudó la alimentación con suero de queso por 62 días. Los medios de cultivo con suero de queso y con fenol fueron descritos en las secciones 2.1 y 2.2 del Capítulo materiales y Métodos. En las etapas de alimentación con suero de queso el tiempo de residencia celular (θ_C) fue de 40 días y el tiempo de residencia hidráulico (θ_H) de 80 h; en el caso de las etapas de alimentación con fenol θ_C fue de 45 d y θ_H 80 h. En algunos ciclos se midió la concentración de DQO en función del tiempo y se calculó la velocidad de degradación de suero de queso (R_S) o de fenol (R_F) como la pendiente de la porción lineal de dichas curvas. Posteriormente, se determinó la velocidad específica de consumo de suero de queso (q_S) o fenol (q_F) como se detalló en la sección 3.3.1.

En paralelo, en cada etapa de alimentación se utilizó la técnica de respirometría cerrada (sección 2.4.1, Capítulo 2) para determinar los valores de velocidad específica de respiración endógena (q_{en}) y velocidad específica de respiración exógena (q_{ex}) asociada al consumo de suero de queso ($q_{O_{2S}}$) y a fenol ($q_{O_{2F}}$). Para ello, se tomó una muestra de barros activados del reactor y se realizó una dilución 1/5 con buffer fosfato 2M, pH = 7. Posteriormente, se adicionaron diferentes concentraciones de suero de queso (0 - 5000 mgDQO/L) o fenol (0 - 3000 mgF/L) y se determinó la velocidad de respiración en cada caso.

3.4.2. Variación de la velocidad específica de degradación de sustratos inducida por cambios en la alimentación del reactor

La Figura 3.9 muestra las velocidades de consumo de suero (R_S) y de fenol (R_F), la concentración de biomasa (X) y las respectivas velocidades específicas de consumo de suero y fenol (q_S , q_F) en función del tiempo de operación del reactor. En la Etapa I (alimentación con suero de queso) los valores de R_S y X se mantuvieron aproximadamente constantes hasta los 50 d de operación. Luego, se observó un significativo incremento en la biomasa y R_S hasta alcanzar un valor de 11 gSST/L y 1450 mgDQO/(L h), respectivamente para $t = 60$ d. Durante la Etapa I, el valor de q_S se mantuvo aproximadamente constante en 90 - 145 mgDQO/(gSST h). En la Tabla 3.1 se encuentran los valores promedio de R , X y q_S al final de cada etapa de alimentación. Como puede observarse hacia el final de la Etapa I ($t = 67 - 84$ d) el valor promedio de R_S

fue de 1485 ± 213 mgDQO/(L h), la biomasa fue de 9.4 ± 0.9 gSST/l y el valor de q_s obtenido fue 140 ± 8 mgDQO/(gSST h).

En el día 85 de operación del reactor se inició la Etapa II (alimentación con 300 mgF/L). Al comienzo de esta etapa la concentración de biomasa disminuyó de 9.7 a 5.3 gSST/L ($t = 86 - 95$ d), continuando luego con un descenso paulatino hasta 2.6 gSST/L ($t = 162$ d). Esto pudo deberse a la inhibición del crecimiento de los microorganismos en presencia de fenol. Cuando un cultivo mixto como los barros activados se pone en contacto con un compuesto tóxico pueden encontrarse presentes dos tipos de microorganismos: degradadores (X_d) y no degradadores (X_{nd}) (Chong y Lin, 2007; Rezouga y col., 2009). A pesar de que inicialmente la fracción X_d puede estar ausente, debido al proceso de aclimatación la fracción de X_{nd} puede adquirir la capacidad de degradar el compuesto convirtiéndose en X_d . Aquellos microorganismos que no adquieren la capacidad de degradación tienden a desaparecer del sistema debido al proceso de decaimiento endógeno. Basándose en estas consideraciones, la disminución de la biomasa al inicio de la Etapa II de alimentación con fenol pudo deberse a que algunos microorganismos no adaptados fueron eliminados del reactor mediante el decaimiento endógeno. Pasados los 180 días de operación del reactor la concentración de biomasa comenzó a elevarse indicando la proliferación de microorganismos degradadores de fenol. La extensión de la Etapa II estuvo determinada por el tiempo requerido para obtener un valor estable de velocidad específica de degradación de fenol (q_F), lo cual representa una biomasa completamente aclimatada a fenol (Buitrón y Moreno, 2004). Si bien, la tendencia en los valores de q_F fue similar a la obtenida en la aclimatación a 300 mgF/L en la sección 3.4.2, el tiempo requerido para obtener valores de q_F estables fue mayor. Por ejemplo, en la aclimatación a 300 mgF/L (sección 3.4.2) se obtuvieron los valores de q_F estables transcurridos 20 días de operación del reactor, en cambio para la Etapa II se necesitaron 65 días de operación del reactor. En los días 150 - 230 se obtuvieron valores aproximadamente estables de R_F y de q_F (Tabla 3.1). El valor de R_F hacia el final de la Etapa II fue de 728 ± 84 mgDQO/(L h), la biomasa fue de 3.0 ± 0.5 gSST/L y el valor de q_F promedio fue de 244 ± 46 mgDQO/(gSST h). Este valor de q_F fue mayor al registrado en la aclimatación a 300 mgF/L (94.3 mgDQO/L; sección 3.4.2). Esto pudo deberse al empleo de diferentes condiciones de operación del reactor. Mientras que en la aclimatación a 300 mgF/L (sección 3.4.2) el reactor se operó sin purga, en la Etapa II el reactor fue purgado de tal forma que $\theta_c = 45$ d. La función de la purga es eliminar del reactor el exceso de biomasa para que la misma no aumente en su

concentración hasta valores excesivamente elevados, los cuales pueden generar problemas en la separación de los barros del efluente tratado. Además de la biomasa activa, durante la purga también se extraen sólidos inertes. Como la velocidad de generación de biomasa activa es en general mayor a la producción de sólidos inertes, el efecto neto de la purga es enriquecer a la biomasa activa respecto de los inertes. Por lo tanto, un reactor operado sin purga contiene una mayor fracción de sólidos inertes que un reactor operado con purga. Por esta razón, las velocidades específicas determinadas en el primero son menores a las velocidades obtenidas en un reactor con purga de sólidos.

En el transcurso de la Etapa III (232 - 292 días) se alimentó nuevamente el reactor con suero de queso; los barros activados iniciaron la degradación de este sustrato con una marcada disminución de la velocidad de degradación respecto al final de la Etapa I. Por ejemplo, el valor de q_s promedio al final de la Etapa I fue de 140 ± 8 mgDQO/(gSST h), mientras que para el primer ciclo de degradación de suero en la Etapa III fue 37.4 ± 1.2 mgDQO/(gSST h). Se pudo observar que luego de un período de alimentación con fenol (Etapa II), los valores de q_s durante la Etapa III aumentaron en función del tiempo. Este comportamiento resultó similar a lo observado para q_f durante la Etapa II. En el final de la Etapa III el valor de R_s se incrementó hasta alcanzar un valor de 695 ± 102 mgDQO/(L h) y la biomasa fue de 5.7 ± 0.4 gSST/L. Estos valores fueron inferiores a los obtenidos en la Etapa I de alimentación con suero de queso. Sin embargo, el valor de q_s fue de 122 ± 10 mgDQO/(gSST h), similar al obtenido en la Etapa I. Por lo tanto, se pudo establecer que la capacidad de los microorganismos para degradar suero de queso se recuperó luego de la aclimatación a fenol.

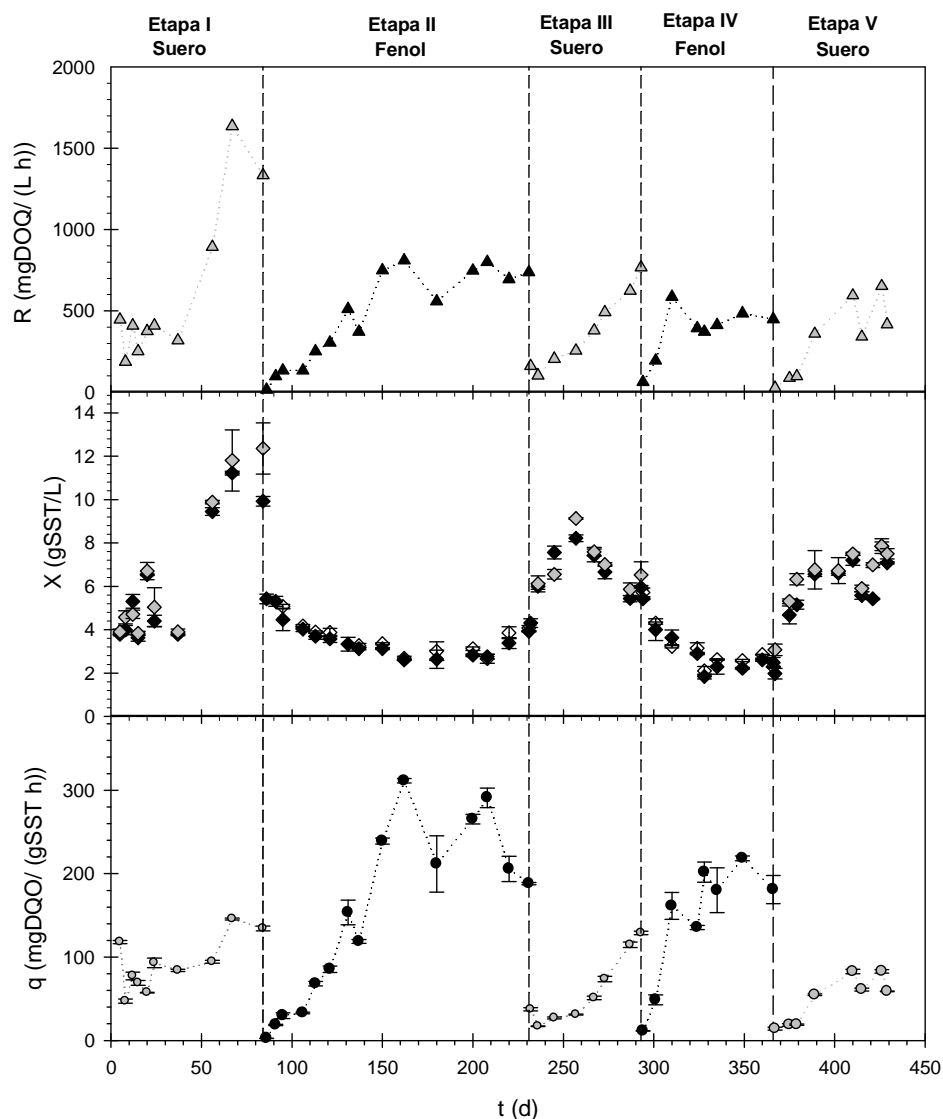


Figura 3.9. Variación en la velocidad de degradación de suero (R_S) y fenol (R_F), concentración de biomasa en el reactor (X) y velocidad específica de degradación de sustratos (q_S , q_F) durante las diferentes etapas de alimentación. Etapas I, III y V: suero de queso (S), 1 gDQO/L. Etapas II y IV: fenol (F), 300 mgF/L. **a.** (Δ) R_S , (\blacktriangle) R_F ; **b.** (\blacklozenge) biomasa al inicio y (\blacklozenge) al final del ciclo de alimentación; **c.** (\bullet) q_S ; (\bullet) q_F . Las barras indican el desvío estándar.

En el día de operación #294 se reanudó la alimentación con 300 mgF/L (Etapa IV). En esta etapa se registró una disminución de la concentración de biomasa similar a la obtenida durante la Etapa II (alimentación con fenol). Asimismo, en el primer día de esta etapa el valor de q_F fue de $11.6 \pm 0.1 \text{ mgDQO}/(\text{gSST h})$, marcadamente inferior al valor

promedio de q_F obtenido al final de la Etapa II ($q_F = 244 \pm 46$ mgDQO/(gSST h)). Según Chong y Lin (2007) esta disminución en la velocidad de biodegradación de fenol puede ser consecuencia de la pérdida de actividad de los microorganismos degradadores de fenol por procesos de aclimatación/desacimatación en ausencia de fenol. Sin embargo, la velocidad de degradación de fenol se incrementó a 161.4 ± 16.1 mgDQO/(gSST h) en solo 16 días de operación. Es importante observar que en Etapa II (con fenol) se lograron obtener valores similares de q_F transcurridos los 50 días de alimentación con fenol (Figura 3.9). Este rápido incremento de q_F en la Etapa IV se debió a un cierto grado de conservación de los microorganismos degradadores de fenol en la etapa de alimentación con suero de queso. Chong y Lin (2007) determinaron que en períodos de ausencia de sustratos (hambruna) los microorganismos degradadores experimentan una reducción exponencial de su concentración. Los valores máximos de q_F se alcanzaron en un tiempo menor al de la Etapa II debido a que los microorganismos degradadores de fenol ya estaban presentes. A partir $t = 310$ d se obtuvo un régimen de operación estable en el reactor con un valor $R_F = 429 \pm 48$ mgDQO/L h), $q_F = 195 \pm 18$ mgDQO/(gSST h) y una concentración promedio de biomasa de 2.2 ± 0.3 gSST/L (Tabla 3.1).

Finalmente, en la Etapa V (alimentación del reactor con suero de queso, $t = 367 - 375$ d), al igual que en la Etapa III, los barros activados tuvieron una marcada disminución de los valores de q_S . En el primer día de la Etapa V el valor de q_S disminuyó a 14.2 ± 1.7 mgDQO/(gSST h), sin embargo, en el transcurso de la operación del reactor el valor de q_S se incrementó hasta alcanzar hacia el final de la Etapa V un valor promedio de 71 ± 13 mgDQO/(gSST h) (Tabla 3.1). Por otro lado, el promedio de R_S para $t = 455 - 475$ d fue de 500 ± 146 mgDQO/(L h) y la concentración de biomasa fue de 6.6 ± 1 gSST/L, similar a la biomasa obtenida en la Etapa III de alimentación con suero de queso.

Tabla 3.1. Valores promedio de R, X y q al final de cada etapa de degradación de suero de queso y fenol en el reactor.

| Etapa | Sustrato | t (días) | R (mgDQO/(L h)) | X (gSST/L) | q (mgDQO/(gSST h)) |
|-------|----------|-------------|--------------------|---------------|-----------------------|
| I | Suero | 56 - 84 | 1485 ± 213 | 9.4 ± 0.9 | 140 ± 8 |
| II | Fenol | 150 - 231 | 728 ± 84 | 3.0 ± 0.5 | 244 ± 46 |
| III | Suero | 287 - 293 | 695 ± 102 | 5.7 ± 0.4 | 122 ± 10 |
| IV | Fenol | 328 - 366 | 429 ± 48 | 2.3 ± 0.2 | 195 ± 18 |
| V | Suero | 410 - 429 | 500 ± 146 | 6.6 ± 1 | 71 ± 13 |

3.4.3. Variación de la actividad respiratoria de barros activados asociada al consumo de suero de queso en respuesta a variaciones en la composición del agua residual

Para las Etapas I a IV de alimentación del reactor se determinó la actividad respiratoria asociada a la degradación de suero de queso empleando una técnica de respirometría cerrada. En general, se observó que la velocidad de respiración total (qO_{2T}) en función de la concentración de suero de queso se ajustó a la ecuación de Monod:

$$qO_{2T} = qO_{2en} + qO_{2Sm} \frac{S}{K_s + S} \quad (3.2)$$

donde qO_{2en} representa la velocidad específica de respiración endógena, qO_{2Sm} es la velocidad específica máxima de respiración exógena asociada a la degradación de suero de queso, K_s es la constante de saturación y S la concentración del sustrato analizado. En la Figura 3.10 se encuentran dos ejemplos del ajuste de la ecuación de Monod para qO_{2T} en función de la concentración de suero de queso obtenidas durante la Etapa III ($t = 279$ d) con una alimentación con suero de queso y para la Etapa IV ($t = 338$ d) de alimentación con fenol. Como puede observarse en la Figura 3.10 en ambos casos se obtuvo un adecuado ajuste a la ecuación de Monod ($r^2 > 0.99$), independientemente del tipo de alimentación en el reactor (suero de queso o fenol).

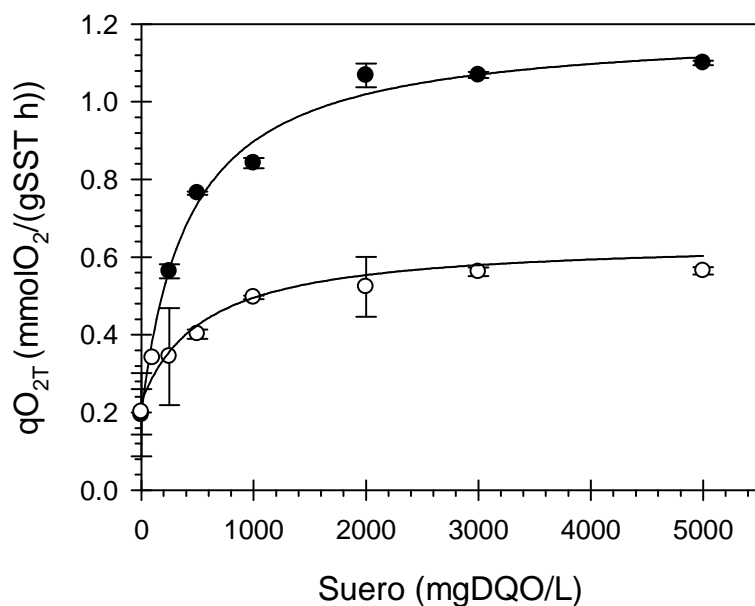


Figura 3.10. Ejemplos de la variación de la velocidad específica total de respiración (qO_{2T}) en función de la concentración de suero de queso correspondiente a: (●) Etapa III (alimentación con suero de queso), (○) Etapa IV (alimentación con fenol). Las barras indican el desvío estándar. Las líneas indican el ajuste de la ec.(3.2) a los datos experimentales.

En la Figura 3.11 se encuentran los valores de qO_{2en} , qO_{2Sm} y K_S en función del tiempo de operación del reactor. En la Etapa I los barros activados presentaron una actividad respiratoria asociada al consumo de suero de queso aproximadamente constante en función del tiempo de operación del reactor. Posteriormente, en las siguientes etapas se observó en general que la velocidad de respiración asociada al consumo de suero de queso varió según el tipo de alimentación en el reactor (suero de queso o fenol) y el incremento en el tiempo de operación. Hacia el final de la Etapa I ($t = 83$ d) el ajuste a la ecuación de Monod permitió obtener los siguientes valores: $qO_{2Sm} = 0.57 \pm 0.14$ mmolO₂/(gSST h), $qO_{2en} = 0.15 \pm 0.04$ mmolO₂/(gSST h) y $K_S = 508 \pm 127$ mgDQO/L.

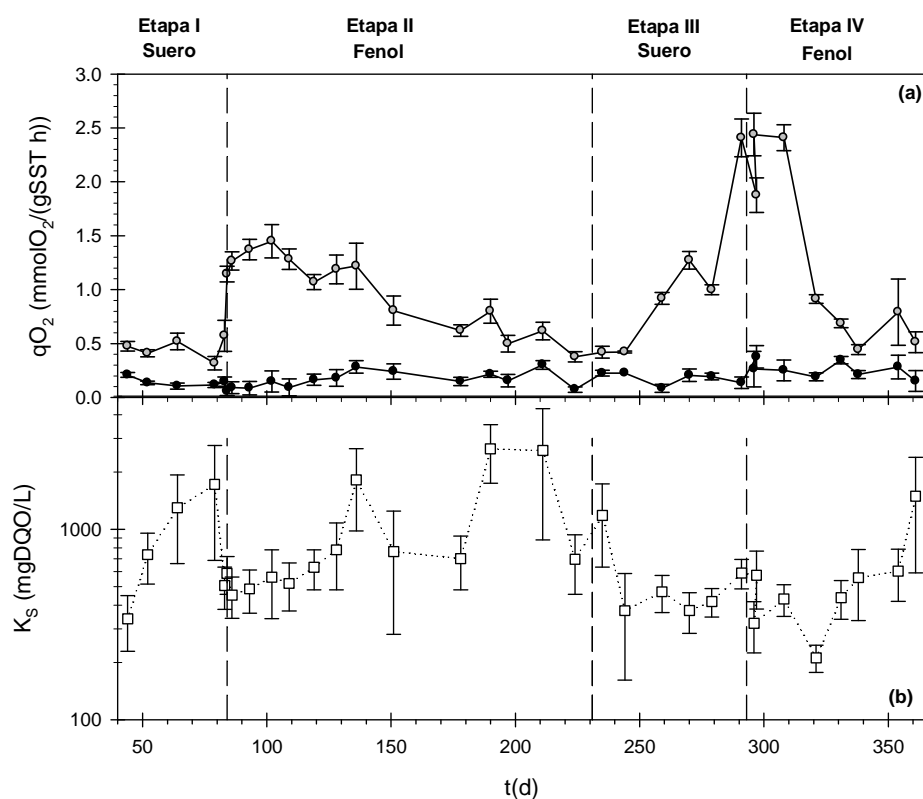


Figura 3.11. a. Velocidad específica de respiración endógena (qO_{2en} , ●) y velocidad específica máxima de respiración exógena (qO_{2Sm} , ●) asociada a la degradación de suero de queso en función del tiempo de operación del reactor. **b.** Constante de saturación (K_S , □) en función del tiempo de operación del reactor. Las barras indican el desvío estándar.

Al inicio de la Etapa II (alimentación con fenol) se observó un incremento de la actividad respiratoria asociada al consumo de suero de queso (Fig. 3.11). La mayor actividad respiratoria se observó para $t = 102$ d: $qO_{2Sm} = 1.45 \pm 0.15$ mmolO₂/(gSST h), $qO_{2en} = 0.15 \pm 0.09$ mmolO₂/(gSST h) y $K_S = 560 \pm 220$ mgDQO/L. En los siguientes tiempos de operación del reactor se obtuvo una disminución paulatina de la actividad respiratoria para suero de queso. Esta disminución de los valores de qO_{2Sm} se corresponde con el incremento en la adaptación de los barros al fenol (Fig. 3.9). En el final de la Etapa II ($t = 224$ d) se obtuvieron los siguientes coeficientes: $qO_{2Sm} = 0.38 \pm 0.05$ mmolO₂/(gSST h), $qO_{2en} = 0.07 \pm 0.02$ mmolO₂/(gSST h) y $K_S = 697 \pm 240$ mgDQO/L. Estos valores fueron similares a los obtenidos en el final de la Etapa I (alimentación con suero de queso), indicando que los barros activados pudieron conservar la capacidad de degradar suero de queso a pesar de que durante 150 días el reactor fue alimentado con fenol.

En la Etapa III (alimentación con suero de queso) la actividad respiratoria asociada al consumo de suero de queso se incrementó en función del tiempo de operación del reactor con suero de queso, tal como era esperable (Fig. 3.11). Este aumento de $q_{O_{2Sm}}$ se relacionó con un incremento en el valor de velocidad específica de degradación de suero q_s (Fig. 3.9). Es decir que los barros activados conservaron la capacidad de degradar suero de queso durante la etapa de alimentación con fenol y que tal capacidad se incrementó con la presencia de este sustrato en el reactor. Para $t = 291$ d se obtuvo la mayor velocidad específica de consumo de oxígeno asociada a la degradación de suero de queso: $q_{O_{2Sm}} = 2.4 \pm 0.18$ mmolO₂/(gSST h), $q_{O_{2en}} = 0.14 \pm 0.05$ mmolO₂/(gSST h) y $K_S = 590 \pm 104$ mgDQO/L.

En la Etapa IV (alimentación con fenol) se observó en general que la actividad respiratoria para suero de queso disminuyó en función del tiempo de alimentación del reactor con fenol. Este comportamiento fue similar al observado durante la Etapa II (alimentación con fenol) en la cual la velocidad de respiración asociada al consumo de suero de queso disminuyó mientras que se incrementó la velocidad de biodegradación de fenol (Fig. 3.9). En el final de la Etapa IV ($t = 361$ d) los valores obtenidos a partir de la ecuación de Monod fueron: $q_{O_{2Sm}} = 0.51 \pm 0.09$ mmolO₂/(gSST h), $q_{O_{2en}} = 0.15 \pm 0.09$ mmolO₂/(gSST h) y $K_S = 1492 \pm 900$ mgDQO/L. Estos valores de $q_{O_{2Sm}}$ fueron similares a los obtenidos hacia el final de la Etapa I (con suero de queso) y II (con fenol). Por lo tanto, se puede determinar que la actividad respiratoria asociada al consumo de suero de queso se conserva en las distintas etapas de alimentación. Finalmente, en la Etapa V de alimentación con suero de queso no fue posible estudiar la variación de la actividad de respiratoria de los barros activados debido a problemas técnicos con el sensor de oxígeno disuelto.

3.4.5. Análisis de la actividad respiratoria de barros activados asociada al consumo de fenol en respuesta a variaciones en la composición del agua residual

Se estudió la actividad respiratoria de los barros activados asociada al consumo de fenol en función del tiempo de operación del reactor en las etapas de alimentación con suero de queso (I, III) y con fenol (II y IV). Se determinó que los valores de velocidad específica de respiración asociada al consumo de fenol en función de la concentración inicial de fenol presentaron un comportamiento similar a una curva típica de inhibición por sustrato. La inhibición en la biodegradación de fenol es conocida (Kumar y Kumar, 2005) y

ha sido asociada con la perturbación hidrofóbica de la membrana celular de los microorganismos (Léonard y Lindley, 1999). Entre los diversos modelos de inhibición de sustrato, la ecuación de Haldane se ha utilizado para describir la biodegradación de fenol por barros activados (Pawlowsky y Howell, 1973; Kumaran y Paruchuri, 1997; Nuhoglu y Yalcin, 2005; Contreras y col., 2008):

$$qO_{2F} = qO_{2Fm} \frac{F}{K_F + F + \frac{F^2}{K_i}} \quad (3.3)$$

donde qO_{2F} es la velocidad de respiración asociada al consumo de fenol, qO_{2Fm} es la velocidad máxima de respiración, F es la concentración de fenol, K_F es el coeficiente de saturación de fenol y K_i es el coeficiente de inhibición.

Cuando se ensayaban concentraciones de fenol menores a 50 mg/L, el cambio en la concentración de fenol durante el tiempo del ensayo era significativo debido a que, en general, las velocidades de consumo de fenol eran altas. Por lo tanto, mediante la técnica empleada no fue posible obtener resultados satisfactorios de la velocidad de respiración para bajas concentraciones de fenol. Es importante notar que para obtener una buena estimación del coeficiente K_F mediante el ajuste de la ec.(3.3) a los datos experimentales, es necesario contar con valores de velocidad de respiración para concentraciones de fenol similares al valor de K_F . Sin embargo, esto no era posible debido a las limitaciones de la técnica empleada para determinar la velocidad de respiración. Además, es conocido el alto grado de acoplamiento que existe entre la estimación de K_F y K_i ; por lo tanto, un alto error en la estimación de K_F determina altos errores en K_i (Guisasola y col., 2006). Para evitar este problema se decidió ajustar la ec.(3.3) a los datos experimentales pero fijando el valor de K_F a partir de datos de literatura. El valor de K_F correspondiente a barros activados aclimatados a fenol informado por Chudoba y col., (1985) es de 1.4 mgF/L. Orupold y col., (2001) reportaron valores de K_F entre 0.8 y 1.6 mgF/L mientras que Contreras y col., (2008) informaron un valor de 1.1 mgF/L. En base la información disponible en literatura, en el presente trabajo de Tesis se adoptó un valor de $K_F = 1$ mgF/L.

En la Figura 3.12 se encuentran algunos ejemplos del ajuste de la ecuación de Haldane a los valores de qO_{2F} en función de la concentración de fenol. Los ejemplos corresponden a la Etapa III (alimentación con suero de queso, $t = 291$ d) y a la Etapa IV (alimentación con fenol, $t = 338$ d). Como puede observarse en la Figura 3.12, en ambos

casos se obtuvo un adecuado ajuste ($r^2 > 0.99$), independientemente del tipo de alimentación en el reactor (suero de queso o fenol).

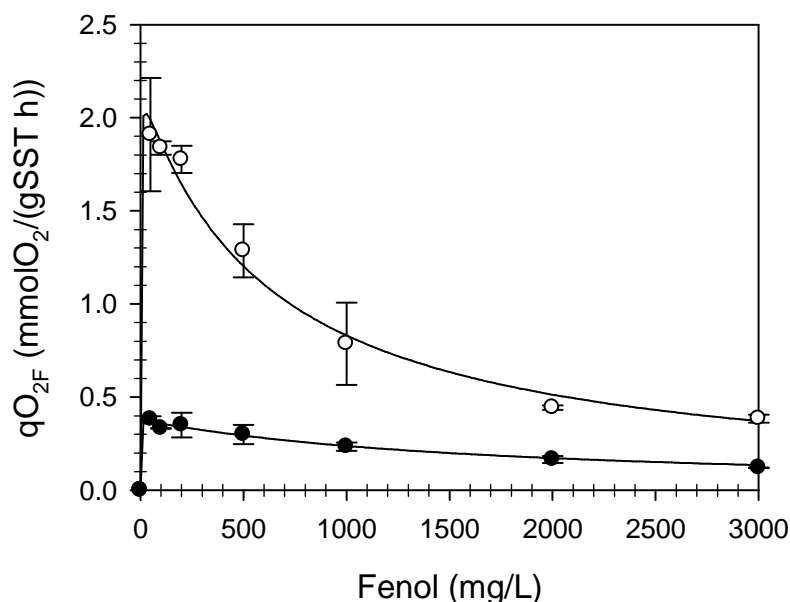


Figura 3.12. Ejemplos de la variación de la velocidad específica de respiración (qO_{2F}) en función de la concentración de fenol correspondiente a: (○) Etapa II (alimentación con fenol), (●) Etapa III (alimentación con suero de queso). Las barras indican el desvío estándar. Las líneas indican el ajuste de la ec.(3.3) a los datos experimentales.

En la Figura 3.13 se muestran los valores de qO_{2en} , qO_{2Fm} , y K_i para cada etapa de alimentación en función del tiempo de operación del reactor. En la Etapa I (alimentación con suero de queso), los barros que no habían estado nunca en contacto con fenol presentaron valores de velocidad de respiración total en respuesta a la presencia de fenol similares a los valores de velocidad de respiración endógena, indicando que los barros activados no expuestos a fenol no poseen la capacidad biodegradar este compuesto. Sin embargo, cuando los barros activados fueron expuestos alternativamente a fenol y suero, los mismos desarrollaron la capacidad de degradar fenol. En general se observó que la actividad respiratoria asociada a la biodegradación de fenol en las etapas de alimentación con fenol se incrementó en función de tiempo de operación. Por el contrario, en las etapas de alimentación con suero de queso los valores qO_{2Fm} disminuyeron en función del tiempo de operación del reactor.

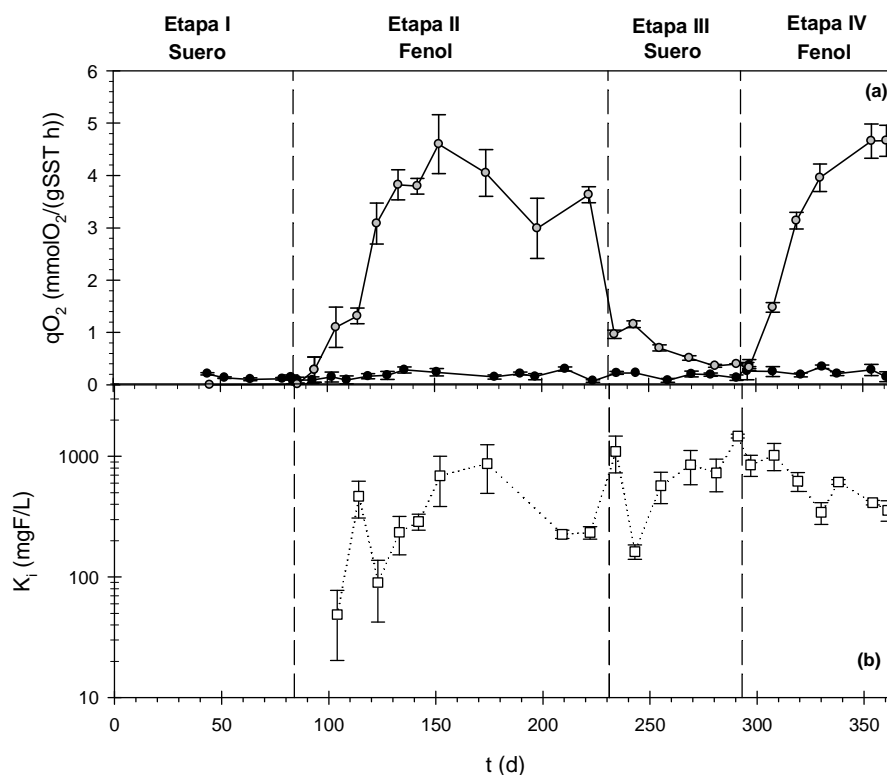


Figura 3.13. a. Velocidad específica de respiración endógena (qO_{2en} , ●) y velocidad específica máxima asociada a la biodegradación de fenol (qO_{2Fm} , ○). **b.** Constante de inhibición (K_i , □) en función del tiempo de operación del reactor. Las barras indican el desvío estándar.

En la Etapa II (alimentación con fenol) la actividad respiratoria para fenol se incrementó en función del tiempo de operación del reactor. En la Figura 3.14 se encuentran ejemplos del ajuste de la ec.(3.3) a los datos experimentales de qO_{2F} en función de la concentración de fenol correspondientes a la Etapa II. La Figura 3.13 muestra que los valores de qO_{2Fm} para fenol se incrementaron en función del tiempo de operación del reactor con fenol, obteniéndose para $t = 150 - 222$ d una actividad respiratoria para fenol aproximadamente constante. En el final de la Etapa II ($t = 222$ d) los coeficientes obtenidos de la ec.(3.3) fueron: $qO_{2Fm} = 3.63 \pm 0.16$ mmolO₂/(gSST h) y $K_i = 234 \pm 27$ mgF/L. Asimismo, La Figura 3.9 muestra que los valores de q_F se estabilizaron en un valor aproximado de 244 mgDQO/(gSST h), lo cual indicó una completa aclimatación en la Etapa II de los barros al fenol.

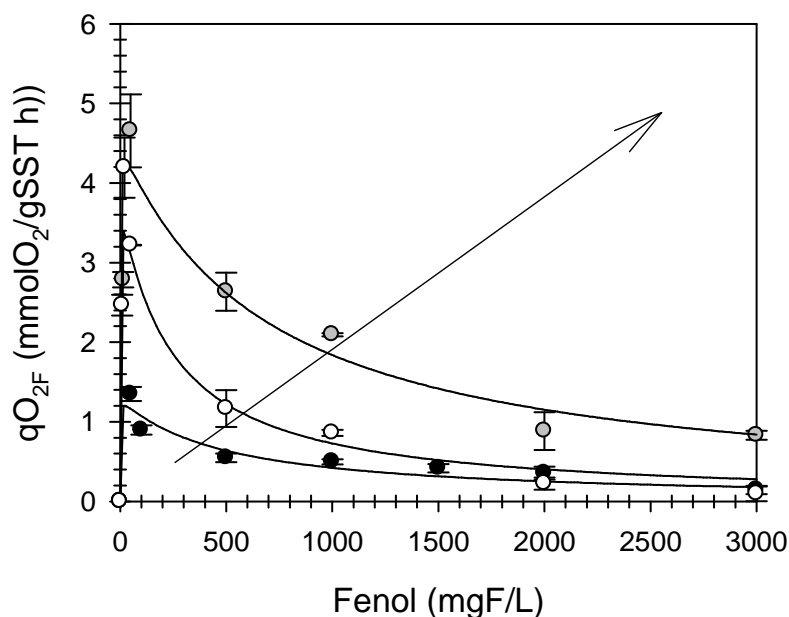


Figura 3.14. Ejemplos de la variación de la velocidad específica de respiración (qO_{2F}) en función de la concentración de fenol correspondiente a la Etapa II (alimentación con fenol). Las barras indican el desvío estándar. Las líneas indican el ajuste de la ec.(3.3) a los datos experimentales. El sentido de la flecha indica el incremento del tiempo de operación del reactor con una alimentación con fenol.

La Figura 3.13 muestra que en el comienzo de la Etapa III (alimentación con suero de queso) se obtuvo una importante disminución de los valores de qO_{2Fm} . Por ejemplo, el valor de qO_{2F} para $t = 234$ d fue de 0.96 ± 0.08 mmolO₂/(gSST h), marcadamente inferior al valor obtenido al final de la Etapa II (3.63 ± 0.16 mmolO₂/(gSST h)). Además, a medida que el reactor era alimentado con suero de queso se observó una disminución gradual en los valores de qO_{2Fm} . Al final de la Etapa III los parámetros obtenidos para la actividad respiratoria asociada al consumo de fenol fueron: $qO_{2Fm} = 0.39 \pm 0.01$ mmolO₂/(gSST h) y $K_i = 1472 \pm 56$ mgF/L.

En la Figura 3.15 se encuentran algunos ejemplos de la variación de qO_{2F} en función de la concentración de fenol correspondiente a barros activados obtenidos durante la Etapa IV (alimentación con fenol). En general, la variación de los valores de qO_{2F} durante esta etapa fue similar a lo observado durante la Etapa II. En el final de la Etapa IV ($t = 361$ d) se obtuvieron los siguientes coeficientes de la ec.(3.3): $qO_{2Fm} = 4.66 \pm 0.3$ mmolO₂/(gSST h) y $K_i = 358 \pm 59$ mgF/L. Estos coeficientes fueron similares a los

obtenidos en la Etapa II (alimentación con fenol); por lo tanto, se pudo establecer que los barros activados recuperaron su capacidad para biodegradar fenol luego de una etapa de alimentación con suero de queso. Además, tanto en la Etapa II como en la IV (alimentación con fenol) el tiempo necesario para obtener valores estables de actividad respiratoria asociada al consumo de fenol fue de aproximadamente 60 días.

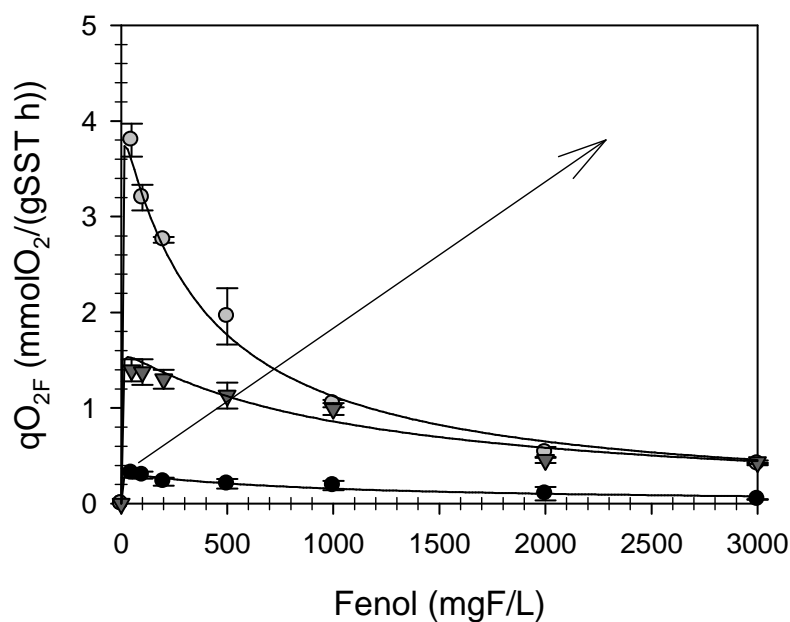


Figura 3.15. Ejemplos de la variación de la velocidad específica de respiración ($q_{O_{2F}}$) en función de la concentración de fenol correspondiente a la Etapa IV (alimentación con fenol). Las barras indican el desvío estándar. Las líneas indican el ajuste de la ec.(3.3) a los datos experimentales. El sentido de la flecha indica el incremento del tiempo de operación del reactor con una alimentación con fenol.

3.5. Conclusiones del Capítulo

- Se demostró que los microorganismos presentes en los sistemas de barros activados alimentados con un modelo de agua residual de industria láctea pueden ser utilizados para la biodegradación de aguas residuales conteniendo fenol. Se observó que en el primer ciclo de alimentación con fenol, los microorganismos presentaron un período de adaptación y posteriormente una etapa de degradación efectiva del fenol. La extensión

del período de adaptación se incrementó en función del aumento de la concentración inicial de fenol.

- En los ensayos de degradación de diferentes concentraciones de fenol, se estableció que el proceso de aclimatación es indispensable para desarrollar la actividad enzimática necesaria para la degradación de fenol y lograr una mayor velocidad específica de degradación. Las velocidades específicas de degradación se mantuvieron aproximadamente constantes luego de ciclos repetidos de alimentación con fenol. Por otra parte, se observó que el número de ciclos necesarios para obtener la mayor velocidad de degradación fue mayor en los casos de 300 y 800 mg/L de fenol.

- Se demostró que una concentración inicial de 800 mgF/L requirió tiempos de degradación demasiado elevados. Por ello, entre los modos de aclimatación estudiados para concentraciones elevadas de fenol, la aclimatación en dos etapas resultó ser más eficiente que la aclimatación directa, dado que los valores de velocidad específica de degradación obtenidos fueron mayores y el tiempo de adaptación fue menor al necesario en una aclimatación directa.

- Se demostró que los barros activados pueden adaptarse a variaciones en la composición del agua residual. Los barros activados estudiados fueron eficientes en la remoción de suero de queso y fenol luego de etapas de ausencia de estos compuestos en el reactor. En el inicio de alimentación con suero de queso la velocidad específica de degradación se mantuvo aproximadamente estable. Por otro lado, en etapas de alimentación con fenol la velocidad específica de degradación de fenol se incrementó en función del tiempo de operación del reactor, indicando un incremento en el grado de aclimatación de los barros al fenol.

- La actividad respiratoria asociada a la degradación de suero de queso y fenol se vio afectada por el tipo de sustrato de alimentación (suero de queso o fenol) del reactor. Se determinó que la actividad respiratoria asociada al consumo de fenol disminuyó en ausencia de fenol en la alimentación, mientras que la actividad respiratoria asociada al consumo de suero de queso fue relativamente constante, independientemente del sustrato de alimentación.

- Finalmente, el ajuste de los valores de velocidad específica de respiración exógena a la ecuación de Monod para suero de queso y Haldane para fenol, permitieron calcular los parámetros que describen la actividad respiratoria de los barros en función de la concentración del sustrato presente.



**RESPIROMETRÍA ABIERTA.
EJEMPLO DE APLICACIÓN
Y EVALUACIÓN DEL
ERROR ASOCIADO A LAS
MEDIDAS DE
RESPIRACIÓN**

4.1. Consideraciones generales

La respirometría es un procedimiento ampliamente utilizado para el estudio del tratamiento biológico de aguas residuales. Por medio de técnicas respirométricas se han estudiado la biodegradación aerobia de compuestos fenólicos en forma individual y como mezclas (Cokgor y col., 2008; Orhon y col., 2009), caracterización de la fracción biodegradable de aguas residuales (Lagarde y col., 2005) y los procesos de aclimatación de barros activados a diferentes sustratos (Carvalho y col., 2004; Aktas, 2012). Adicionalmente, se han desarrollado biosensores para medir en línea la velocidad de respiración de los barros activados. Mediante la comparación entre la velocidad de respiración medida y un cierto valor de referencia (por ejemplo, el promedio histórico), este tipo de biosensores pueden realizar la detección temprana del ingreso al tanque de aireación de un compuesto tóxico (Sollfrank y Gujer, 1990; Vanrolleghem y col., 1994). Con el fin de evitar falsas alarmas es importante la evaluación del error asociado a la medida de la velocidad de respiración y así poder distinguir entre la presencia de un agua residual tóxica y una fluctuación aleatoria de la velocidad de respiración. Diversos autores (Vanrolleghem y col., 1995; Petersen y col., 2001; Marsili-Libelli y Tabani, 2002; Guisasola y col., 2006) han puesto énfasis en la determinación de parámetros cinéticos que describen la biodegradación aeróbica de aguas residuales y en la identificabilidad teórica y práctica de los mismos. Sin embargo, existe poca información acerca del error asociado a la determinación de la velocidad de respiración y el oxígeno consumido evaluado mediante técnicas respirométricas.

Por otra parte, la relación entre el consumo de sustrato y la velocidad de consumo de oxígeno representan variables importantes para el correcto diseño del sistema de tratamiento (Kumar y col., 2005; Nuhoglu y Yalcin., 2005). Mientras que la velocidad de consumo de sustrato determina el tamaño de los reactores, el conocimiento de la velocidad de consumo de oxígeno asociado es crucial para un diseño apropiado de los dispositivos de aireación. En este sentido, el estudio de la velocidad de respiración asociada a la degradación de fenol y el consumo de oxígeno por barros activados constituye un aspecto importante en el tratamiento biológico de aguas residuales.

4.2. Objetivos

- Estudiar la cinética de oxidación de fenol por barros activados aclimatados a ese compuesto empleando respirometría abierta.
- Determinar expresiones que permitan calcular el error en las medidas de velocidad de respiración (R) y oxígeno consumido (OC) obtenidas a partir de un perfil respirométrico.

4.3. Estudio de la relación entre el consumo de fenol y la velocidad de respiración por barros activados aclimatados a fenol

En la siguiente sección se estudia el perfil de la concentración de fenol y la velocidad de respiración asociada a la oxidación de fenol por barros aclimatados.

4.3.1. Ensayo experimental

Los barros activados utilizados en este estudio fueron los obtenidos mediante la aclimatación directa de la biomasa a 300 mgF/L (sección 3.4.2). Transcurridos 50 ciclos de alimentación, el reactor con los barros aclimatados fue operado con un tiempo de residencia celular (θ_c) de 45 d y un tiempo de residencia hidráulico (θ_H) de 80 h.

En determinados tiempos de operación se registró el perfil de oxígeno disuelto (OD) en el tiempo mediante respirometría abierta. La concentración de OD se midió con un electrodo de oxígeno YSI (modelo 58) y un adquisidor de datos conectado a una computadora que permitió la adquisición de 1 dato/segundo. Se determinó el coeficiente de transferencia de oxígeno (k_La) y la velocidad de respiración exógena (R_{ex}) asociada a la oxidación de fenol, como se describió en la sección 2.4.2 del Capítulo 2 Materiales y Métodos. Durante los ensayos se determinó la concentración de biomasa como sólidos suspendidos totales (gSST/L), la concentración de fenol (mgF/L) por el método 4-amino antipirina y la concentración de sustrato soluble como DQO (sección 2.5, Capítulo 2 Materiales y Métodos).

4.3.2. Perfil respirométrico correspondiente a la oxidación de fenol por barros aclimatados

En la Figura 4.1 se encuentra un ejemplo del perfil de concentraciones de fenol, demanda química de oxígeno (DQO) y velocidad de respiración exógena (R_{ex}) en función del tiempo durante la biodegradación de fenol en el reactor. Como puede observarse en la Figura 4.1a, tanto la concentración de fenol como la de DQO presentaron una disminución aproximadamente lineal en función del tiempo; este comportamiento indica una velocidad constante de degradación de fenol hasta su agotamiento ($t = 2.2$ h). Por otra parte, en la Figura 4.1b se observa que cuando se adicionó fenol, los valores de R_{ex} se incrementaron hasta un valor comprendido entre 2 y 3 $\text{mmolO}_2/(\text{L h})$. Posteriormente, al agotarse el fenol ($t = 2.2$ h) los valores de R_{ex} disminuyeron a valores cercanos a cero.

En la Figura 4.2 se encuentra la concentración de DQO en función de la concentración de fenol para la biodegradación de 300 mgF/L . La pendiente obtenida a partir de la regresión lineal fue 218 gDQO/molF , siendo este valor similar a la demanda teórica de oxígeno para la oxidación completa de fenol (224 gDQO/molF). Esto sugiere que durante la degradación de fenol no se acumularon en solución productos de oxidación parcial. En la Figura 4.2 se puede observar que cuando se agotó el fenol ($t = 2.2$ h), la concentración de DQO soluble fue de 71 mgDQO/L ; este valor de DQO residual es debido a la presencia de productos microbianos solubles tales como productos de lisis bacteriana (metabolitos intracelulares) (Xie y col., 2012).

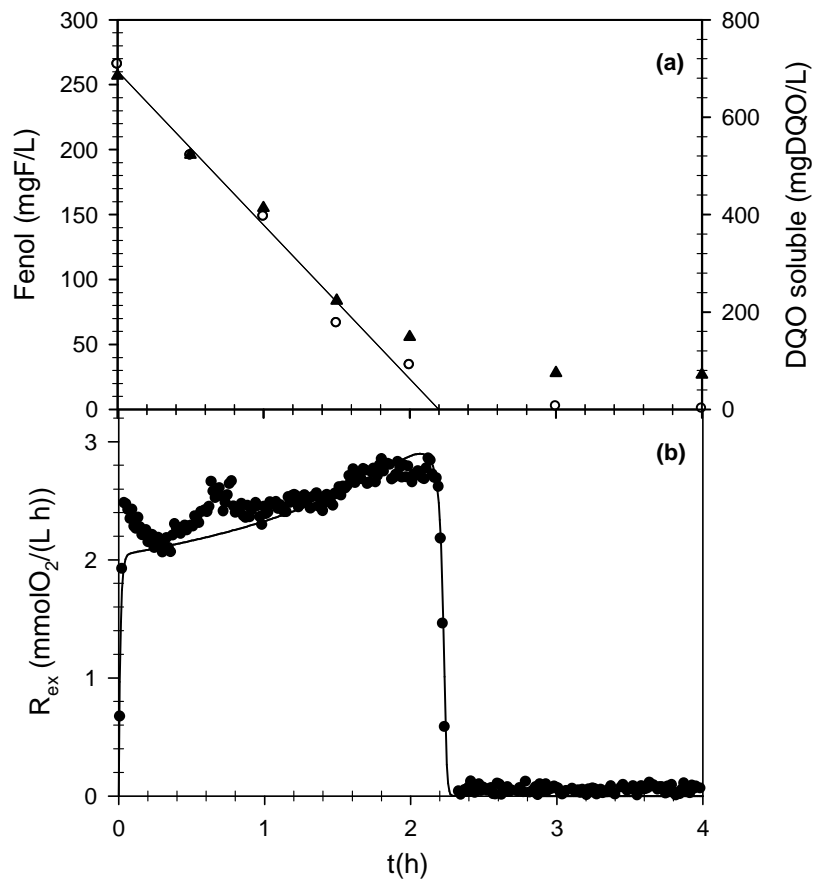


Figura 4.1. Ejemplos de perfiles de degradación de **a.** fenol (\circ), DQO (\blacktriangle) y **b.** velocidad de consumo de oxígeno (\bullet , R_{ex}) en función del tiempo. En este caso la concentración de biomasa fue de 1.8 gSST/L.

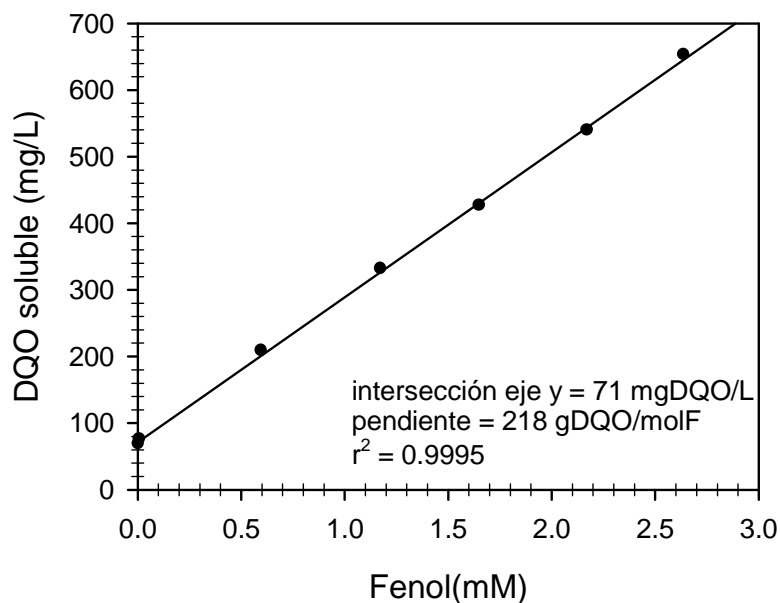


Figura 4.2. DQO soluble en función de la concentración de fenol correspondiente al ejemplo presentado en la Figura 4.1.

En la Figura 4.3 se muestran algunos ejemplos de la variación de las concentraciones de fenol y oxígeno disuelto (OD) en función del tiempo durante la biodegradación de fenol. En todos los casos se obtuvo una disminución lineal de la concentración de fenol en el tiempo (Fig. 4.3a). Teniendo en cuenta que los valores de OD oscilaron entre 0.1 y 0.25 mmolO₂/L (Fig. 4.3b), estos resultados sugieren que dentro de las condiciones en las que se realizaron los ensayos la velocidad de degradación de fenol (R_F) no fue afectada significativamente por la concentración de OD. Además, en la Figura 4.3 se puede observar que el tiempo en el cual el fenol se agota es similar al momento en el que el OD comienza a incrementarse. Por lo tanto, durante la biodegradación de fenol por barros activados aclimatados el aumento de OD podría ser empleado como una señal de agotamiento de sustrato. En este sentido, Buitrón y col., (2005) desarrollaron una estrategia de control para optimizar el tiempo de reacción en un reactor biológico secuencial (SBR) basado en el perfil de OD. La estrategia desarrollada por estos autores se basó en el aumento del OD para evaluar el momento en el cual el sustrato se consume completamente.

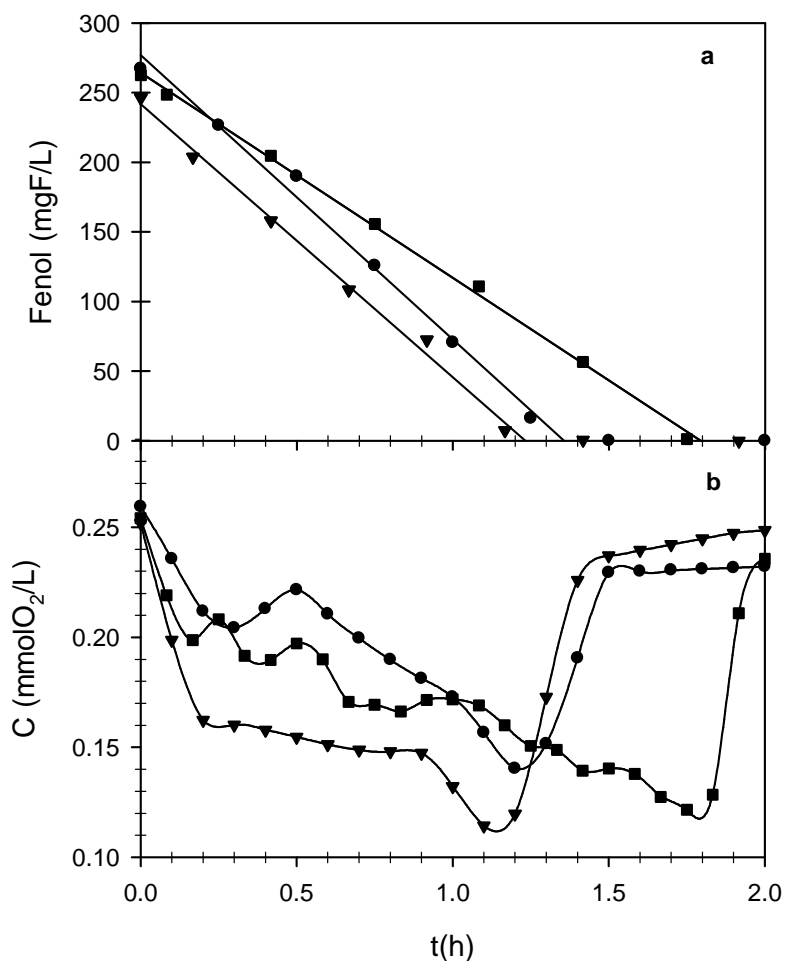


Figura 4.3. Ejemplos de degradación de fenol en el reactor para los tiempos de operación de 76 d (●), 80 d (▼) y 110 d (■). **a.** Perfil de concentración de fenol en el tiempo, la línea continua indica la regresión lineal. **b.** Concentración de oxígeno disuelto (C) en el tiempo.

4.4. Error asociado a las medidas de velocidad de consumo de oxígeno y el oxígeno consumido obtenidas mediante respirometría abierta

Debido a que el perfil respirométrico para fenol puede ser empleado como una herramienta de control y monitoreo en plantas de tratamiento, es importante establecer el error asociado en los perfiles respirométricos. Por ello, en la siguiente sección se determinan expresiones para estimar el error en las medidas de velocidad de consumo de oxígeno y el oxígeno consumido obtenido a partir de perfiles respirométricos.

4.4.1. Ensayo experimental

Los barros activados utilizados en este estudio fueron los obtenidos en la sección 4.3 del presente Capítulo. Los ensayos respirométricos fueron realizados en un respirómetro de 500 mL de volumen que se detalló en el Capítulo Materiales y Métodos sección 2.4.2. Antes del agregado de cada pulso del compuesto a estudiar se determinó el coeficiente de transferencia de oxígeno ($k_L a$) y la velocidad de respiración endógena (R_{en}) mediante el método dinámico descrito en la sección 2.4.3 del Capítulo 2 (Materiales y Métodos).

4.4.2. Obtención de las expresiones necesarias para estimar el error en la determinación de la velocidad de consumo de oxígeno y el oxígeno consumido a partir de perfiles respirométricos.

En la Figura 4.4 se encuentra un ejemplo del perfil de oxígeno disuelto (Fig.4.4a) y la velocidad de respiración exógena (R_{ex} ; Fig.4.4b) en función del tiempo durante un ensayo de respirometría abierta. Cuando se adiciona un pulso de sustrato oxidable al respirómetro ($t = 0.05$ h; Fig.4.4a), la concentración de oxígeno disuelto (C) decrece hasta llegar a un valor mínimo (C_{min}) debido al incremento en la velocidad de respiración exógena asociada a la oxidación del sustrato. Luego de un período de transición, la velocidad de respiración permanece constante hasta el agotamiento del sustrato.

En algunos casos, las condiciones experimentales pueden ser ajustadas de tal modo que la concentración de biomasa en el respirómetro sea aproximadamente constante durante el período estudiado; esto simplifica la interpretación del respirograma. Por ejemplo, el aumento en la concentración de biomasa puede evitarse mediante el uso de un medio de cultivo sin fuente de nitrógeno, o ensayando una concentración inicial de sustrato (S_0) mucho menor que la concentración de biomasa (X). Además, empleando estas condiciones se obtienen tiempos de ensayos cortos, minimizando efecto del decaimiento de la biomasa. Así, si X permanece constante a lo largo del ensayo, cuando el sustrato se agota la concentración de oxígeno disuelto debe ser igual a la concentración de oxígeno disuelto antes de la adición del sustrato.

El cambio de la concentración de oxígeno (C) en función del tiempo en el respirómetro está determinado por dos procesos: la transferencia de oxígeno y la respiración de los microorganismos. Normalmente, durante el transcurso del ensayo las

condiciones de aireación y agitación (y por lo tanto, la velocidad de transferencia de oxígeno) son constantes. En cambio, la velocidad de respiración de los microorganismos depende de la disponibilidad de un sustrato oxidable. En ausencia de sustrato, la velocidad de respiración de los microorganismos corresponde a la velocidad de respiración endógena (R_{en}) asociada al proceso de mantenimiento, en el cual los microorganismos oxidan su propia biomasa. Por otro lado, la velocidad de respiración exógena (R_{ex}) corresponde a la velocidad de respiración asociada al consumo del sustrato (Contreras y col., 2008). Considerando estos procesos, el balance de oxígeno disuelto en el respirómetro es:

$$\frac{dC}{dt} = k_L a (C_S - C) - R_{en} - R_{ex} \quad (4.1)$$

donde $k_L a$ es el coeficiente de transferencia de oxígeno y C_S es la concentración de saturación de oxígeno en las condiciones experimentales. En ausencia de sustrato, $R_{ex} = 0$ y C alcanza un valor constante (C_e) correspondiente al equilibrio entre la transferencia de oxígeno y la velocidad de respiración endógena:

$$R_{en} = k_L a (C_S - C_e) \quad (4.2)$$

combinando las ecuaciones 4.1 y 4.2 se obtiene:

$$R_{ex} = k_L a (C_e - C) - \frac{dC}{dt} \quad (4.3)$$

Debe tenerse en cuenta que los datos primarios que se obtienen del respirómetro son valores discretos de C en función de t . Por lo tanto, para poder determinar R_{ex} primero se debe emplear algún método de diferenciación numérica para evaluar la derivada en la ec. (4.3):

$$R_{exn} = k_L a (C_e - C_n) - b_{tw, \Delta t} \quad (4.4)$$

donde R_{exn} es la velocidad de oxidación exógena evaluada alrededor del punto n , la cual corresponde al tiempo de proceso $t = (n-1)\Delta t$, donde Δt es el intervalo entre dos datos sucesivos (frecuencia de almacenamiento de datos), t_w es la ventana de tiempo empleada

para calcular la derivada de C en función de t para el punto n y $b_{t_w, \Delta t}$ es la pendiente de la regresión lineal de C en función de t evaluada dentro de la ventana t_w . La Figura 4.4b muestra el perfil de R_{ex} en función del tiempo aplicando la ec. (4.4) a los datos de la Figura 4.4a.

Otro parámetro importante que se puede obtener de un perfil respirométrico es el oxígeno consumido total (OC_T) durante la degradación del compuesto en estudio. Por definición, el oxígeno consumido (OC) durante la biodegradación del sustrato es:

$$OC = \int_0^t R_{ex} dt \quad (4.5)$$

Combinando las ecs. (4.3) y (4.5) y considerando que para $t = 0$, $C = C_e$, se obtiene la siguiente expresión:

$$OC = \int_0^t \left[k_L a (C_e - C) - \frac{dC}{dt} \right] dt = k_L a \left(C_e t - \int_0^t C dt \right) - C + C_e \quad (4.6)$$

Teniendo en cuenta que $t = (n - 1)\Delta t$, y aplicando el método de los trapecios al término integral de la ec. (4.6) se obtiene:

$$OC_n = k_L a \Delta t \left[C_e (n - 1) - \frac{1}{2} (C_e + C_n) - \sum_{i=2}^{n-1} C_i \right] - C_n + C_e \quad (4.7)$$

donde OC_n corresponde al OC evaluado en el punto n. Cuando el sustrato exógeno se agota, R_{ex} es cero y por lo tanto, $C_n = C_e$. Sobre la base de estas consideraciones, el oxígeno total consumido (OC_T) resulta

$$OC_T = k_L a \Delta t \left[(N - 2)C_e - \sum_{i=2}^{N-1} C_i \right] \cong k_L a \Delta t (NC_e - \sum_{i=2}^{N-1} C_i) \quad (4.8)$$

donde $N \gg 2$, es el número total de datos. Por ejemplo, teniendo en cuenta que el intervalo de muestreo (Δt) usado para obtener el perfil respirométrico que se muestra en la Figura 4.4a fue de 1 s, y que el tiempo de ensayo total fue de 2 h, el número total de datos almacenados fue $N = 7200$, el cual evidentemente es mucho mayor a 2. La Figura 4.4c muestra que el valor de OC se incrementó en función del tiempo hasta el agotamiento del sustrato, y luego se mantuvo constante, en este ejemplo, el oxígeno consumido total (OC_T) fue 0.49 mmolO₂/L.

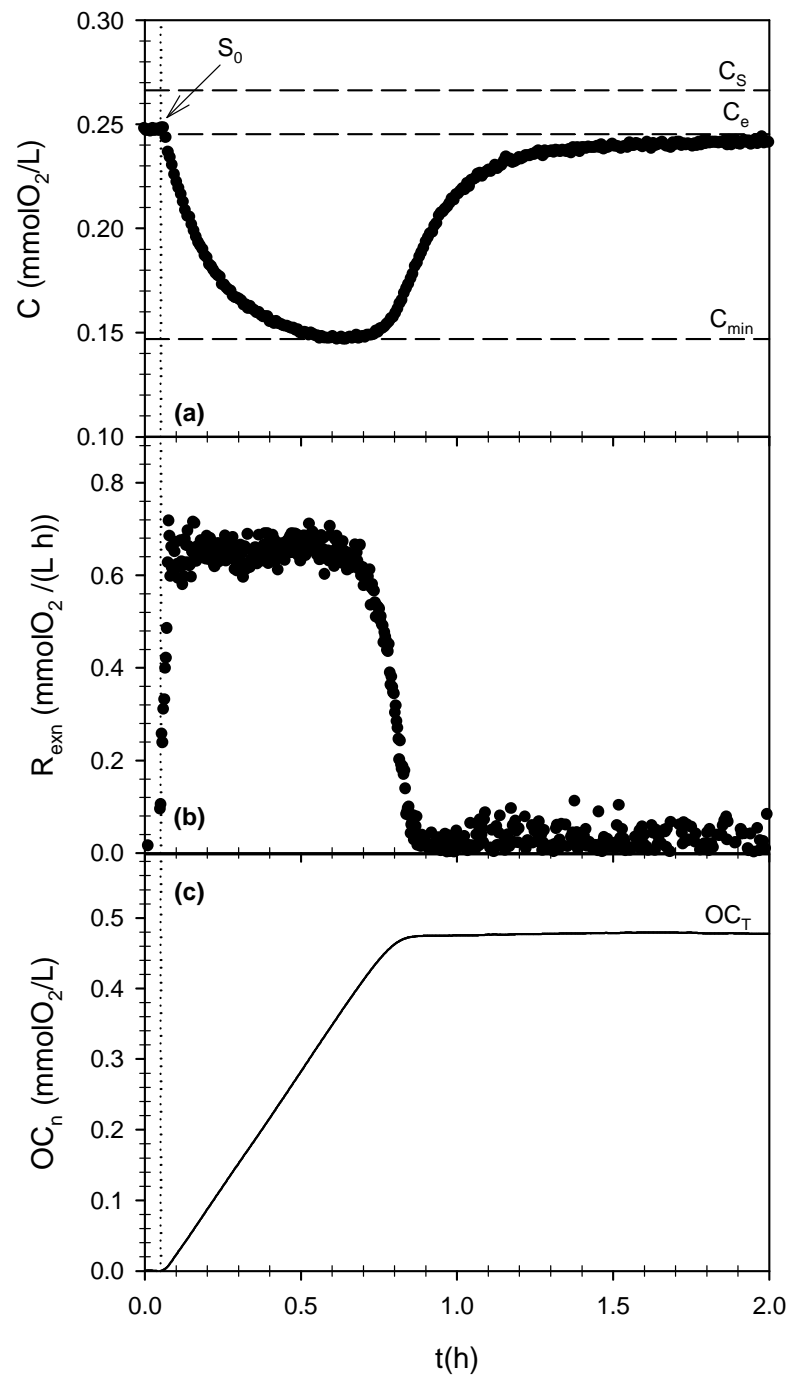


Figura 4.4. Ejemplo de un perfil respirométrico. **a.** Concentración de oxígeno disuelto (C), **b.** Velocidad de respiración exógena (R_{exn}) y **c.** Oxígeno consumido (OC_n) en función del tiempo. La línea punteada indica la adición de resorcinol. Condiciones experimentales: pH = 7, $X = 1.8$ gTSS/L, $S_0 = 20$ mg/L, $C_s = 0.27$ mmolO₂/L, $k_La = 6.8$ 1/h, $C_e = 0.25$ mmolO₂/L, $\Delta t = 1$ s, $t_w = 60$ s.

4.4.3. Incertidumbre de las mediciones en ensayos de respirometría abierta

Las ecuaciones 4.4 y 4.8 demuestran que las fuentes de error en el cálculo de R_{ex} y OC_T están relacionadas con el error asociado a los valores de C , k_{La} , y $b_{tw,\Delta t}$. El error asociado a las medidas de R_{ex} y OC_T se puede evaluar empleando el método de propagación lineal de errores a las ecuaciones 4.4 y 4.8, respectivamente (Lucas y Prinn, 2005; Pasternack y col., 2006):

$$\sigma_V^2 = \sum_{i=1}^M \left(\frac{\partial V}{\partial \theta_i} \right)^2 \sigma_{\theta_i}^2 \quad (4.9)$$

donde $\frac{\partial V}{\partial \theta_i}$ es la sensibilidad de primer orden de alguna variable V (por ejemplo, R_{ex} , OC_T) al parámetro θ_i (por ejemplo, C , k_{La}), σ_V^2 y $\sigma_{\theta_i}^2$ son la varianza de V y θ_i , respectivamente, y la sumatoria se realiza todos sobre los parámetros M de la ecuación empleada para calcular V (Saltelli y col., 2005).

Con el fin de utilizar la ec. (4.9) para evaluar las varianzas correspondientes a R_{ex} ($\sigma_{R_{ex}}^2$) y OC_T ($\sigma_{OC_T}^2$), es necesario conocer las varianzas asociadas a C (σ_C^2), k_{La} ($\sigma_{k_{La}}^2$) y $b_{tw,\Delta t}$ (σ_b^2). Con respecto a la medición de la concentración de oxígeno disuelto (C), se debe distinguir entre el ruido de la señal y la exactitud de las mediciones de la sonda de oxígeno disuelto. Mientras que la interferencia dada por el ruido en la señal se puede reducir usando diferentes técnicas de suavizado (Härdle, 1991), la precisión depende de las características propias de la sonda. De acuerdo con las especificaciones proporcionadas por varios fabricantes, la precisión típica de una sonda de oxígeno disuelto operando dentro del rango de 0 – 0.31 mmolO₂/L es de ± 0.003 mmolO₂/L (YSI, 2013).

Por otro lado, se han realizado varios estudios acerca del error asociado al coeficiente volumétrico de transferencia de oxígeno (k_{La}). Gogate y Pandit, (1999) estudiaron varios de los métodos que se utilizan comúnmente para la medición de k_{La} ; estos autores concluyeron que dentro de las condiciones de operación típicas de un fermentador se pueden esperar errores menores a un 10% en la determinación de k_{La} ; resultados similares fueron informados por Puskeiler y Weuster-Botz, (2005). Además, el error asociado a k_{La} se puede asumir como proporcional a su propio valor, siendo la constante de proporcionalidad el coeficiente de variación de k_{La} ($CV_{k_{La}}$). Por ejemplo, en la Figura 4.5 se muestra que la medida de $CV_{k_{La}}$ en el respirómetro empleado en este

trabajo de Tesis fue aproximadamente un 6% del valor medido de k_{La} . En base a las consideraciones anteriormente mencionadas, para todos los cálculos posteriores se adoptaron los siguientes valores: $\sigma_C = 0.003 \text{ mmolO}_2/\text{L}$, $\sigma_{kLa} = CV_{kLa}k_{La}$, donde $CV_{kLa} = 0.06$.

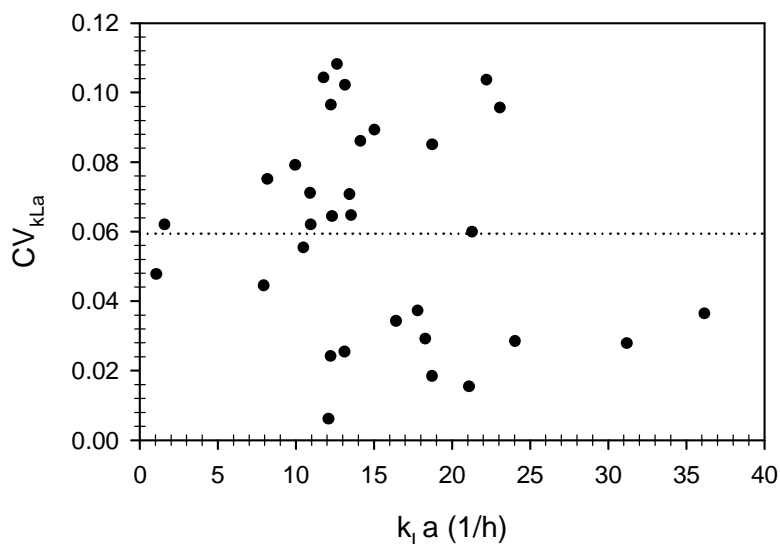


Figura 4.5. Coeficiente de variación de k_{La} (CV_{kLa}) en función del valor de k_{La} para el respirómetro empleado en el presente trabajo de Tesis. Las medidas fueron realizadas por triplicado. La línea punteada indica el valor medio global de CV_{kLa} .

4.4.5. Evaluación de la desviación estándar del término $b_{tw,\Delta t}$ (σ_b) por la técnica de Monte Carlo

La estimación de la desviación estándar del término $b_{tw,\Delta t}$ (σ_b) se evaluó utilizando la técnica de Monte Carlo. Para un cierto conjunto de valores correspondientes a la ventana de tiempo (t_w) y al intervalo entre dos datos sucesivos (Δt), se generó un perfil ideal (sin ruido) de concentración de oxígeno disuelto (C) suponiendo una disminución lineal de C en función de t con una pendiente constante (b) dentro de t_w . Luego, a cada valor C se adicionó un error aleatorio de distribución gaussiana con valor medio cero y $\sigma_C = 0.003 \text{ mmolO}_2/\text{L}$. Por último, se calculó la pendiente $b_{tw,\Delta t}$ a partir de la regresión lineal de la concentración de oxígeno disuelto (con el error añadido) en función del tiempo (Fig. 4.6). Este procedimiento se repitió 10000 veces para obtener la función de distribución de

$b_{t_w, \Delta t}$ y estimaciones estadísticas relevantes de la media y la desviación estándar $b_{t_w, \Delta t}$ para las condiciones de testeadas de t_w y Δt .

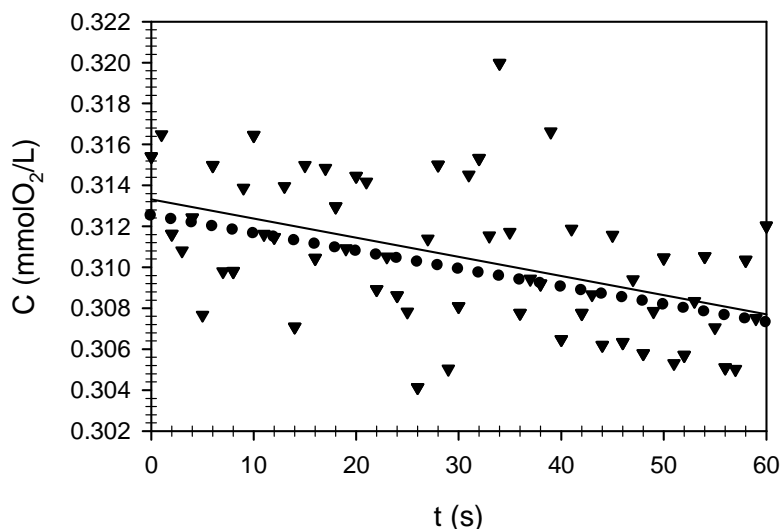


Figura 4.6. Ejemplo de la aplicación del método de Monte Carlo para evaluar la desviación estándar de $b_{t_w, \Delta t}$ (σ_b). En este ejemplo: $t_w = 60$ s, $\Delta t = 1$ s, $b = 0.31$ mmolO₂/(L h), $\sigma_C = 0.003$ mmolO₂/L. (●): datos de oxígeno disuelto sin ruido, (▼) datos con un ruido gaussiano. La línea continua representa la regresión lineal de primer orden de los datos con ruido gaussiano.

La Figura 4.7 muestra que empleando el método Monte Carlo se obtuvo una distribución aproximadamente gaussiana para $b_{t_w, \Delta t}$, (σ_b). Además, las simulaciones demostraron que σ_b no depende de la concentración de oxígeno disuelto (C) o de la pendiente b (velocidad de respiración). Por el contrario, la Figura 4.8a muestra un incremento lineal de σ_b en función de σ_C . Además, en las Figuras 4.8b y 4.8c se observa que cuando el cociente $t_w/\Delta t$ es mayor que 10 (por ejemplo, cuando fueron empleados más de diez puntos para calcular la pendiente $b_{t_w, \Delta t}$), σ_b tiene una dependencia según una ley de potencias con respecto a t_w y Δt . En base a estas consideraciones, se propuso la siguiente ecuación empírica para calcular σ_b en función de σ_C , t_w y Δt :

$$\sigma_b = \alpha \sigma_C t_w^\beta \Delta t^\gamma \tag{4.10}$$

donde σ_b , σ_C , t_w y Δt se encuentran expresados en unidades $\text{mmolO}_2/(\text{L h})$, mmolO_2/L y s , respectivamente. La ec. (4.10) fue ajustada a los datos generados mediante el método Monte Carlo obteniéndose los siguientes coeficientes: $\alpha = 9543$, $\beta = -1.44$, $\gamma = 0.45$ ($r^2 = 0.9950$). Esta ecuación es útil para calcular la desviación estándar (σ_b) de la pendiente $b_{t_w, \Delta t}$ obtenida a partir de la regresión lineal de la concentración de oxígeno disuelto (C), como función de la desviación estándar de C (σ_C), la ventana de tiempo (t_w) y la velocidad de muestreo ($1/\Delta t$).

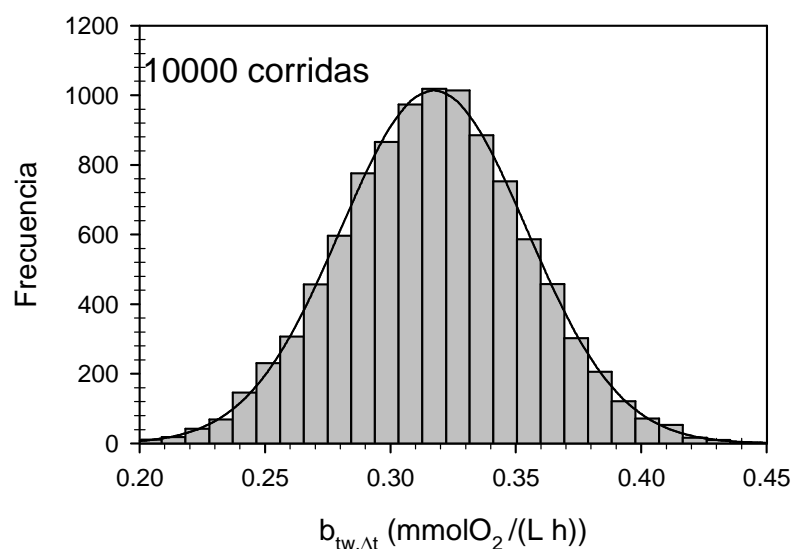


Figura 4.7. Distribución de $b_{t_w, \Delta t}$ obtenida mediante 10000 corridas del método Monte Carlo. Las condiciones fueron las detalladas en la Figura 4.6 La línea continua representa una curva gaussiana. En este caso: $\sigma_b = 0.08 \text{ mgO}_2/(\text{L h})$.

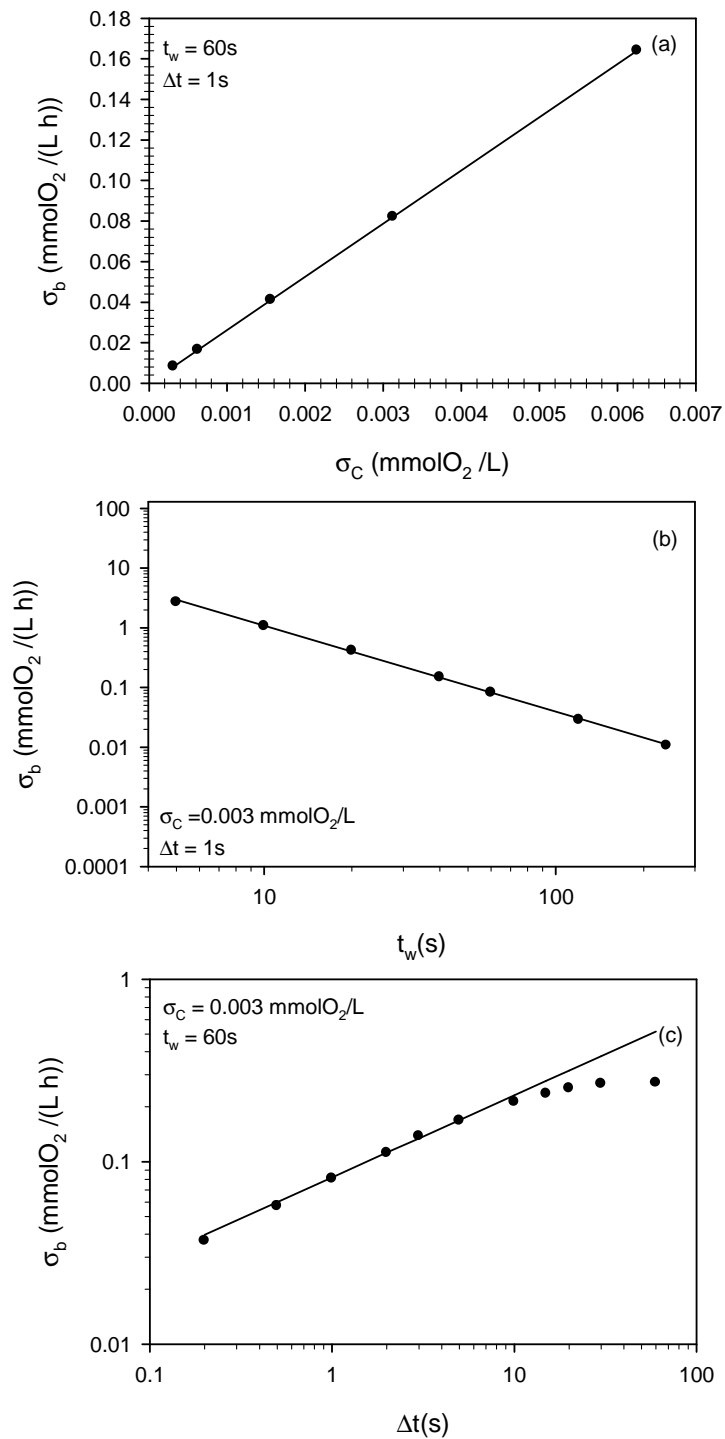


Figura 4.8. Efecto de **a.** σ_C , **b.** t_w , y **c.** Δt , sobre σ_b . Cada punto corresponde a 10000 corridas del método Monte Carlo. Las líneas indican los valores σ_b calculados mediante la ec. (4.10).

Mientras que σ_C es una característica intrínseca de la sonda de OD y no puede ser modificado, t_w y Δt se pueden ajustar con el objeto de minimizar σ_b . Debido a las variaciones aleatorias de C, cuando la ventana de tiempo (t_w) empleada es muy pequeña se obtienen grandes variaciones en la estimación de la derivada. En la mayoría de los casos este inconveniente puede reducirse mediante el empleo de filtros digitales o incrementando los valores de t_w (Savitzky y Golay, 1964; Bromba y Zlegler, 1981). Aunque existen varios métodos para seleccionar el valor óptimo de t_w en filtros digitales (Vivo-Truyols y Schoenmakers, 2006), estos algoritmos no tiene en cuenta que el empleo de t_w elevados puede producir un efecto de aplanado sobre las curvas de R_{ex} en función del tiempo. Por otro lado, una velocidad de muestreo alta (o sea, un valor muy bajo de Δt) produce archivos de datos grandes que son difíciles de procesar debido a las limitaciones propias del ordenador. Para la selección adecuada de t_w y Δt debe tenerse en cuenta las características de los datos, el tamaño de los archivos de datos y la precisión deseada en la estimación de la velocidad de respiración (Marsili-Libelli y Tabani, 2002). Es importante destacar que una vez que se seleccionan t_w y Δt , σ_b solo depende de σ_C ; además, dado que la precisión de una sonda óptica de oxígeno es constante en el rango de 0 – 0.31 mmolO₂/L, σ_b también resulta constante.

4.4.6 Evaluación de las varianzas correspondientes a R_{exn} y OC_t

Una vez que se cuenta con las desviaciones estándar de C (σ_C), k_{La} (σ_{kLa}) y $b_{t_w, \Delta t}$ (σ_b), las varianzas correspondientes a R_{ex} y OC_T pueden ser calculadas aplicando la ec. (4.9) a las ecs. (4.4) y (4.8), respectivamente:

$$\sigma_{R_{exn}}^2 = (CV_{kLa} k_{La})^2 (C_e - C_n)^2 + 2(\sigma_C k_{La})^2 + \sigma_b^2 \quad (4.11)$$

$$\sigma_{OC_T}^2 = (CV_{kLa} OC_T)^2 + 2(\sigma_C k_{La} \Delta t N)^2 \quad (4.12)$$

El primer término de la ec. (4.11) representa la contribución del error de k_{La} en la varianza total de R_{exn} . Este término varía desde cero ($C_n = C_e$) hasta un cierto valor máximo para $C_n = C_{min}$. El segundo término surge de la imprecisión propia de C. Finalmente, el tercer término de la ec. (4.11) representa el error resultante de la estimación de la derivada, y depende de t_w y Δt tal como se describió previamente. La ec. (4.12) muestra que la varianza en el oxígeno consumido total (OC_T) se compone de dos

términos. El primero de ellos depende de la varianza de $k_{L,a}$ y es proporcional a OC_T ; el segundo término depende de la varianza de C y es proporcional al producto ΔtN , el cual representa el tiempo total del respirograma. Por ejemplo, considerando las condiciones experimentales en la Figura 4.4 ($k_{L,a} = 6.8$ 1/h, $C_e = 0.25$ mmolO₂/L, $t_w = 60$ s, $\Delta t = 1$ s), de acuerdo con la ec. (4.11), $\sigma_b = 0.08$ mmolO₂/(L h); así, $\sigma_{R_{exn}}$ osciló entre 0.087 (en $C_n = C_e$) hasta 0.096 mmolO₂/(L h) (para $C_n = C_{min}$). La Figura 4.4.c muestra que OC alcanza su valor máximo de 0.49 mmolO₂/L en $t = 1$ h, debido al consumo total del sustrato y luego permaneció constante; así en ese momento el producto $\Delta tN = 1$ h y $\sigma_{OCT} = 0.04$ mmolO₂/L (ec. (4.12)).

Desde el punto de vista práctico, el operador puede seleccionar la concentración inicial de sustrato (S_0), la concentración de biomasa (X), el coeficiente de transferencia de oxígeno ($k_{L,a}$), y el intervalo de muestreo de oxígeno disuelto (Δt), para obtener resultados más precisos. La ec. (4.12) muestra que σ_{OCT} depende el valor de OC_T y del producto de ΔtN , el cual representa el tiempo total del experimento. Debido a que tanto OC_T como el tiempo total son proporcionales a S_0 , σ_{OCT} aumenta en función del incremento de S_0 .

4.5 Conclusiones

- En este capítulo se determinó que el perfil respirométrico obtenido durante la biodegradación de fenol puede ser empleado como un indicador del agotamiento de sustrato. Además, se observó que durante la biodegradación de fenol no se acumularon productos intermedios de oxidación.

- Se determinaron expresiones para evaluar la desviación estándar correspondiente a la velocidad de respiración exógena (R_{ex}) y el oxígeno consumido total (OC_T) obtenidos a partir de un perfil respirométrico.

- Se observó que la desviación estándar de R_{ex} y OC_T no sólo dependen de la desviación estándar del oxígeno disuelto (σ_C) y de $k_{L,a}$ ($\sigma_{k_{L,a}}$), sino también de la desviación estándar correspondiente al término derivativo (σ_b) de la ecuación de balance de masa para oxígeno en el respirómetro.

- La técnica de Monte Carlo permitió calcular σ_b ; el cual tuvo una dependencia de potencia sobre σ_b en función de σ_C . Además, se obtuvo una expresión que permitió calcular la dependencia de σ_b en función de σ_C .

- Las expresiones obtenidas demuestran que concentraciones de biomasa elevadas y bajos valores de $k_L a$ son necesarios para minimizar el coeficiente de variación de R_{ex-max} y OC_T . Sin embargo, estas condiciones experimentales también pueden dar lugar a concentraciones de oxígeno disuelto que podrían limitar la velocidad de oxidación de los sustratos. Por esta razón, las ecuaciones obtenidas en este Capítulo son de utilidad para seleccionar condiciones de medición adecuadas y así minimizar el coeficiente de variación de R_{ex} y el OC_T .



**DEGRADACIÓN DE
COMPUESTOS FENÓLICOS
POR BARROS ACTIVADOS
ACLIAMATADOS A FENOL**

5.1. Consideraciones generales

Debido a su amplio uso en diversos procesos industriales, los compuestos fenólicos se encuentran presentes en una gran cantidad de aguas residuales. Por ejemplo, los hidroxí-derivados de fenol como catecol e hidroquinona se utilizan en productos farmacéuticos, como inhibidores de la polimerización, en colorantes fotográficos, etc. El resorcinol se utiliza en la fabricación de fibras reforzadas de caucho y en adhesivos para madera. Por otra parte, la principal aplicación industrial de pirogalol es en la fabricación de productos farmacéuticos, pesticidas y tintes para cabello (Ingle y col., 1995; Instituto Nacional de Salud USA, 2012).

Varios métodos físico-químicos, tales como la ozonización, reacción de Fenton, radiación UV, peróxido de hidrógeno, o una combinación de ellos pueden ser utilizados para eliminar los compuestos fenólicos de aguas residuales industriales. Sin embargo, durante el tratamiento físico-químico de compuestos fenólicos se pueden generar productos de oxidación parcial (como hidroxí-derivados) que suelen ser más tóxicos y menos biodegradables que los compuestos originales (Santos y col., 2004; Hsu y col., 2007). Además, en la mayoría de los casos estos tratamientos suelen ser complejos y costosos, por esta razón, se prefieren los métodos biológicos (Busca et al, 2008).

En las últimas décadas se ha estudiado la biodegradación de compuestos fenólicos tanto en cultivos puros como en consorcios bacterianos. Varios trabajos se han focalizado en el aislamiento y caracterización de cepas degradadoras de compuestos específicos (Chapman y Ribbons, 1976; Latkar y col., 2003; Guzik y col., 2011). Además, se han desarrollado estrategias de control de la operación de reactores para la eliminación de compuestos fenólicos por barros activados (Yoong y col., 2000; Buitrón y col., 2005). Por otra parte, varios autores han centrado la atención en la biodegradación aeróbica de compuestos individuales y de mezclas de compuestos fenólicos por barros activados (Orupöld y col., 2001; Antizar-Ladislao y Galil, 2004; Bajaj y col., 2008; Pramparo y col., 2012). Por medio de técnicas respirométricas han estudiado la biodegradación aerobia de compuestos individuales y mezclas de productos químicos (Cokgor y col., 2008; Orhon y col., 2009). Sin embargo, el proceso de aclimatación de los barros activados para degradar un compuesto suele requerir un tiempo extenso tal como se demostró en el Capítulo 3. Por ello, el empleo de biomasa adaptada a degradar compuestos con estructura molecular similar puede ser una estrategia promisoriosa para

disminuir tiempos de arranque durante la puesta en marcha del tratamiento biológico. Pramparo y col., (2012) demostraron que barros activados adaptados a degradar p-nitrofenol son capaces de degradar activamente otros compuestos con estructura molecular similar. Si bien la biodegradación de hidroxí-derivados de fenol ha sido estudiada previamente, la información acerca de la estequiometría y la estabilidad de la capacidad de biodegradación de barros activados para degradar compuestos fenólicos ha recibido menos atención.

5.2. Objetivos

- Estudiar la estequiometría y la estabilidad de la capacidad de biodegradación de compuestos fenólicos por barros activados aclimatados a fenol.

- Analizar el efecto del agregado de pulsos sucesivos en forma individual y conjunta de fenol (F), catecol (CA), resorcinol (RE), pirogalol (PY) e hidroquinona (HY) en barros activados aclimatados a fenol.

5.3. Oxidación de compuestos fenólicos por barros activados aclimatados a fenol

5.3.1. Ensayo experimental

Los ensayos fueron realizados con barros activados aclimatados a 300 mgF/L, descritos en la sección 4.3.1, Capítulo 4. Empleando el respirómetro abierto descrito en la sección 2.4.2, Capítulo 2, se determinó la velocidad de respiración (R_{ex}) asociada a la oxidación de pulsos sucesivos individuales de los siguientes compuestos: fenol (F), catecol (CA), resorcinol (RE), pirogalol (PY) e hidroquinona (HY). A partir de las ecuaciones obtenidas en el Capítulo 4 se seleccionaron las condiciones operativas adecuadas para minimizar el coeficiente de variación en la determinación de R_{ex} y el oxígeno consumido (OC) durante la oxidación del compuesto estudiado. Las concentraciones iniciales de sustrato adicionadas fueron 1mM para F, CA, RE, 0.9 mM para HY y 0.7 mM para PY. A partir del perfil respirométrico obtenido se calculó la velocidad específica de respiración (q_{EX} , $mmolO_2/(gSST\ h)$) como el cociente entre R_{ex} y la concentración de barros activados en el respirómetro (X). Además, se determinó el

coeficiente de oxidación ($Y_{O/S}$) mediante la ecuación 2.10, del “Capítulo Materiales y Métodos”.

5.3.2. Variación de la velocidad de respiración de barros activados durante la oxidación de compuestos fenólicos

Se estudió la velocidad específica de respiración exógena (q_{EX}) durante la oxidación de compuestos fenólicos por barros activados aclimatados a fenol. Se determinó que los barros activados aclimatados a fenol fueron capaces de metabolizar todos los compuestos fenólicos estudiados. En la Figura 5.1 se encuentran los perfiles obtenidos de q_{EX} en función del tiempo correspondientes a la adición de fenol (F), resorcinol (RE), e hidroquinona (HY), durante la adición del primer pulso de cada compuesto en el respirómetro. La Figura 5.1 muestra que los perfiles de q_{EX} en función del tiempo obtenidos para F, RE y HY fueron similares, lo cual sugirió que estos sustratos fueron metabolizados por la misma enzima, probablemente fenol 2-monooxigenasa (FMO). Esta enzima cataliza la oxidación de F a CA mediante oxígeno molecular (Enroth y col., 1998). Además, varios autores han informado que otros compuestos fenólicos también pueden ser oxidados por la enzima FMO, como por ejemplo RE e HY, para producir en ambos casos 1,2,4-bencenotriol (Maeda-Yorita y Massey, 1993; Eppink y col., 1997).

Entre los diferentes modelos de inhibición por sustrato, la ecuación de Haldane ha sido ampliamente utilizada para describir la cinética de degradación de fenol por bacterias (Contreras y col., 2008; Rezouga y col., 2009). De acuerdo con este modelo, se puede definir la concentración crítica de sustrato (S^*) como la concentración de sustrato (S) que produce la velocidad específica de respiración exógena máxima observable (q_{EX}^*) (Christen y col., 2012). Si la concentración de sustrato inicial que se añade al respirómetro (S_0) es mayor que S^* , entonces q_{EX} inicial es más baja que q_{EX}^* . Debido a que el sustrato se metaboliza, S disminuye como una función del tiempo y tiende a S^* ; en este caso, se puede observar un aumento en q_{EX} hacia su valor máximo en función del tiempo. Entonces, como la reacción continúa, S se hace menor que S^* y q_{EX} disminuye hasta finalmente regresar a cero debido a que el sustrato se agota. En los perfiles respirométricos correspondientes a F, RE, y HY (Fig. 5.1) se observa un incremento de q_{EX} en el tiempo, lo cual sugiere que las concentraciones críticas de estos compuestos (S^*) fueron inferiores al pulso de sustrato adicionado al respirómetro (S_0).

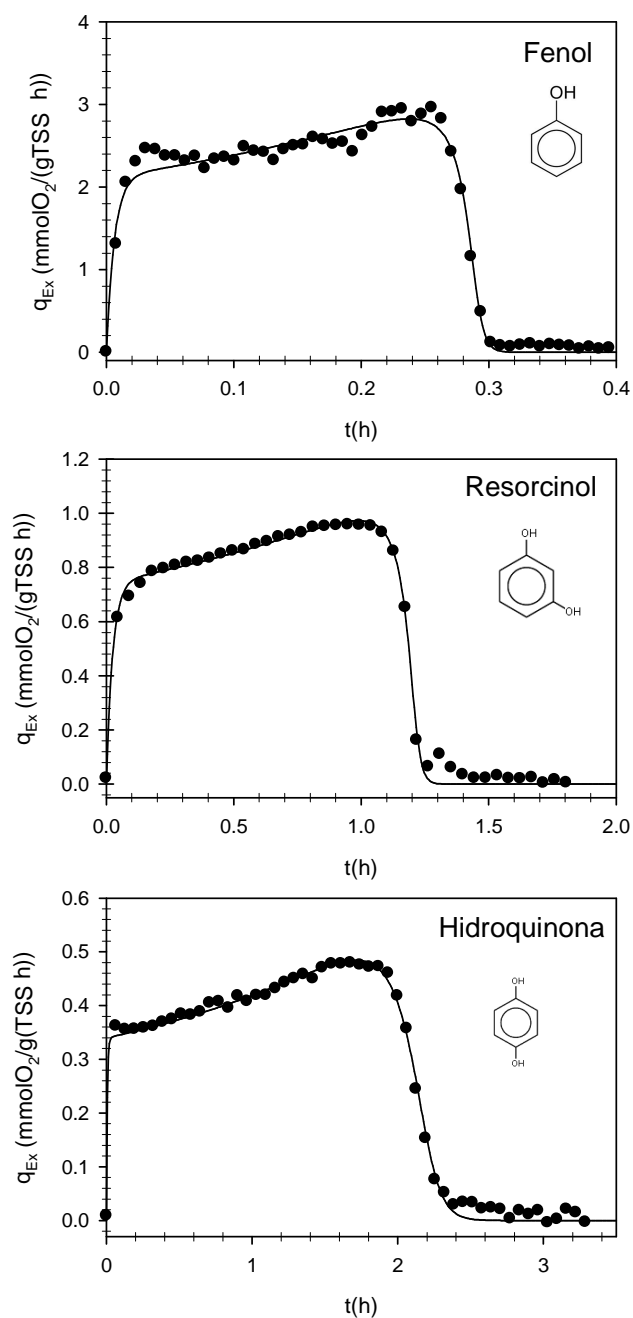


Figura 5.1. Ejemplos de velocidad específica de respiración exógena (q_{Ex}) en función del tiempo durante la biodegradación aerobia de fenol (F), resorcinol (RE) e hidroquinona (HY) por barros activados aclimatados a fenol. Las líneas continuas indican la tendencia de cada perfil de oxidación.

En la Figura 5.2 se muestran los perfiles de q_{EX} en función del tiempo obtenidos para catecol (CA) y pirogalol (PY). Como puede observarse, cuando se añadieron CA o PY al respirómetro se observó un rápido incremento q_{EX} . Luego, q_{EX} disminuyó gradualmente a un valor estable inferior y, por último, cuando el sustrato se agotó, q_{EX} retornó a cero. Mayer y Que, (1984) observaron un patrón similar con respecto a la velocidad de consumo de oxígeno durante la oxidación de PY por la enzima catecol 1,2-dioxigenasa (CA12DO). Los autores observaron un incremento en el consumo de oxígeno luego de la adición de pirogalol y a continuación, una disminución del consumo de oxígeno hasta estabilizarse en un valor inferior. El cambio en la velocidad de respiración observada por estos autores fue atribuido a la producción de intermediarios de reacción, los cuales fueron oxidados posteriormente. Asimismo, varios autores han descrito la oxidación de PY por la CA12DO (Wang y col., 2006; Matera y col., 2010).

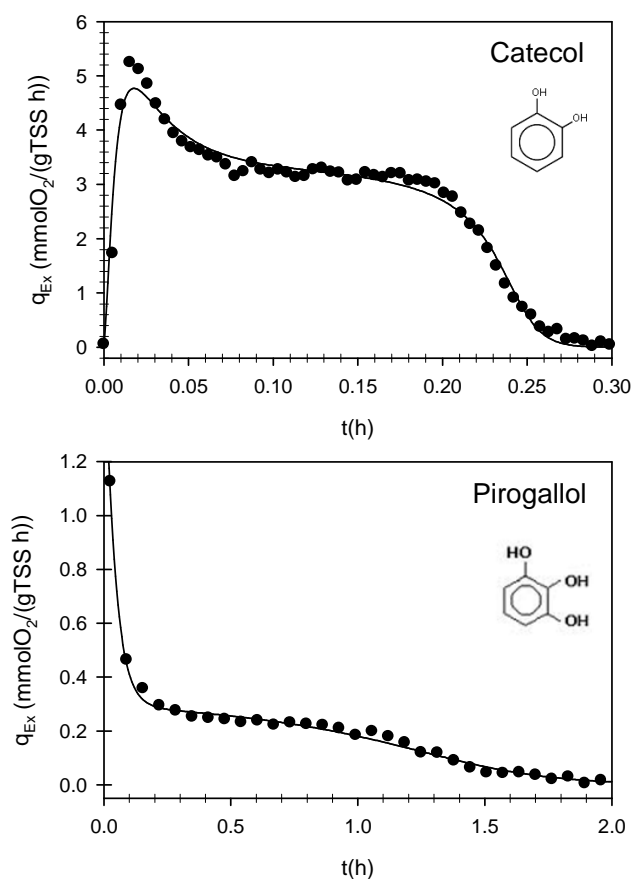


Figura 5.2. Ejemplos de velocidad específica de respiración exógena (q_{EX}) en función del tiempo durante la biodegradación aerobia de catecol (CA) y pirogalol (PY) por barros activados aclimatados a fenol. Las líneas continuas indican la tendencia de cada perfil de oxidación.

5.3.3. Cambios en la velocidad específica de respiración (q_{Ex}) durante la adición de pulsos sucesivos de compuestos fenólicos

En las Figuras 5.3 y 5.4 se muestra el efecto de las adiciones consecutivas individuales de los compuestos fenólicos sobre la velocidad de respiración de los barros activados aclimatados a fenol. En la adición de pulsos sucesivos de fenol (F) se determinó que el valor de velocidad específica máxima observable de respiración exógena (q_{Ex}^*) se incrementó durante los dos primeros pulsos. En los siguientes pulsos osciló entre 2 y 3 $\text{mmolO}_2/(\text{gSST h})$ hasta la adición del pulso número 9. A partir de dicho pulso q_{Ex}^* disminuyó gradualmente, siendo el menor valor registrado de 1.4 $\text{mmolO}_2/(\text{gSST h})$ que se correspondió al pulso # 20 de F (Fig. 5.3 a). Con respecto a resorcinol (RE), la adición de los dos primeros pulsos produjo un aumento en los valores de q_{Ex}^* . El valor máximo de q_{Ex}^* registrado fue de 0.97 $\text{mmolO}_2/(\text{gSST h})$ y se obtuvo en el pulso # 2. Al contrario de lo observado con F, en los pulsos posteriores de RE se observó una notable inhibición de la velocidad de respiración (Fig. 5.3b). Por ejemplo, en el pulso # 9 de RE, q_{Ex}^* fue aproximadamente el 30% del valor inicial. Finalmente, en el último pulso (11) el valor de q_{Ex}^* fue de 0.17 $\text{mmolO}_2/(\text{gSST h})$, el cual representa un 18% del valor máximo global (pulso 2). La Figura 5.3.c muestra que los valores de q_{Ex}^* para hidroquinona (HY) fueron aproximadamente constantes en función del pulso adicionado. Sin embargo, los valores de q_{Ex} fueron aproximadamente una décima parte de los valores obtenidos con F.

Los valores de q_{Ex} en función del número de pulsos añadidos de catecol (CA) y pirogalol (PY) se encuentran en la Figura 5.4; como puede observarse, los perfiles obtenidos fueron similares a los obtenidos con RE (Fig. 5.3b), en ambos casos, las adiciones consecutivas de CA, o PY determinaron una marcada disminución de los valores de q_{Ex}^* . En la Figura 5.4 se puede observar que los valores correspondientes a q_{Ex}^* para CA se incrementaron en los primeros tres pulsos adicionados hasta alcanzar un valor de 6 $\text{mmolO}_2/(\text{gSST h})$. Posteriormente, a partir del pulso 4 los valores de q_{Ex}^* disminuyeron y oscilaron entre 1 y 3 $\text{mmolO}_2/(\text{gSST h})$. Esto indicó que CA exhibió una fuerte toxicidad hacia su propia biodegradación. Los respirogramas obtenidos para PY fueron similares a los de CA, sin embargo, los valores de q_{Ex}^* correspondientes a PY fueron significativamente inferiores (alrededor de cinco veces más bajos) que los obtenidos con CA. Por otra parte, PY fue aún más tóxico que RE; en este caso, se obtuvo una disminución de aproximadamente el 80% del valor q_{Ex}^* cuando se añadió el pulso # 7 (Fig. 5.4b).

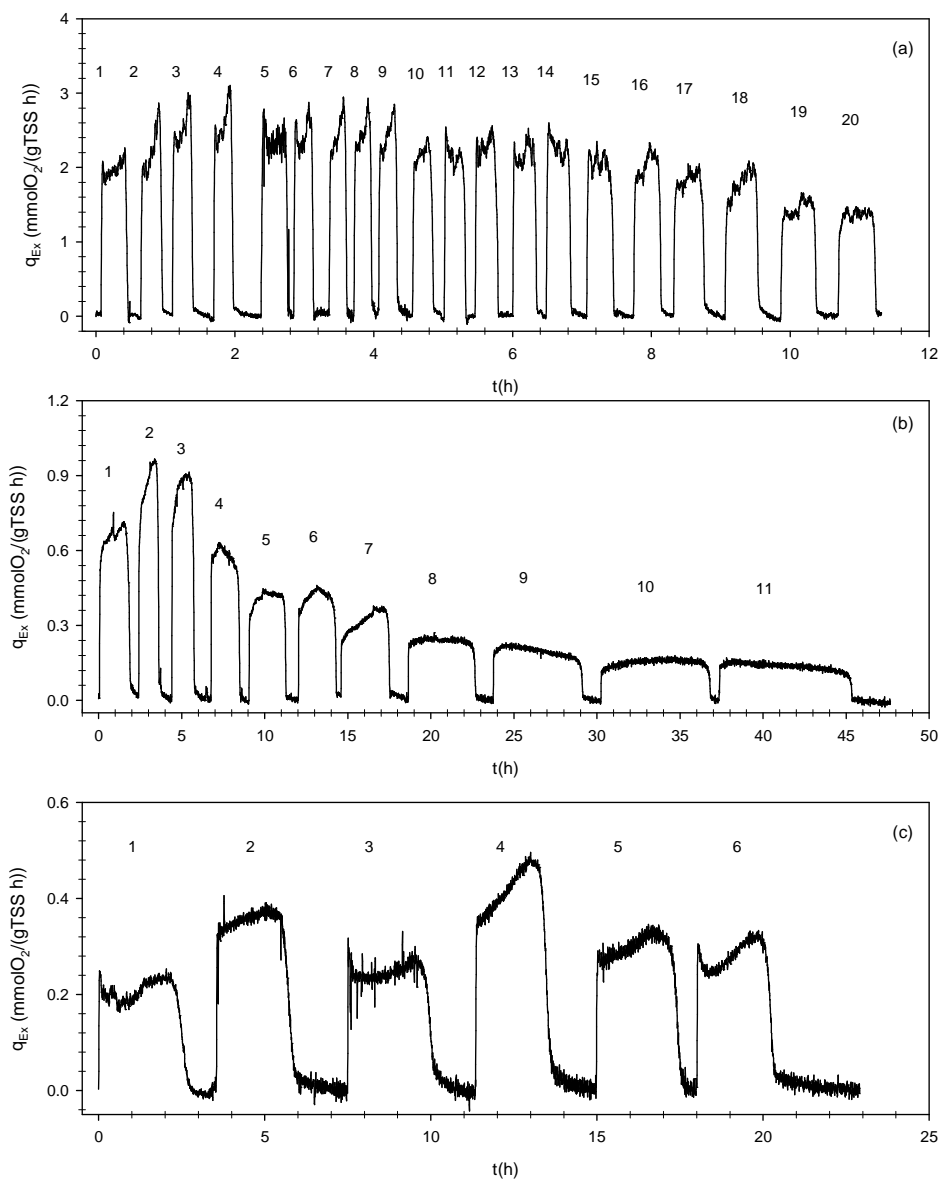


Figura 5.3. Velocidad de respiración exógena (q_{Ex}) para barros activados en función del tiempo durante la adición consecutiva de **a.** fenol, **b.** resorcinol y **c.** hidroquinona. Los números indican el número de pulso.

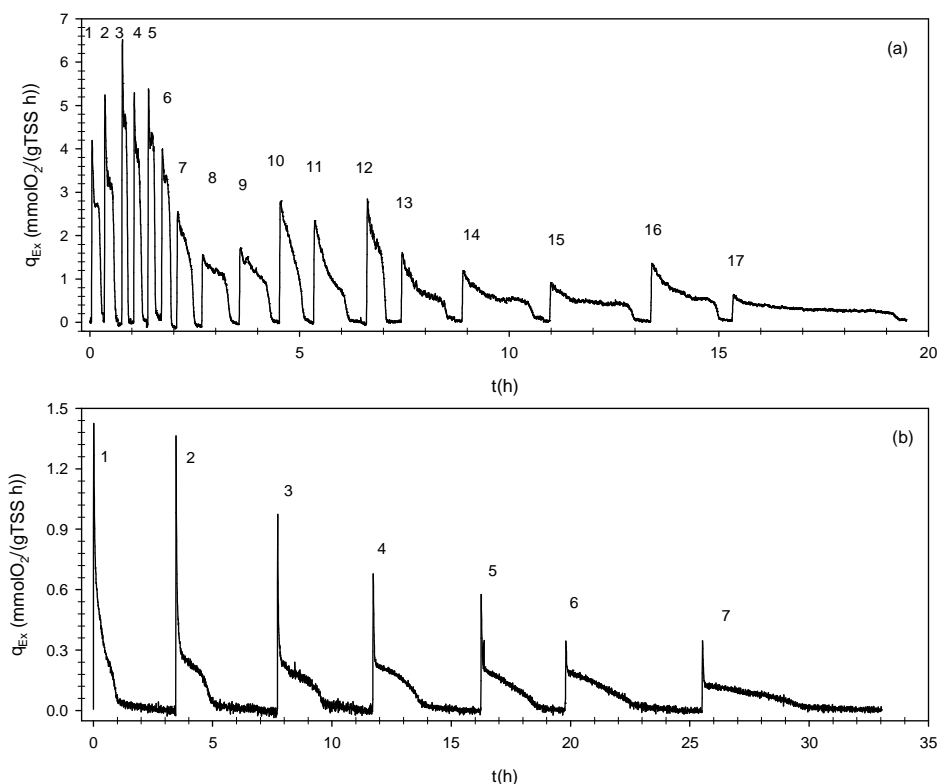


Figura 5.4. Velocidad de respiración exógena (q_{EX}) para barros activados en función del tiempo durante la adición consecutiva de **a.** catecol y **b.** pirogalol. Los números indican el número de pulso.

Teniendo en cuenta los valores de q_{EX}^* obtenidos durante los primeros pulsos (Fig. 5.3 y 5.4), los compuestos fenólicos estudiados pueden ser ordenados de la siguiente manera: $CA > F \gg PY \cong RE > HY$. Este orden de los compuestos resultó similar al informado por otros autores (Groseclose y Ribbons, 1981; Orupöld y col., 2001; Ahuatzichacón y col., 2004; Lepik y Tenno, 2011). En el caso de PY existe una amplia variabilidad respecto a lo informado sobre la velocidad de oxidación. Neujahr y Varga, (1970) estudiaron el consumo de oxígeno en una preparación de enzimática extraída de *Trichosporon cutaneum* cultivado con un medio con fenol como fuente de carbono. Estos autores encontraron que la velocidad de consumo de oxígeno en presencia de PY fue solo de un 15% de la velocidad de respiración en presencia de CA, similar a lo obtenido en este trabajo de Tesis. Asimismo, Matera y col., (2010) demostraron que la actividad de la enzima catecol 1,2-diooxigenasa (CA12DO) de *Rhodococcus opacus* con PY como sustrato fue de 15 a 25% de la actividad en presencia de CA. Por el contrario, Groseclose

y Ribbons, (1981) informaron la siguiente secuencia para la velocidad de consumo de oxígeno por *Azotobacter vinelandii*: PY >> CA > F > RE. Wang y col. (2006) encontraron que la actividad de la enzima CA12DO de *Pseudomonas aeruginosa* con PY como sustrato fue 180% de la actividad medida con CA. Estas diferencias podrían reflejar el efecto del sustrato utilizado en la aclimatación de los barros activados. Por ejemplo, en este trabajo de Tesis se utilizó fenol para alimentar el reactor de barros activados, mientras que Groseclose y Ribbons (1981) utilizaron resorcinol como fuente de carbono. Además, se debe considerar que Groseclose y Ribbons (1981) y Wang y col., (2006) realizaron los ensayos a pH 7.5, mientras que los experimentos presentados en este trabajo de se realizaron en buffer fosfato (15 mM) a pH 7. Por otra parte, Abrash y col., (1989) demostraron que PY puede reaccionar con oxígeno molecular en condiciones débilmente alcalinas para formar purpurogallina; sin embargo, los autores demostraron que esta reacción es insignificante a pH = 7. Por lo tanto, además de la diferencia antes mencionada sobre el sustrato en la alimentación, la actividad extremadamente alta informada por Groseclose y Ribbons (1981) y Wang y col., (2006) también podría reflejar la oxidación no enzimática de PY.

Las velocidades específicas de respiración exógena máximas observables (q_{Ex}^*) correspondientes a los compuestos analizados se encuentran dentro del rango informado por otros autores. Yoong y col., (2000) informaron que los valores de q_{Ex}^* variaron desde 0.7 hasta 1.4 mmolO₂/(gSST h) para las muestras de barros activados cultivadas en un reactor discontinuo secuencial con fenol como fuente de carbono. Tallur y col., (2008) estudiaron la oxidación de varios compuestos fenólicos por *Micrococcus*; estos autores encontraron valores de q_{Ex}^* de 4.2 y 4.8 mmolO₂/(gSST h) durante el consumo de F y CA, respectivamente. Viggor y col., (2008) informaron valores de q_{Ex}^* que variaron desde 4.5 hasta 22.8 mmolO₂/(gSST h) durante la degradación de fenol por diferentes especies de *Pseudomonas*.

Pramparo y col., (2012) estudiaron la biodegradación aeróbica de CA, RE, e HY mediante barros activados aclimatados a p-nitrofenol. Estos autores midieron valores de q_{Ex}^* de aproximadamente 0.3 mmolO₂/(gSST h) para CA, los cuales fueron menores a los obtenidos en el presente trabajo. Esta diferencia puede atribuirse al sustrato utilizado para aclimatar la biomasa en cada caso, p-nitrofenol (Pramparo y col., 2012) o fenol (en este trabajo de Tesis). El primer paso de la biodegradación aeróbica de F es su hidroxilación a CA (Ellis y col., 2006). Sin embargo, de acuerdo con Spain y Gibson, (1991), la biodegradación de p-nitrofenol comienza con su conversión a HY, no a CA. Por esta

razón, los valores q_{Ex}^* de barros aclimatados a p-nitrofenol fueron mucho más bajos que los correspondientes a los barros aclimatados fenol utilizados en el presente trabajo de Tesis.

5.3.4. Efecto de los pulsos sucesivos de sustrato sobre de la velocidad específica de degradación

La Figura 5.1 sugiere una dependencia tipo Haldane para q_{Ex} en función de la concentración de F, RE e HY. Sin embargo, la Figura 5.2 sugiere que el modelo de Haldane no es aplicable a los respirogramas obtenidos para CA y PY. Además, debido a que las mediciones de concentración de oxígeno disuelto (C) tienen un cierto error aleatorio debido a diferentes factores tal como se comentó en la sección 4.4.5 del Capítulo 4, el término de la derivada (dC/dt) introduce un error importante en la estimación de q_{Ex}^* . Por estas razones, las Figuras 5.1 y 5.2 muestran que los perfiles respirométricos correspondientes a los compuestos fenólicos estudiados no son fácilmente comparables entre sí, en particular con respecto al valor máximo q_{Ex} para cada pulso. Por lo tanto, para evaluar el efecto tóxico de los compuestos fenólicos hacia su propia biodegradación se empleó la velocidad específica media de consumo de sustrato (q_{Smedia}).

Como se comentó en la sección 4.3.2 (Capítulo 4), cuando se añade un sustrato oxidable (fenol) al respirómetro, se observa un aumento de la velocidad de respiración; una vez que la degradación del sustrato se lleva a cabo, la velocidad de respiración disminuye a un valor cercano al observado antes del pulso. De esta forma, el tiempo total de degradación (t_d) puede ser definido como el intervalo de tiempo entre el aumento y la disminución de la velocidad de respiración. Este método fue adoptado por Buitron y col., (2005) como una estrategia de control para optimizar el tiempo de reacción en un reactor biológico secuencial en base a los perfiles de C.

Si se conoce la concentración de sustrato agregada (S_0), entonces la velocidad específica media de consumo de sustrato (q_{Smedia}) se puede calcular de la siguiente manera:

$$q_{Smedia} = \frac{S_0}{t_d X} \quad (5.1)$$

donde X es la concentración de biomasa en el respirómetro.

Mientras q_{Ex}^* depende de la forma (por ejemplo, de la cinética) de un perfil respirométrico y de la precisión de la señal obtenida, q_{Smedia} es un coeficiente más robusto para medir la actividad específica de consumo de los sustratos estudiados, ya que sólo depende del tiempo total de degradación. Por otra parte, en algunos casos los perfiles obtenidos de q_{Ex} varían según el compuesto añadido, lo que hace muy difícil la comparación de q_{Ex}^* entre diferentes compuestos fenólicos. En la Tabla 5.1 se encuentran las velocidades específicas de consumo de sustrato medias obtenidas durante el primer pulso ($q_{Smedia1}$). A partir de estos valores de $q_{Smedia1}$ los compuestos fenólicos estudiados se pueden ordenar de la siguiente manera: CA > F >> PY \cong RE > HY, en concordancia con la secuencia obtenida previamente (sección 5.3.3).

Tabla 5.1. Velocidad específica de consumo de sustrato media durante el primer pulso ($q_{Smedia1}$), concentración de sustrato acumulada que produce 50% de inhibición (IC50), y coeficientes de oxidación ($Y_{O/S}$) correspondientes a la degradación aeróbica de los diferentes compuestos fenólicos por barros activados aclimatados a fenol

| Compuesto Fenólico | $q_{Smedia1}^{(a)}$ (mmolS/(gTSS h)) | IC50 (mM) | $Y_{O/S}$ (molO ₂ /molS) |
|-----------------------|---|--------------|--|
| Catecol | 3.44 | 7.5 | 0.81 - 1.70 ^(b) |
| Fenol | 1.21 | n.a. | 1.57 ± 0.07 ^(c) |
| Pirogalol | 0.29 | 2.0 | 1.49 ± 0.09 ^(c) |
| Resorcinol | 0.27 | 8.0 | 2.00 ± 0.11 ^(c) |
| Hidroquinona | 0.13 | n.a. | 2.06 ± 0.41 ^(c) |

(a) valor de $q_{Smedia1}$ correspondiente a la adición del primer pulso del compuesto estudiado

(b) rango de valores obtenidos para los valores de $Y_{O/S}$ de CA

(c) media ± intervalo de confianza para 95% de intervalo de confianza.

n.a.: no aplicable

La Figura 5.5 muestra el efecto de la concentración acumulada de sustrato sobre q_{Smedia} correspondiente a los compuestos fenólicos estudiados; a efectos de comparación, los resultados se expresaron como porcentaje del valor correspondiente al primer pulso ($q_{Smedia1}$). Como puede observarse, PY fue el compuesto fenólico estudiado más tóxico, en

este caso, la concentración acumulada de sustrato necesaria para reducir al 50% la velocidad específica de consumo de sustrato (IC50) fue 2 mM (Fig. 5.5). Por otra parte, la toxicidad de CA fue menor que la observada para PY, en este caso la IC50 fue aproximadamente 7 mM.

Las enzimas que catalizan la oxidación de CA y PY son catecol 1,2-diooxigenasa (CA12DO) y 2,3-diooxigenasa (CA23DO) (Matera et al., 2010). Dos mecanismos de inactivación de las diooxigenasas se pueden encontrar en la literatura. Según el mecanismo propuesto por Mayer y Que (1984) la enzima CA12DO se inactiva debido a la formación de un intermediario oxidado de PY y el grado de inactivación se incrementa en función del aumento de PY oxidado. Por otro lado, Vaillancourt y col., (2002) propusieron un mecanismo general para la inactivación de diooxigenasas por sustratos catecólicos: durante el ciclo catalítico el complejo ternario intermedio (enzima-sustrato-oxígeno) se disocia liberando superóxido y provocando la oxidación del sitio activo de Fe(II) a Fe(III) (forma inactiva de la enzima). En el presente trabajo de Tesis, cuando se añadió PY al respirómetro estos dos mecanismos podrían ser responsables de la inactivación de la enzima y la disminución de la actividad respiratoria. Sin embargo, cuando se probó CA, PY estaba ausente de la mezcla de reacción y sólo el mecanismo de inactivación O₂-dependiente podría ejercer la inhibición; esta diferencia podría explicar la menor toxicidad de CA en comparación con PY.

La Figura 5.5 muestra que la toxicidad de RE fue similar a la obtenida por CA; en este caso, IC50 fue aproximadamente 8 mM. En principio, este resultado parece bastante sorprendente ya que RE fue utilizado por otros autores como un sustrato modelo durante el estudio del mecanismo de la reacción de fenol 2-monooxigenasa (FMO) (Maeda-Yorita y Massey, 1993). Sin embargo, hay que señalar que el producto de la hidroxilación de RE por FMO es 1,2,4-bencenotriol (BTOL). Aunque BTOL podría ser oxidado por la enzima hydroxyquinol 1,2-diooxigenasa para producir 3-hidroxi-cis,cis-muconato, esta enzima no puede ser inducida por el fenol (Eppink et al., 1997), el cual fue el sustrato empleado en la aclimatación de los barros activados en el presente trabajo. De acuerdo con Kawanishi y col., (1989), la auto-oxidación de BTOL en presencia de trazas de Cu(II) produce hidroxiquinona, la cual se oxida nuevamente para producir una especie activa no identificada, la cual sería la verdadera responsable de la toxicidad de BTOL. Debido a que el medio empleado en los ensayos respirométricos contenía cantidades traza de micro elementos como Cu(II), la inhibición de la velocidad de degradación de RE en función de la concentración acumulada de RE (Fig. 5.5) podría ser debida a la toxicidad de BTOL

informada por Kawanishi y col., (1999). Es importante destacar que en todos los ensayos realizados, los valores finales de DQO soluble fueron constantes y cercanos a cero. Esto indicó que todos los procesos antes mencionados fueron o bien intracelulares o se produjeron en la superficie celular.

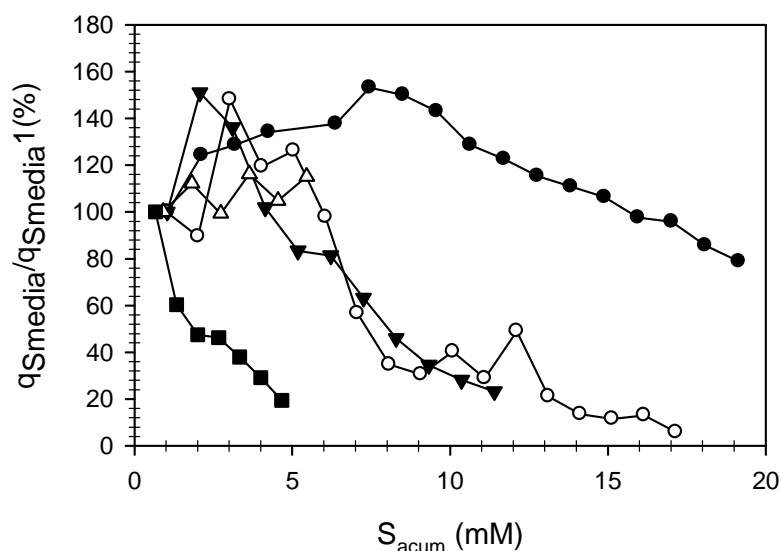


Figura 5.5. Efecto de la acumulación de la concentración de sustrato acumulada (S_{acum}) sobre la velocidad específica de degradación media (q_{Smedia}): (●) fenol, (○) catecol, (▼) resorcinol, (Δ) hidroquinona, (■) pirogalol. Para cada compuesto fenólicos los resultados fueron expresados como porcentaje correspondiente al valor de velocidad de degradación específica media del primer pulso ($q_{Smedia1}$).

La Figura 5.5 muestra que los cambios en q_{Smedia} correspondientes a F e HY en función de la concentración acumulada de sustrato (S_{acum}) fueron similares a la tendencia de q_{Ex} en función del número de pulsos añadido (Fig. 5.3b, c; sección 5.3.3). En comparación con PY, CA, y RE, F fue menos tóxico; el menor valor obtenido de q_{Smedia} correspondiente a F fue 70% del valor inicial. Contrariamente a los otros compuestos fenólicos analizados, se observó un ligero aumento de q_{Smedia} en función de la HY añadida. Durante la aclimatación de los barros activados, la única fuente de carbono presente en el medio fue F y por lo tanto, es esperable que las oxigenasas de la vía de degradación aeróbica de fenol (por ejemplo, FMO) se hayan expresado activamente (Ahuatzi-Chacón et al, 2004; Mazzoli et al, 2007). En estas condiciones, HY debe ser fácilmente oxidado por FMO para producir BTOL, el cual es un fuerte agente tóxico, tal

como se comentó anteriormente. Sin embargo, el aumento de $q_{S\text{media}}$ (Fig. 5.5) durante la adición de pulsos sucesivos de HY podría haber inducido la expresión de enzimas de la vía de degradación aerobia de HY, como por ejemplo la hidroquinona 1,2-dioxigenasa (HY12DO). La oxidación de HY por HY12DO produce semialdehído 4-hydroxymuconico, que finalmente entra al ciclo de los ácidos tricarbóxicos sin producir una toxicidad significativa (Zhang y col., 2012).

5.3.5. Coeficiente de oxidación ($Y_{O/S}$) de los compuestos fenólicos estudiados

En la Figura 5.6 se encuentran los valores de $Y_{O/S}$ en función de la concentración acumulada de cada compuesto estudiado. Esta Figura muestra que los resultados fueron muy sensibles a los errores experimentales. Por ello, en lugar de calcular los valores de $Y_{O/S}$ como el cociente entre el oxígeno total consumido (OC_T) y la concentración de sustrato agregado en cada pulso (S_0), se calculó $Y_{O/S}$ como la pendiente de la recta de oxígeno consumido acumulado (OC_{acum}) en función de la concentración acumulada de sustrato (S_{acum}). En la Figura 5.7 se puede observar claramente que los valores de $Y_{O/S}$ correspondientes a F, PY, RE, e HY fueron constantes en función de la concentración de S_{acum} . Sin embargo, el $Y_{O/S}$ correspondiente a CA aumentó de 1 a 1.5 molO₂/molCA cuando S_{acum} de CA fue mayor a 10 mM (Fig. 5.2).

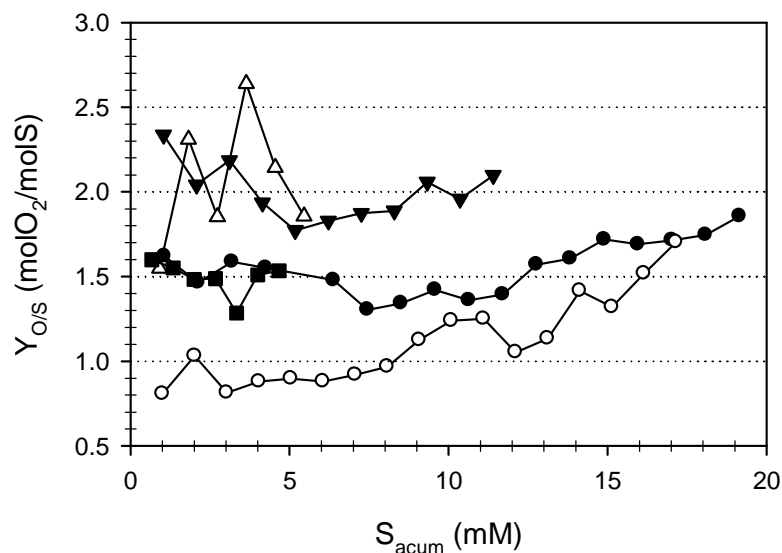


Figura 5.6. Coeficiente de oxidación ($Y_{O/S}$) en función de la concentración de sustrato acumulada: (●) fenol, (○) catecol, (▼) resorcinol, (Δ) hidroquinona, (■) pirogalol.

Los coeficientes de oxidación ($Y_{O/S}$) correspondientes a los compuestos fenólicos estudiados en el presente trabajo de Tesis (Tabla 5.1) se encuentran dentro del rango informado por otros autores. Por ejemplo, Orupold y col., (2001) estudiaron la oxidación de varios compuestos fenólicos por barros activados; esos autores encontraron para $Y_{O/S}$ valores de 2.6 ± 0.4 , 1.5 ± 0.1 y 1.5 ± 0.1 molO₂/mol para F, CA, y RE, respectivamente. Divari y col., (2003) informaron un valor de 1.6 molO₂/mol durante la oxidación F por FMO en *Acinetobacter radioresistens* S13. Lepik y Tenno, (2011) estudiaron la degradación aeróbica de F y RE por barros activados aclimatados a un agua residual industrial, los autores informaron valores para $Y_{O/S}$ de 2.0 y 1.4 molO₂/mol para el F y RE, respectivamente. No se encontraron datos en la literatura con respecto a la biodegradación aeróbica de PY.

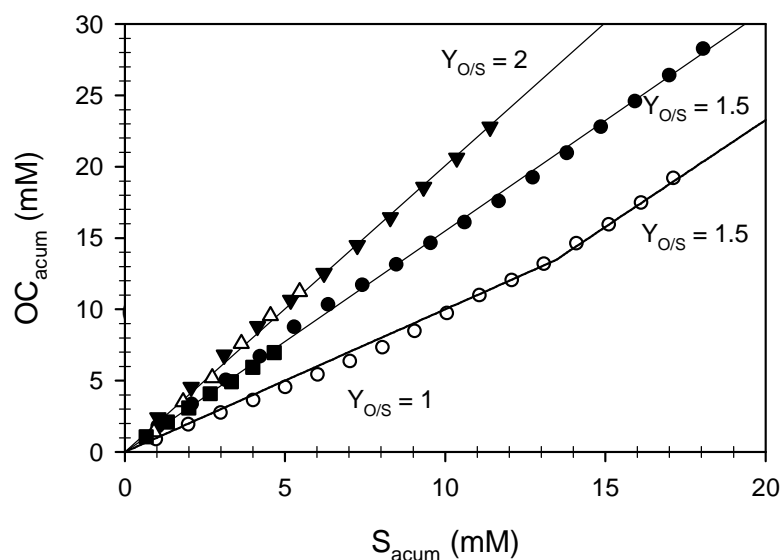


Figura 5.7. Oxígeno consumido acumulado en función de la concentración de sustrato acumulada: (●) fenol, (○) catecol, (▼) resorcinol, (Δ) hidroquinona, (■) pirogalol.

5.4. Oxidación biológica de mezclas de compuestos fenólicos

5.4.1. Ensayo experimental

En los ensayos experimentales se utilizaron barros activados aclimatados a 300 mg/L de fenol (sección 5.3.1). Por medio de respirometría abierta (sección 2.4.2, Capítulo

2) se determinó la velocidad de respiración (R_{ex}) asociada a la oxidación de mezclas de compuestos fenólicos. Se estudió la oxidación conjunta de fenol (F), catecol (CA), resorcinol (RE) e hidroquinona (HY). Se realizó el siguiente esquema de agregado de pulsos: F, CA y la mezcla F+CA. Por otro lado: F, RE y la mezcla F+RE y F, HY y la mezcla F+HY. Las concentraciones iniciales adicionadas tanto en pulsos individuales como en mezclas fueron 1 mM para F, 0.45 mM para CA, RE e HY.

5.4.2. Cambios en la velocidad específica de respiración durante la biodegradación de mezclas de compuestos fenólicos

En la Figura 5.8 se encuentran los perfiles de concentración de oxígeno disuelto (C) y velocidad específica de respiración exógena (q_{Ex}) en función del tiempo para los ensayos realizados con F y CA. La Figura 5.8b muestra que los valores correspondientes a q_{Ex} para CA fueron mayores que los obtenidos para F. Sin embargo, cuando se adicionó la mezcla F+CA, los valores máximos de q_{Ex} fueron similares a los obtenidos para CA. Este resultado indica que el perfil correspondiente a la mezcla no pudo ser representado como la suma de los perfiles individuales de F y CA. Además, los resultados presentados en la Figura 5.8 sugieren que CA inhibió la metabolización de F; por esta razón una vez que la concentración de CA fue inferior a cierto valor crítico, esta baja concentración de CA permitió la metabolización de F.

Las Figuras 5.9 y 5.10 muestran los perfiles de concentración de oxígeno disuelto y q_{Ex} para los ensayos realizados con mezclas de F+RE y F+HY, respectivamente. Como puede observarse, los valores máximos correspondientes a q_{Ex} para las mezclas F+RE y F+HY fueron similares a los obtenidos para F individualmente. En ambos casos, el perfil de la mezcla no pudo ser representado como la suma de los perfiles respirométricos individuales de cada compuesto. Además, se observó que la metabolización de F fue más rápida que la obtenida para RE o HY. Así, se pudo establecer que cuando se adicionó la mezcla binaria de compuestos fenólicos, el sustrato que se metabolizó más rápido tendió a inhibir la metabolización del otro compuesto.

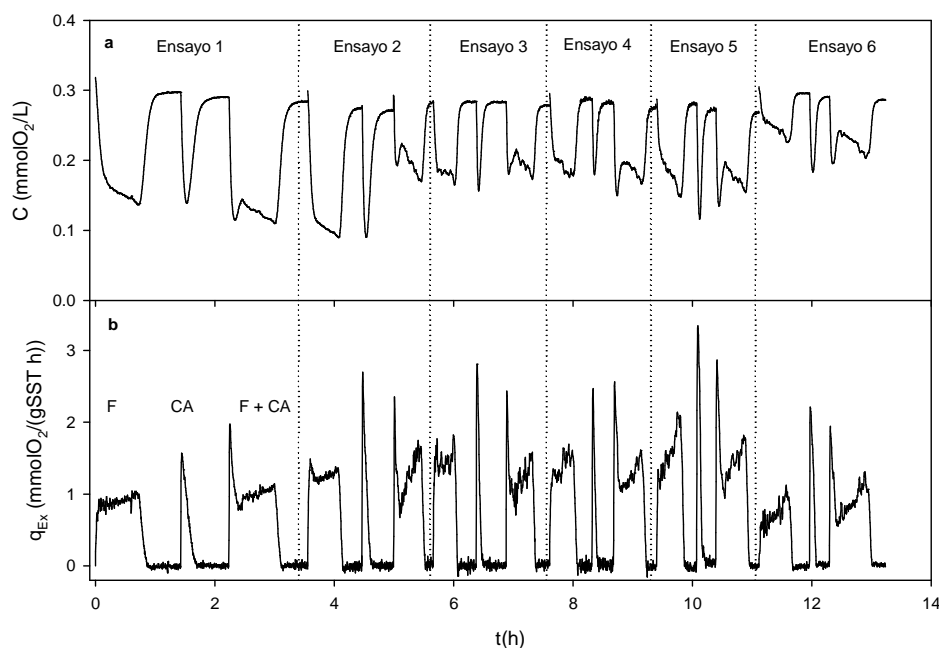


Figura 5.8. a. Concentración de oxígeno disuelto (C) en función del tiempo y b. velocidad específica de respiración exógena (q_{Ex}) para barros activados en función del tiempo durante la adición consecutiva de fenol (F), catecol (CA) y mezclas de fenol+catecol (F+CA).

Las Figuras 5.8 a 5.10 muestran que para todos los compuestos analizados, la velocidad de respiración de los barros aclimatados a fenol fue aproximadamente constante en función del número de ensayo. En la sección 5.3 del presente Capítulo se observó que la adición de pulsos sucesivos de F e HY no tuvo un efecto significativo sobre la velocidad de respiración de estos sustratos (Fig. 5.3). Por otra parte, se observó que la concentración acumulada de CA y RE para reducir un 50% las velocidades de consumo de estos sustratos (IC_{50}) fueron 7.5 y 8.0 mM, respectivamente (Tabla 5.1). En los ensayos realizados con las mezclas la concentración acumulada de CA y RE fue 5.4 mM, la cual es inferior al valor de IC_{50} correspondiente a estos compuestos. Además, en cada ensayo las adiciones de CA y RE fueron seguidas por la adición de F, el cual podría tener un efecto protector contra la toxicidad de estos compuestos. Por ello, no se observó un efecto significativo de las adiciones sucesivas de CA o RE sobre los valores de q_{Ex} para estos sustratos.

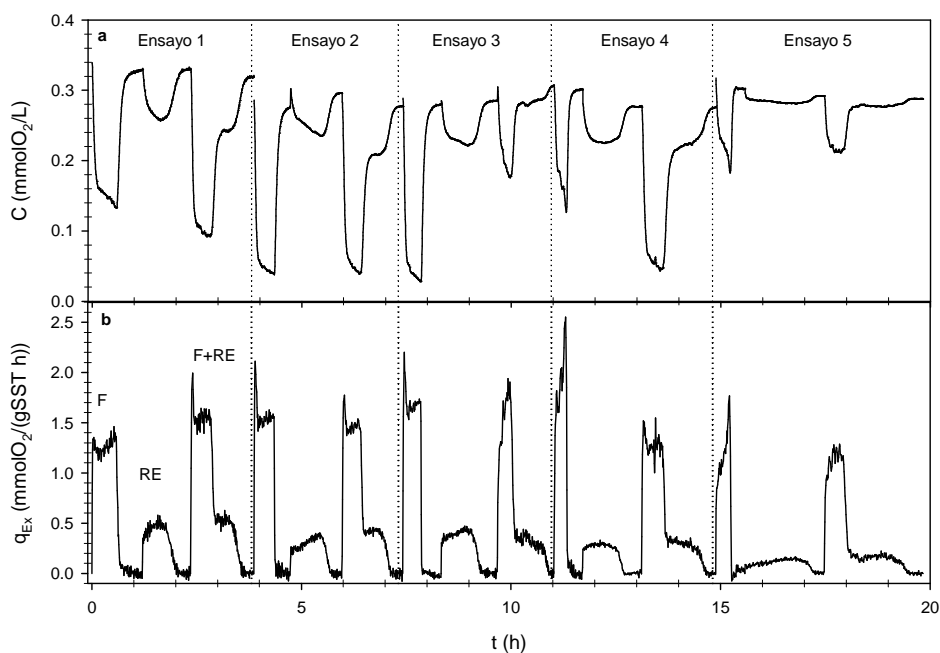


Figura 5.9. a. Concentración de oxígeno disuelto (C) en función del tiempo y b. velocidad de respiración exógena (q_{Ex}) para barros activados en función del tiempo durante la adición consecutiva de fenol (F), resorcinol (RE) y mezclas de fenol+resorcinol (F+RE).

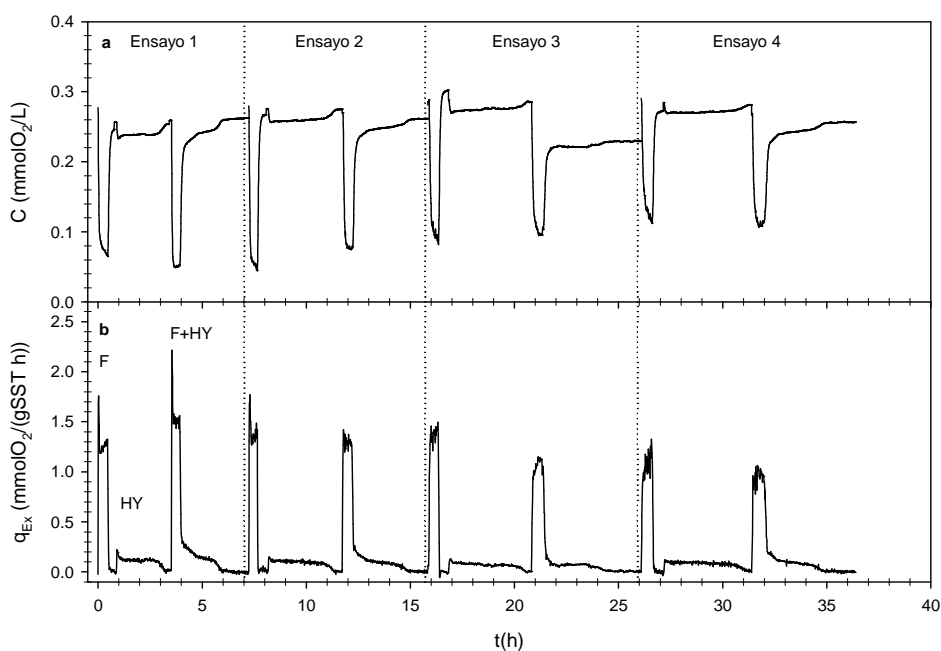


Figura 5.10. a. Concentración de oxígeno disuelto (C) en función del tiempo y b. velocidad de respiración exógena (q_{Ex}) para barros activados en función del tiempo durante la adición consecutiva de fenol (F), hidroquinona (HY) y mezclas de fenol+hidroquinona (F+HY).

5.4.3. Determinación del oxígeno consumido durante la oxidación de mezclas de compuestos fenólicos

En base a los respirogramas presentados en las Figuras 5.8 a 5.10, se determinó el oxígeno consumido (OC) durante la oxidación individual de los compuestos fenólicos (F, CA, RE e HY) y para las mezclas de F+CA, F+RE Y F+HY a partir de la ecuación 2.11 del Capítulo Materiales y Métodos. Luego, la concentración acumulada de oxígeno consumido para las mezclas binarias fue calculada como la suma de todos los valores de OC obtenidos (Sum(OC)). En la Figura 5.11a, c y e se muestra que los valores de Sum(OC) se incrementaron linealmente en función de la concentración acumulada de sustrato en mezclas binarias (Sum(S)). Como se observó previamente en la sección 5.3.5, para la adición de pulsos sucesivos individuales, se puede calcular Sum(OC) como el producto entre la concentración acumulada de sustrato adicionada (Sum(S)) y el correspondiente coeficiente de oxidación ($Y_{O/S}$). Sin embargo, para aplicar este método a la oxidación de mezclas binarias se debe asumir que aunque un sustrato dado podría afectar a la velocidad de oxidación del otro sustrato presente en la mezcla, ambos coeficientes de oxidación no son afectados por la presencia de otro sustrato. En otras palabras, suponiendo que la presencia de un segundo sustrato sólo afecta a la cinética, pero no la estequiometría de la reacción de oxidación, el término Sum(OC) correspondiente a la mezcla binaria compuesta por F y un cierto compuesto S se puede calcular de la siguiente manera:

$$Sum(OC)_{calculado} = Y_{O/F} * Sum(F) + Y_{O/S} * Sum(S) \quad (5.2)$$

donde S representa CA, RE o HY, $Y_{O/F}$ es el coeficiente de oxidación para fenol y $Y_{O/S}$ es el coeficiente de oxidación para CA, RE o HY. Empleando el coeficiente de oxidación correspondiente a cada compuesto que se muestran en la Tabla 5.1, se calculó el oxígeno acumulado mediante la ec.(5.2). La Figura 5.11 muestra que la ecuación 5.2 predijo adecuadamente el oxígeno consumido debido a la oxidación de los compuestos fenólicos probados y de las mezclas binarias compuestas por el F y CA, RE o HY. Además, el 78% de los valores calculados de Sum(OC) estaban dentro de $\pm 15\%$ de los valores experimentales, siendo -19% y $+26\%$ las desviaciones relativas mínimo y máximo, respectivamente. Estos resultados indican que dentro del error experimental, los coeficientes de oxidación correspondientes a F, CA, RE, e HY (Tabla 5.1.) se pueden

considerar independientes con respecto a la presencia de otro compuesto fenólico en una mezcla binaria.

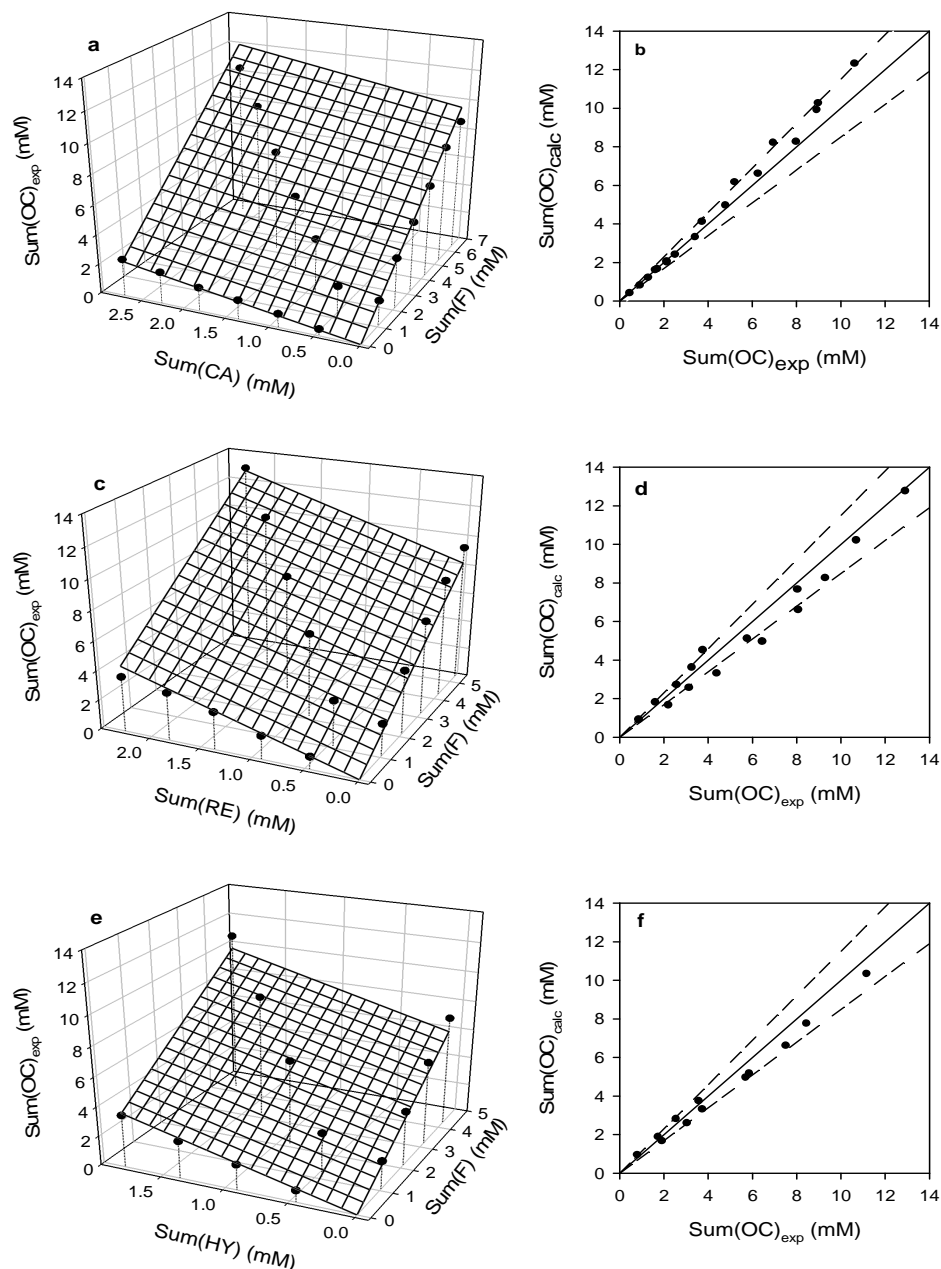


Figura 5.11. Oxígeno consumido acumulado (OC) en función de la concentración de sustrato acumulada: **a.** F y CA. **c.** F y RE y **e.** F e HY. Oxígeno consumido acumulado experimental ($\text{Sum}(\text{OC})_{\text{exp}}$) en función del oxígeno consumido acumulado calculado ($\text{Sum}(\text{OC})_{\text{calc}}$) empleando la ec.(5.2) con los coeficientes de la Tabla 5.1: **b.** F y CA. **d.** F y RE. **f.** F e HY. Las líneas continuas indican la correlación perfecta ($x = y$); las líneas punteadas representan la banda correspondiente a $\pm 15\%$ de los valores experimentales.

5.5. Conclusiones del capítulo

- Se demostró que los barros activados aclimatados a 300 mg/L de fenol fueron capaces no solo de oxidar biológicamente fenol, sino también otros compuestos fenólicos. Los barros activados aclimatados a fenol oxidaron catecol, resorcinol, pirogalol e hidroquinona individualmente y en forma conjunta como mezclas fenol+catecol (F+CA), fenol+resorcinol (F+RE) y fenol+hidroquinona (F+HY).

- En la oxidación de pulsos individuales sucesivos de CA, RE, y PY se observó un decrecimiento en la velocidad de degradación en función del sustrato acumulado. El compuesto que presentó mayor grado de toxicidad hacia su propia degradación fue PY. En el caso de F e HY la velocidad de degradación se mantuvo aproximadamente constante en función del sustrato acumulado.

- Mientras que los coeficientes de oxidación ($Y_{O/S}$) correspondientes a F, RE, PY e HY fueron constantes, se observó un aumento del coeficiente de oxidación durante las adiciones repetidas de CA.

- En la oxidación conjunta de mezclas F+CA y F+RE la velocidad específica de respiración exógena (q_{EX}) se mantuvo aproximadamente constante, debido a que las concentraciones adicionadas de CA y RE fueron inferiores a los IC50 para estos compuestos. Además, la adición de fenol pudo tener un efecto protector. Por otra parte, cuando se adicionaron mezclas F+HY no se observó efecto significativo sobre q_{EX} , este comportamiento fue similar a lo observado sobre la velocidad de degradación en función del sustrato acumulado para pulsos individuales de F e HY.

- Se determinó que la suma de los perfiles respirométricos de los pulsos individuales no representaban el perfil obtenido durante la oxidación de las mezclas. Se observó que frente a la adición de la mezcla binaria el compuesto que se metabolizó más rápido inhibió la metabolización del otro compuesto. Así, se pudo establecer que para la mezcla F+CA, CA se oxidó primero que F. En cambio, en mezclas F+RE y F+HY, se oxidó primero F.

- Finalmente, se observó que la presencia de un segundo sustrato sólo afecta a la cinética, pero no la estequiometría de la reacción de oxidación. Por ello, en todas las mezclas binarias analizadas se puede calcular el oxígeno consumido como el producto entre la concentración acumulada de sustrato adicionada ($\text{Sum}(S)$) y el correspondiente coeficiente de oxidación ($Y_{O/S}$) de cada compuesto adicionado, al igual que en los pulsos individuales.



**VARIACIÓN DE LA
CONCENTRACIÓN DE
BIOMASA EN REACTOR DE
BARROS ACTIVADOS Y
REACTOR HÍBRIDO EN
FUNCIÓN DE CAMBIOS EN
LAS CONDICIONES DE
OPERACIÓN**

6.1 Consideraciones generales

En los Capítulos anteriores se analizaron aspectos relacionados al efecto de cambios de sustrato de alimentación del reactor de barros activados sobre la cinética de degradación y oxidación de compuestos fenólicos y suero de queso. En el sistema tradicional de barros activados, los microorganismos responsables de la degradación están en suspensión y deben ser parcialmente recuperados y reciclados al reactor para el buen funcionamiento del proceso. Esto genera que frente a cambios en la composición microbiana (por ejemplo, variaciones en el tiempo de residencia celular), se alteren las propiedades de sedimentabilidad y se dificulte la separación de la biomasa del efluente tratado.

Una forma de maximizar la retención de biomasa en el reactor es disminuyendo su salida con el efluente tratado. Esto puede lograrse inmovilizando la biomasa sobre un soporte sólido el cual no sea eliminado con el efluente tratado a la salida del reactor. Para ello, existen diferentes configuraciones de reactores con un material de empaque en el cual los microorganismos pueden adherirse (Busca y col., 2008). Por otro lado, existe otro tipo de sistema en el cual se combina la biomasa en suspensión y la biomasa fija a un soporte (Rodgers y Zhan, 2003). En estos sistemas, denominados híbridos, los microorganismos responsables de la eliminación de los compuestos presentes en las aguas residuales están tanto en suspensión como unidos a algunas superficies sólidas inertes, tales como piedras, arena, carbón activado, espumas de plástico o soportes de polipropileno (Gavrilescu y Macoveanu, 2000). En los reactores híbridos aerobios el movimiento de los sólidos se realiza mediante la aireación, mientras que en los procesos anaerobios el mezclado y la turbulencia se suministran mediante un mezclador. El sistema de reactores híbridos se ha utilizado en el tratamiento de una amplia variedad de efluentes líquidos tales como: aguas residuales domésticas para la remoción de nitrógeno (Rusten y col., 1995), pulpa de papel (Rusten y col., 1994), aguas residuales de industria láctea (Rusten y col., 1996) y para la eliminación de compuestos farmacéuticos tales como antiinflamatorios (Falås y col., 2012).

Un parámetro clave en este tipo de tratamiento es el proceso de difusión de sustratos en el interior de la biomasa adherida. Para ello, en estos sistemas se utiliza una elevada turbulencia la cual permite disminuir el espesor de la biomasa adherida por efecto

de rotura mecánica. Así, la disminución en el espesor de la biomasa adherida favorece a una mayor penetración del sustrato hasta la base del mismo.

Algunas de las ventajas que presenta este tipo de sistemas son el incremento en la concentración de biomasa y por lo tanto, una mayor eficiencia del tratamiento manteniendo constante el volumen del reactor (Jianlong y col., 2000). Asimismo, debido a que parte de la biomasa queda retenida en el reactor (la biomasa adherida al soporte), se puede reducir el tamaño de los sedimentadores secundarios con el consiguiente ahorro en costos de construcción. Por otro lado, se reduce la recirculación de lodos, se favorece el desarrollo de una biomasa adherida especializada para degradar los compuestos presentes en el agua residual y se optimiza la separación de la biomasa (Ødegaard. y col., 1994).

En algunos casos se ha demostrado que el empleo de un soporte con biomasa adherida incrementa la capacidad del reactor para tratar aguas residuales en presencia de compuestos tóxicos (Abu-Salah y col., 1996; Xing y col., 2000). Sin embargo, existe poca información relacionada a la influencia de los tiempos de residencia celular y tipo de sustrato sobre la eficiencia del empleo de reactores híbridos frente al sistema tradicional de barros activados.

6.2 Objetivos

- Estudiar el efecto del tiempo de residencia celular y del tipo de alimentación sobre la concentración de biomasa en un reactor semicontinuo de barros activados.
- Evaluar y comparar la efectividad de reactores biológicos híbridos con relación al sistema tradicional (barros activados) en el tratamiento de aguas residuales.
- Estudiar la influencia del tiempo de residencia celular y el tipo de sustrato en la generación de biomasa adherida en reactores híbridos.
- Analizar la estabilidad de la biomasa generada en suero de queso en un reactor híbrido en función del agregado de un sustrato tóxico (fenol).

6.3. Efecto del tiempo de residencia celular y el tipo de sustrato de alimentación en el desempeño de un reactor semicontinuo de barros activados

6.3.1. Ensayo experimental

En el estudio de la variación de la concentración de biomasa en el sistema de barros activados, se utilizaron barros alimentados con suero de queso y aclimatados a 300 mgF/L. Los reactores utilizados, las condiciones de operación y la composición de cada medio de cultivo se encuentran en la sección 2.1 y 2.2 del Capítulo 2 Materiales y Métodos. Se estudiaron los siguientes tiempos de residencia celular (θ_c): 45, 40, 20 y 10 días, mediante la realización de purga directa de la biomasa presente en el reactor. El volumen de purga fue ajustado según el θ_c estudiado, para ello se agitó el reactor, se extrajo diariamente un cierto volumen de líquido del reactor y se reemplazó con medio fresco. Se determinó la concentración de biomasa inicial (X_0) como peso seco (gSST/L) mediante la técnica descrita en la sección 2.5.4, Capítulo 2 Materiales y Métodos.

6.3.2. Efecto del tiempo de residencia celular (θ_c) en la concentración de biomasa en un reactor semicontinuo alimentado con suero de queso o fenol como únicas fuentes de carbono

En la Figura 6.1 se encuentra la concentración de biomasa al inicio de cada ciclo de operación (X_0) para el reactor semicontinuo alimentado con suero de queso en función del tiempo de operación con diferentes θ_c . En dicha Figura puede observarse que para un θ_c de 45 días la biomasa se incrementó hasta valores de 11 gSST/L, obteniéndose un cierto estado estacionario. En general se observó que la disminución del θ_c produjo una reducción en la concentración de biomasa. Como puede observarse en la Figura, cuando se modificó el θ_c a 40 días la concentración de biomasa disminuyó y se estabilizó aproximadamente en 8.0 gSST/L. Luego, cuando se redujo el θ_c de 20 a 10 días la concentración de biomasa disminuyó a 3.0 gSST/L.

En la Figura 6.2 se encuentra un ejemplo de la variación de la concentración de sustrato en el tiempo para suero de queso y fenol. Como puede observarse, cuando se alimento el reactor con suero de queso el valor de DQO final por ejemplo para un θ_c de 10 días era inferior a 200 mgDQO/L. En general, para todos los θ_c ensayados, el valor de la DQO al final de cada ciclo era bajo (entre 70 – 200 mgDQO/L) debido a la presencia de

productos microbianos solubles. El término productos microbianos solubles (PMS) incluye carbohidratos, proteínas, sustancias húmicas, restos celulares y productos de lisis generados durante la fase de metabolismo endógeno. Los PMS son los principales responsables de la presencia de materia orgánica en los efluentes secundarios de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Shen y col., 2010; Wang y Zhang, 2010; Xie y col., 2013).

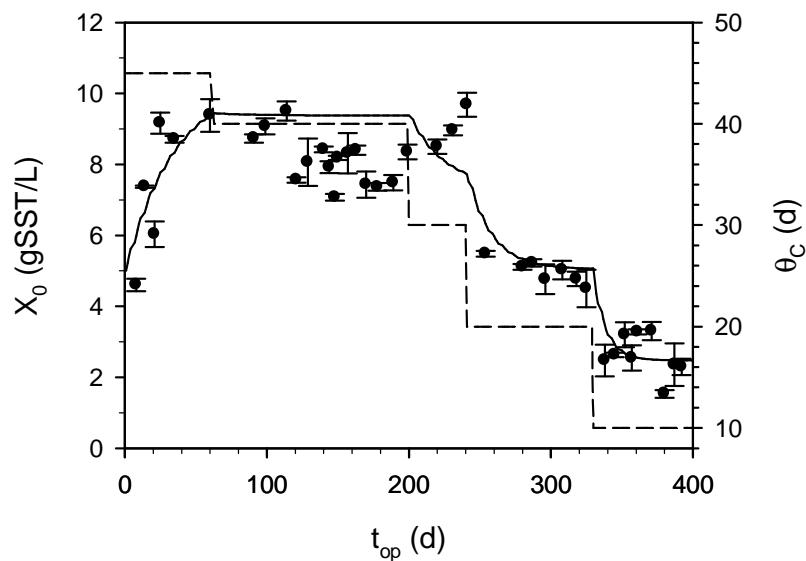


Figura 6.1. Variación de la concentración de biomasa al inicio de ciclo de operación del reactor semicontinuo (X_0 ; ●) en función del tiempo de residencia celular (θ_c , ---) para barras activados alimentados con suero de queso. La curva continua representa los resultados obtenidos mediante la ec.(6.13) empleando los coeficientes de la Tabla 6.1 y considerando que $S_0 = 1000$ mg/L.

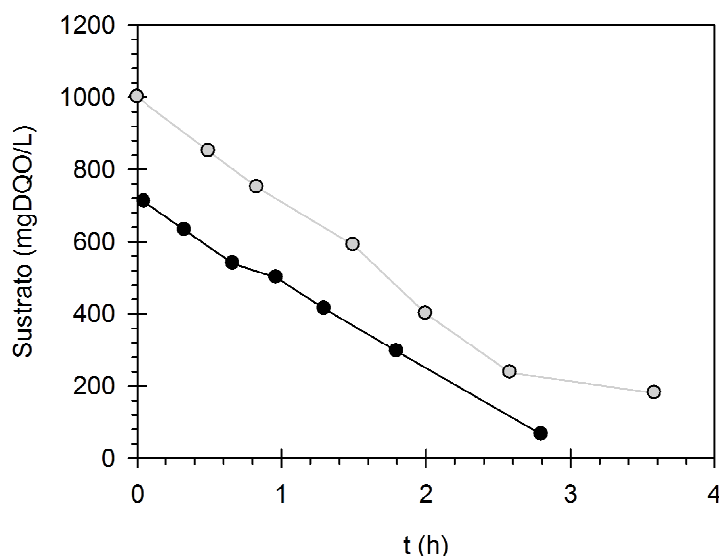


Figura 6.2. Ejemplos de la variación de sustrato en el tiempo para un θ_c de 10 días (●) fenol (300 mgF/L), (●) suero de queso.

En la Figura 6.3 se encuentra la concentración de biomasa inicial (X_0) para barros aclimatados a 300 mg/L de fenol en función del θ_c . En la Figura se puede observar que la concentración de biomasa utilizada para iniciar los ensayos fue de aproximadamente 6.0 gSST/L (Fig. 6.1). Cuando se inició el ensayo con un θ_c de 45 días la concentración de biomasa disminuyó hasta estabilizarse en un valor de 2.9 gSST/L. A diferencia de lo observado con suero de queso, cuando se redujo el θ_c a 40 días no se observó una variación significativa de la concentración de biomasa. Asimismo, cuando se redujo el θ_c a 20 días la concentración de biomasa disminuyó levemente hasta estabilizarse en 2.5 gSST/L. En cambio, la reducción del θ_c a 10 días produjo una disminución en la biomasa a 1.0 gSST/L, esta concentración fue marcadamente inferior a la obtenida para un θ_c de 10 días con barros alimentados con suero de queso.

A pesar de la significativa reducción de la biomasa hacia el final de la operación del reactor con un θ_c de 10 días, en todos los casos, al final de cada ciclo de operación no se detectó fenol en el efluente, indicando un consumo completo del mismo. Además, la concentración de DQO soluble al final de cada ciclo de operación era de aproximadamente 50 mgDQO/L (Fig. 6.2), levemente inferior al valor de DQO basal obtenido cuando el reactor era alimentado con suero de queso.

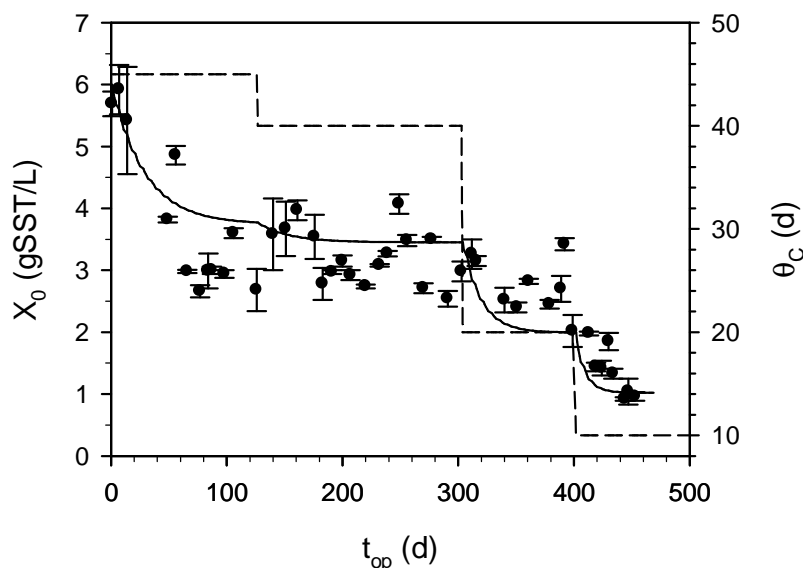


Figura 6.3. Variación de la concentración de biomasa al inicio de ciclo de operación del reactor semicontinuo (X_0 ; ●) en función del tiempo de residencia celular (θ_c , ---) para barros activados alimentados con fenol. La curva continua representa los resultados obtenidos mediante la ec.(6.13) empleando los coeficientes de la Tabla 6.1 y considerando que $S_0 = 300$ mg/L.

6.3.3. Modelado del efecto del tiempo de residencia celular (θ_c) sobre la concentración de biomasa en un reactor semicontinuo

La operación de un reactor semicontinuo se basa en la aplicación periódica de una serie de procedimientos; el conjunto de tales procedimientos se conoce como ciclo de operación. Cada ciclo de operación está compuesto por varias etapas: llenado, reacción, purga de barros, sedimentación y extracción del sobrenadante (efluente tratado). Posteriormente, comienza un nuevo ciclo de operación con el llenado del reactor.

Con el objeto de poder desarrollar un modelo sobre el efecto del tiempo de residencia celular (θ_c) en la concentración de biomasa en un reactor semicontinuo, primero es necesario analizar en detalle lo que ocurre dentro de cada etapa de un ciclo de operación. La principal ventaja de un reactor semicontinuo es su gran flexibilidad de operación. Los tiempos de llenado, reacción y sedimentación, así como también el volumen de purga de barros pueden ser ajustados de acuerdo al tipo de agua residual a tratar y a los requerimientos de descarga. Además, durante la etapa de reacción puede encenderse o apagarse los aireadores para generar un ambiente anóxico con el objeto de

favorecer la desnitrificación (Bernardes y col., 1999). Aunque es su principal ventaja, esta gran flexibilidad de operación implica una gran dificultad al desarrollar modelos de carácter general, aplicable a todos los casos. Por lo tanto, con el objeto de no incluir generalizaciones innecesarias, el modelo desarrollado para reactores semicontinuos está basado en las condiciones de operación empleadas en el presente trabajo de Tesis.

En la Figura 6.4 se muestra un esquema de la variación de concentración de biomasa (X) y sustrato (S , suero de queso o fenol) en función del tiempo (t) en un reactor semicontinuo durante un ciclo de operación típico. Cada ciclo de operación se inicia con el llenado del reactor con el agua residual a tratar; se asumió que la misma tiene una cierta concentración de sustrato (S_{AR}) constante. Como resultado del llenado del reactor con el agua residual cruda, las concentraciones de sustrato y biomasa al inicio de la etapa de reacción son S_0 y X_0 , respectivamente. En el presente modelo se asumió además que el llenado era instantáneo, es decir, despreciable frente al tiempo de la etapa de reacción (t_R) o al tiempo total del ciclo (t_T). Una vez llenado el reactor, se enciende el aireador y comienza la etapa de reacción. Durante esta etapa el sustrato es consumido y consecuentemente, X aumenta.

Como se comentó en las secciones precedentes, la concentración de S en el efluente tratado era prácticamente cero, es decir que en algún momento del ciclo se obtiene $S \cong 0$. Así, puede definirse un cierto tiempo crítico (t_C) como el tiempo del ciclo para el cual se agota sustrato; además, para ese tiempo X alcanza un cierto valor máximo (X_{max}). Posteriormente, debido a la ausencia de una fuente de carbono y energía, la concentración de biomasa comienza a descender debido al proceso denominado metabolismo endógeno (Orhon y Artan, 1994) hasta alcanzar un cierto valor (X_F) hacia el final de la etapa de reacción. A continuación, se realiza la purga de barros retirando un cierto volumen V_P del líquido del reactor; como la purga se efectúa en condiciones de mezclado, la concentración de biomasa en la purga es igual a X_F . Luego, se apaga el aireador, se deja sedimentar los barros durante 30 minutos para separar los mismos del efluente tratado y finalmente, se retira un cierto volumen V_S del sobrenadante (el cual corresponde al efluente del proceso de tratamiento).

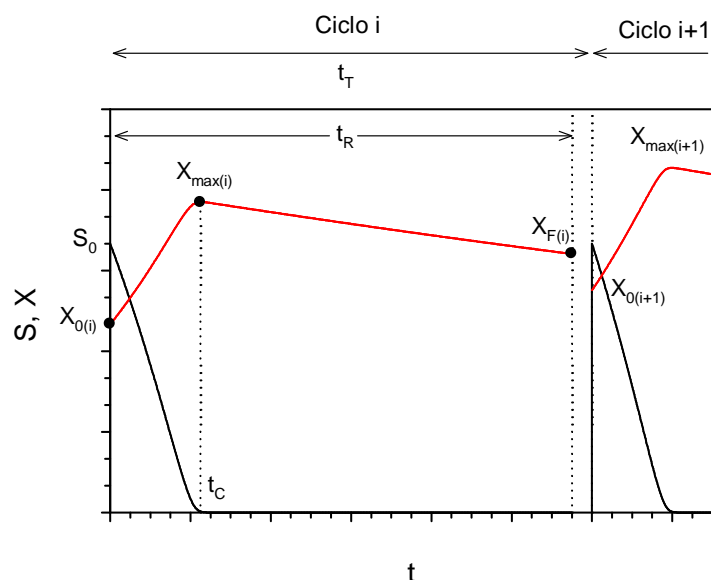


Figura 6.4. Variación de concentración de biomasa (X , líneas rojas) y sustrato (S líneas negras) en función del tiempo (t) en un reactor semicontinuo durante los ciclos de operación i e $i+1$. Las líneas punteadas indican el tiempo crítico (t_C), de reacción (t_R) y total del ciclo (t_T). Los puntos representan las concentraciones de biomasa inicial ($X_{0(i)}$), máxima ($X_{\max(i)}$) y final ($X_{F(i)}$) correspondientes al ciclo i de operación.

Si V es volumen del reactor al inicio de la etapa de reacción, luego de las operaciones de purga, sedimentación y vaciado parcial del reactor, el volumen al final del ciclo de operación es $V_F = V - V_P - V_S$. A su vez, cada ciclo de operación se inicia con el llenado del reactor con un volumen $V_P + V_S$ de agua residual cruda. Por lo tanto, las concentraciones de sustrato y biomasa al inicio de la etapa de reacción correspondiente al ciclo de operación $i + 1$ ($S_{0(i+1)}$, $X_{0(i+1)}$) son función de sus concentraciones al final del ciclo i ($S_{F(i)}$, $X_{F(i)}$):

$$S_{0(i+1)} = \frac{(V - V_P - V_S)S_{F(i)} + (V_P + V_S)S_{AR}}{V} \quad (6.1)$$

$$X_{0(i+1)} = \frac{(V - V_P)X_{F(i)} + (V_P + V_S)X_{AR}}{V} \quad (6.2)$$

donde S_{AR} y X_{AR} representan la concentración de sustrato y biomasa en el agua residual cruda, respectivamente. Nótese que como se asumió que el efluente tratado no contiene

cantidades significativas de biomasa, la misma solamente sale del reactor cuando se purga un volumen V_P . Por el contrario, el sustrato sale del sistema tanto con V_P como con V_S ; por esta razón, las ecs. (6.1) y (6.2) resultan levemente diferentes.

Aunque las ecuaciones (6.1) y (6.2) son de carácter general, en el caso particular analizado se pueden hacer las siguientes simplificaciones. Para las condiciones de operación del reactor empleadas en el presente trabajo de Tesis se puede asumir que en algún momento del ciclo se cumple que $S_{F(i)} \cong 0$. Además, se puede asumir que el agua residual no contiene cantidades significativas de biomasa ($X_{AR} \cong 0$). Teniendo en cuenta estas simplificaciones y combinando con las definiciones de θ_H (ec. 2.3) y θ_C (ec. 2.4) para este tipo de reactores, se obtienen las siguientes expresiones:

$$S_{0(i+1)} = \left(\frac{V_P+V_S}{V}\right) S_{AR} = \left(\frac{t_T}{\theta_H}\right) S_{AR} \quad (6.3)$$

$$X_{0(i+1)} = \left(\frac{V-V_P}{V}\right) X_{F(i)} = \left(\frac{\theta_C-t_T}{\theta_C}\right) X_{F(i)} \quad (6.4)$$

Si S_{AR} es constante y además el reactor es operado con θ_H y θ_C constantes, la ecuación (6.3) demuestra que $S_{0(i+1)}$ es una constante para todo ciclo de operación. Por el contrario, $X_{0(i+1)}$ no sólo depende de las condiciones de operación (θ_H , θ_C), sino también de la concentración de biomasa al final del ciclo anterior. Además, de acuerdo con la Fig. 6.4, es evidente que para un ciclo determinado $X_{F(i)}$ depende de $X_{0(i)}$. Por lo tanto, si se conociera la relación entre $X_{F(i)}$ y $X_{0(i)}$ y empleando iterativamente la ec.(6.4) se podrían calcular $X_{0(i+1)}$, $X_{0(i+2)}$, etc., o sea, la concentración de biomasa en función del ciclo de operación.

A continuación se analizan los cambios en la concentración de sustrato y biomasa durante la etapa de reacción con el fin de obtener la relación entre $X_{F(i)}$ y $X_{0(i)}$. Empleando el modelo tradicional de metabolismo endógeno (Orhon y Artan, 1994), la variación de las concentraciones de S y X en un reactor tipo batch resultan

$$\frac{dS}{dt} = -q_S X \quad (6.5)$$

$$\frac{dX}{dt} = (Y_{X/S} q_S - b) X \quad (6.6)$$

donde q_s es la velocidad específica de consumo de sustrato, $Y_{X/S}$ es el rendimiento verdadero (o sea, en ausencia de decaimiento) en biomasa y b la constante de decaimiento endógeno (Orhon y Artan, 1994). Haciendo el cociente entre las ecs.(6.5) y (6.6) se obtiene

$$-\frac{dX}{dS} = Y_{X/S} - \frac{b}{q_s} = Y_{obs} \quad (6.7)$$

donde Y_{obs} es el rendimiento observado. En algunos casos (por ejemplo, cuando $K_S \ll S$ en una cinética tipo Monod), q_s se mantiene aproximadamente constante hasta que se agota S ; además, en general se cumple que $b \ll q_s$. En ambos casos Y_{obs} resulta aproximadamente constante; así, integrando la ec.(6.7) se obtiene la siguiente expresión:

$$X - X_0 = Y_{obs}(S_0 - S) \quad (6.8)$$

Como se asumió que el tiempo total del ciclo de operación (t_T) es lo suficientemente largo como para el sustrato se agote (Fig. 6.4), la concentración máxima de biomasa correspondiente al ciclo i de operación ($X_{max(i)}$) resulta

$$X_{max(i)} = X_{0(i)} + Y_{obs}S_0 \quad (6.9)$$

Una vez que S se agota, la concentración de biomasa disminuye debido al metabolismo endógeno. Como se definió el tiempo crítico t_C como el tiempo a partir del cual $S = 0$ y $X = X_{max}$, entonces para $t \geq t_C$, $q_s = 0$. En estas condiciones, integrando la ec.(6.6) se obtiene

$$X_{(i)} = X_{max(i)}e^{-b(t-t_C)} \quad (6.10)$$

Finalmente, para $t = t_R$ la concentración de biomasa al final de la etapa de reacción correspondiente al ciclo i ($X_{F(i)}$) se obtiene combinando las ecs.(6.9) y (6.10)

$$X_{F(i)} = (X_{0(i)} + Y_{obs}S_0)e^{-b(t_R-t_C)} \quad (6.11)$$

La ecuación (6.11) representa la relación entre $X_{F(i)}$ y $X_{0(i)}$. El problema de esta ecuación es que todavía no se conoce t_C . Sin embargo, a partir de las curvas de consumo de suero de queso y fenol en función del tiempo medidas en diferentes condiciones de operación, se deduce que en la mayoría de los casos $t_C < 4$ hs (Fig. 6.2). Además, considerando que se realizaban 5 ciclos de operación por semana, el tiempo total (promedio) de un ciclo de operación era $t_T = 33.6$ hs. Como las operaciones de purga, sedimentación y vaciado llevaban entre 1 y 2 hs (Fig. 6.4), el tiempo de reacción (promedio) era $t_R \cong 32$ hs $\gg t_C$. En estas condiciones, t_C puede ser despreciado de la ecuación (6.11) resultando

$$X_{F(i)} = (X_{0(i)} + Y_{obs}S_0)e^{-bt_R} \quad (6.12)$$

Es importante destacar que para un valor de $b = 0.01 \text{ h}^{-1}$, con $t_R = 32$ hs y $t_C = 4$ hs, la diferencia entre las ecs.(6.11) y (6.12) resulta menor a un 4%. Debe considerarse que el valor de b empleado en el cálculo es relativamente alto; en general, los valores informados por otros autores son inferiores (Gujer y col., 1999). Además, debido a que la diferencia entre las ecs.(6.11) y (6.12) es menor a medida que b disminuye, a fines prácticos la ec. (6.12) puede considerarse como una buena aproximación de la ec. (6.11), siendo su error menor al 4%.

Si se combinan las ecs. (6.4) y (6.12) se obtiene la siguiente expresión

$$X_{0(i+1)} = \left(\frac{\theta_C - t_T}{\theta_C}\right) (X_{0(i)} + Y_{obs}S_0)e^{-bt_R} \quad (6.13)$$

Por lo tanto, para un cierto modo de operación del reactor (θ_H , θ_C , t_T , t_R), la aplicación iterativa de la ec. (6.13) permite calcular la evolución de la concentración de biomasa en función del número de ciclo de operación (i). Finalmente, el tiempo total de operación (t_{op}) del reactor se calcula como el producto entre el número de ciclo de operación (i) y el tiempo (promedio) un ciclo ($t_T = 33.6$ hs).

La ec. (6.13) también puede emplearse para estimar los coeficientes Y_{obs} y b a partir de datos experimentales. Si durante un tiempo determinado el reactor semicontinuo es operado en las mismas condiciones, en algún momento la concentración de biomasa al inicio del ciclo de operación tiende a estabilizarse en un cierto valor estacionario $X_{0E} = X_{0(i)} = X_{0(i+1)} = X_{0(i+2)}$, etc. En esta condición, reordenando la ec. (6.13) se obtiene

$$X_{0E} = \left(\frac{\theta_c}{\theta_c - t_T}\right) X_{0E} e^{bt_R} - Y_{obs} S_0 \quad (6.14)$$

De acuerdo a la ec.(6.14), si se grafica X_{0E} en función de $\left(\frac{\theta_c}{\theta_c - t_T}\right) X_{0E}$ debería obtenerse una recta con pendiente e^{bt_R} y ordenada $-Y_{obs} S_0$. Como puede observarse en la Figura 6.5, tanto para barros activados alimentados con suero de queso (Fig. 6.5.a) como fenol (Fig. 6.5.b) se obtuvo una correlación satisfactoria; en ambos casos el valor de r^2 fue mayor a 0.997. A partir de los valores de la ordenada al origen y la pendiente se calcularon los coeficientes Y_{obs} y b correspondientes a cada tipo de alimentación; los resultados se muestran en la Tabla 6.1. Los valores de Y_{obs} y b obtenidos mediante regresión lineal fueron empleados en la ec.(6.13) para calcular la evolución de la concentración de biomasa en función del tiempo total de operación (t_{op}). Las Figuras 6.1 y 6.3 muestran que mediante el procedimiento de cálculo propuesto (ec. 6.13) se puede describir adecuadamente los cambios en la concentración de biomasa debidos a la modificación en el tiempo de residencia celular (θ_c) en un reactor semicontinuo alimentado tanto con un modelo de agua residual fácilmente biodegradable (suero de queso) como con un agua residual con fenol como única fuente de carbono.

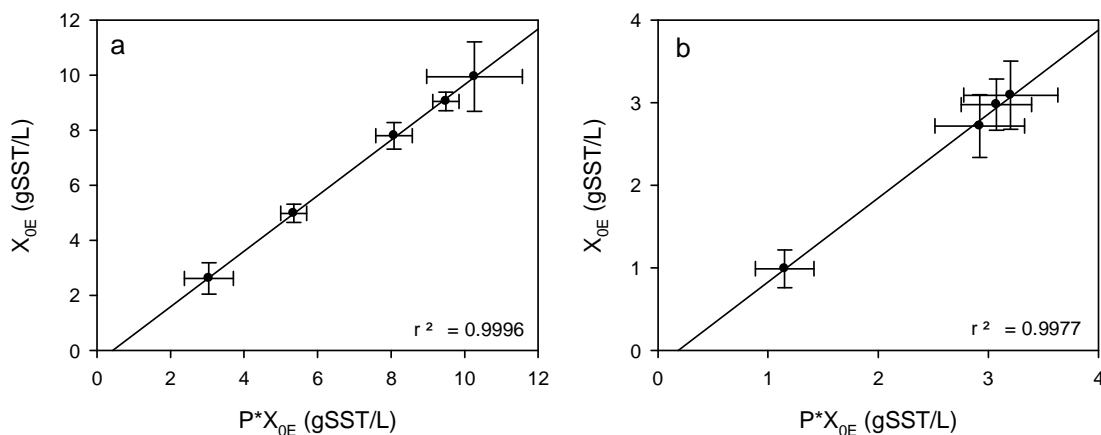


Figura 6.5. Concentración estacionaria de biomasa al inicio de ciclo de operación del reactor semicontinuo (X_{0E} ; ●) en función de PX_{0E} (donde $P = \frac{\theta_c}{\theta_c - t_T}$) correspondiente a barros activados alimentados con: **a.** Barros activados alimentados con suero ($S_0 = 1000$ mg/L). **b.** Barros activados alimentados con fenol ($S_0 = 300$ mg/L). Las líneas representan la ec.(6.14), las barras indican el desvío estándar.

Tabla 6.1. Coeficientes correspondientes a la ec.(6.14)

| Alimentación | S_0 (mg/L) | b (1/d) | Y_{obs} (gSST/gS) |
|--------------|--------------|-------------------|---------------------|
| Suero | 1000 | 0.013 ± 0.004 | 0.46 ± 0.04 |
| Fenol | 300 | 0.006 ± 0.007 | 0.60 ± 0.09 |

6.4. Estudio del proceso de adhesión de los barros activados a un soporte: influencia del tipo de sustrato y el tiempo de residencia celular.

En la presente sección se estudia la adhesión de la biomasa a un soporte comercial en un reactor híbrido con un agua residual sintética de industria láctea. Por otro lado, se analiza la estabilidad de la biomasa en el reactor híbrido frente a la adición de fenol.

6.4.1 Ensayo experimental

Los experimentos fueron llevados a cabo en dos reactores con un volumen útil de 2 L (Fig. 6.6). El caudal de aireación fue de 4 L/min y se realizó por la parte inferior del reactor para favorecer el movimiento de los soportes y mantener la biomasa en suspensión (Borghesi y Hosseini, 2004). Para el desarrollo de biomasa adherida en reactores híbridos se utilizaron barros activados generados a partir de suero de queso (Capítulo 2 Materiales y Métodos, sección 2.1). Los reactores con soportes fueron operados en forma semicontinua, con un tiempo de residencia hidráulico (θ_H) de 80 h.

El procedimiento de operación del reactor fue el detallado en la sección 2.3 del Capítulo Materiales y Métodos. Cada ciclo de operación se iniciaba con el llenado del reactor con el modelo de agua residual a tratar. Luego, se comenzaba la etapa de reacción mediante el encendido de los aireadores, los cuales proporcionaron una correcta agitación y permitieron mantener el oxígeno disuelto en valores mayores a $2 \text{ mgO}_2/\text{L}$. Con el objeto de maximizar la adherencia de los barros a los soportes, solamente se purgaron los barros en suspensión. En el caso de la biomasa suspendida se estudiaron dos tiempos de residencia celular (θ_C) 40 y 10 días; la purga de la biomasa suspendida se realizaba retirando un cierto volumen V_p del líquido del reactor; este volumen era variable y se ajustaba a fin de obtener diferentes θ_C . Como la purga se realizaba en condiciones

de mezclado, se separaban los barros suspendidos de los soportes, los cuales eran colocados nuevamente en el reactor. Una vez extraída la purga, se apagaba el aireador y se dejaban sedimentar los barros durante 30 minutos. De esta forma, los barros en suspensión sedimentaban mientras que los soportes permanecían en la superficie del líquido. Finalmente, se retiraba un cierto volumen (V_S) del sobrenadante, el cual se encontraba entre los barros y los soportes y así, el reactor se encontraba listo para iniciar otro ciclo de operación. Se realizaron 5 ciclos de operación por semana. El medio de cultivo para la alimentación con suero de queso estuvo compuesto por 2000 mg, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 940 mg, K_2HPO_4 500 mg, y KH_2PO_4 250 mg; todos los componentes fueron diluidos en un litro de agua; así la Demanda Química de Oxígeno (DQO) inicial del medio fue de 2000 mgDQO/L.



Figura 6.6. Foto del reactor híbrido utilizado con soportes Kaldnes K1.

El material de soporte elegido para la adhesión de los barros activados fueron los soportes comerciales Kaldnes. Existen diferentes tipos de soportes comerciales Kaldnes. En este trabajo de Tesis se optó por los soportes K1 debido al tamaño relativo de los soportes con respecto al volumen del reactor (V_R) escala laboratorio. En la Figura 6.7 se encuentra una imagen de los soportes K1. Estos soportes están construidos en polipropileno con una densidad de 0.95 g/cm^3 (Rusten y col., 2006). Para el correcto funcionamiento del sistema la relación entre el volumen total ocupado por los soportes y el volumen de reactor (V_{sop}/V_R) debe ser inferior a 0.7 (Rusten y col., 2006). En este trabajo de Tesis se utilizó una relación V_{sop}/V_R de 0.4 para obtener el libre movimiento de los soportes y mantenerlos en suspensión (Falås y col., 2012). Las propiedades de los soportes Kaldnes se encuentran en la Tabla 6.2; el total de soportes empleados fue de 780 (117 g) en 2 L de volumen total.

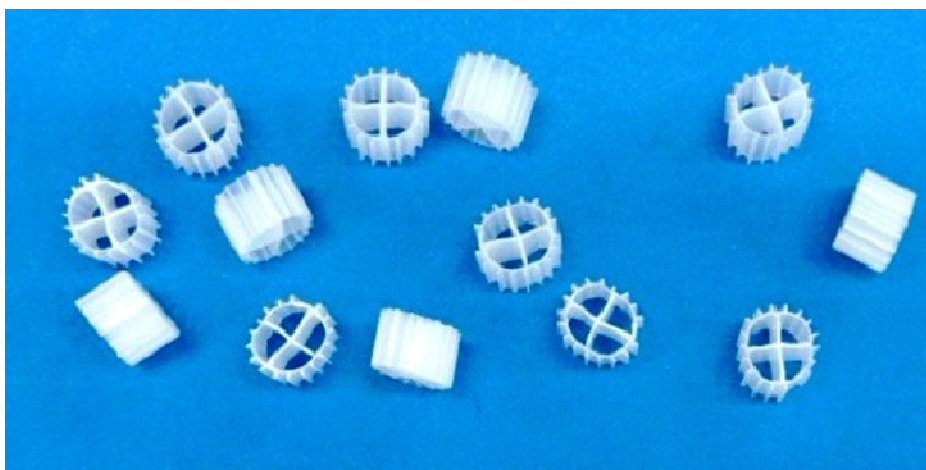


Figura 6.7.Foto de soportes Kaldnes K1.

La concentración de sustrato en el reactor se midió por el método 4amino-antipirina para fenol y como DQO para suero de queso, según lo descrito en el Capítulo 2 Materiales y Métodos, sección 2.5.2 y 2.5.3, respectivamente. La concentración de biomasa total (X_t) en el reactor se determinó como la suma de la biomasa suspendida (X_s) y la biomasa adherida al soporte (X_a). La concentración de X_s se determinó como sólidos suspendidos totales (SST) mediante peso seco. La concentración de X_a se realizó empleando la técnica de sólidos adheridos totales (SAT) (Jahren y col., 2002; Falås y col., 2012). Se tomó una muestra de 6 soportes del reactor y se remplazaron por 6 soportes

limpios. La muestra de soportes extraída del reactor se colocó en estufa de vacío (60°C y una presión de vacío de 20 mmHg) durante 2 días y se determinó el peso seco de los soportes con la biomasa adherida. Posteriormente, se removieron los sólidos adheridos empleando H₂SO₄ 4M en agitación durante 2 horas (Falås y col., 2012). Luego, se realizó una remoción mecánica (cepillado) y se lavaron tres veces con agua destilada. Finalmente, los soportes limpios se secaron nuevamente en estufa de vacío durante 1 día y se pesaron. Los sólidos adheridos se determinaron como la diferencia de peso entre los soportes secos antes y luego de la remoción de la biomasa adherida. Se calculó la concentración de biomasa adherida (gSAT/L) como la biomasa adherida en todos los soportes presentes en el reactor dividido el volumen del reactor (2 L).

Por otro lado, se determinó la velocidad de degradación de suero de queso (R_S) correspondiente a la biomasa adherida y en suspensión por separado. Para ello se dejó sedimentar la biomasa suspendida y se extrajeron del reactor los soportes. Luego, la biomasa suspendida fue colocada en un reactor de 2L de volumen total con una aireación de 4 L/min. Se completó el volumen del reactor con medio fresco con suero de queso y se determinó R_S y X_S. Paralelamente, se colocaron los soportes en el reactor híbrido nuevamente se adicionó medio fresco con suero de queso y se midió R_S, X_a y X_S.

Tabla 6.2. Características de soportes Kaldnes comerciales

| | K1 |
|---|-----|
| Diámetro nominal(mm) | 9.1 |
| Longitud nominal (mm) | 7.2 |
| Densidad aparente (kg/m ³) | 150 |
| Superficie específica de Biofilm por área (m ² /m ³) | 500 |
| Superficie específica de Biofilm por área en 60% de llenado (m ² /m ³) | 300 |

Adaptado de (Rusten y col., 2006)

6.4.2 Generación de biomasa adherida a soporte en reactor híbrido para diferentes tiempos de residencia celular para barros activados alimentados con suero de queso

Se estudió la formación de biomasa adherida sobre soportes Kaldnes K1 en reactores híbridos alimentados con suero de queso. En la Figura 6.8 se encuentran los perfiles de velocidad de degradación de suero (R_S ; mgDQO/(L h)), concentración biomasa suspendida (X_S ; gSST/L) y biomasa adherida (X_a ; gSAT/L). En este caso se trabajó con un θ_C de 40 días a fin de favorecer el incremento de biomasa en el reactor (Cheng Sun y col., 2012). Como puede observarse en la Figura 6.8 durante la etapa de operación del reactor con un θ_C de 40 días, la formación de X_a se incrementó con el tiempo de operación del reactor hasta los 30 días. Transcurridos 29 días de operación del reactor se obtuvieron 2.1 gSAT/L y un significativo incremento de la biomasa suspendida ($X_S = 14.9$ gSST/L). Posteriormente, la adhesión al soporte disminuyó y la biomasa adherida se desprendió generando un incremento de los sólidos suspendidos a un valor de 16 gSST/L.

Luego de operar el reactor por 32 d con un θ_C de 40 d, a fin de disminuir la concentración de sólidos suspendidos se disminuyó el θ_C a 10 días. Transcurridos 10 días posteriores al cambio de θ_C ($t_{op} = 42$ d) se observó un incremento en la formación de biomasa adherida sobre el soporte. En la Figura 6.9 se encuentran las fotografías de los soportes para diferentes días de operación del reactor. Como puede observarse la formación de biomasa adherida sobre el soporte se incrementó rápidamente cuando se operó el reactor con un θ_C de 10 días. Mientras que la concentración de sólidos suspendidos totales disminuyó hasta llegar a un valor de 4.4 gSST/L, la concentración de sólidos adheridos totales se incrementó hasta alcanzar un valor aproximado de 5 gSAT/L. En estas condiciones de operación ($\theta_C = 10$ d) la biomasa total en el reactor híbrido fue aproximadamente de 8.8 gST/L, mayor que la obtenida en sistemas convencionales de barros activados (Yan y col., 1989; Orozco y col., 2010). Por ejemplo, en el presente trabajo de Tesis, para un reactor semicontinuo de barros activados alimentado con suero de queso con un θ_C de 10 días se obtuvo una biomasa total de 3.0 gSST/L (sección 6.3.2, Cap. 6).

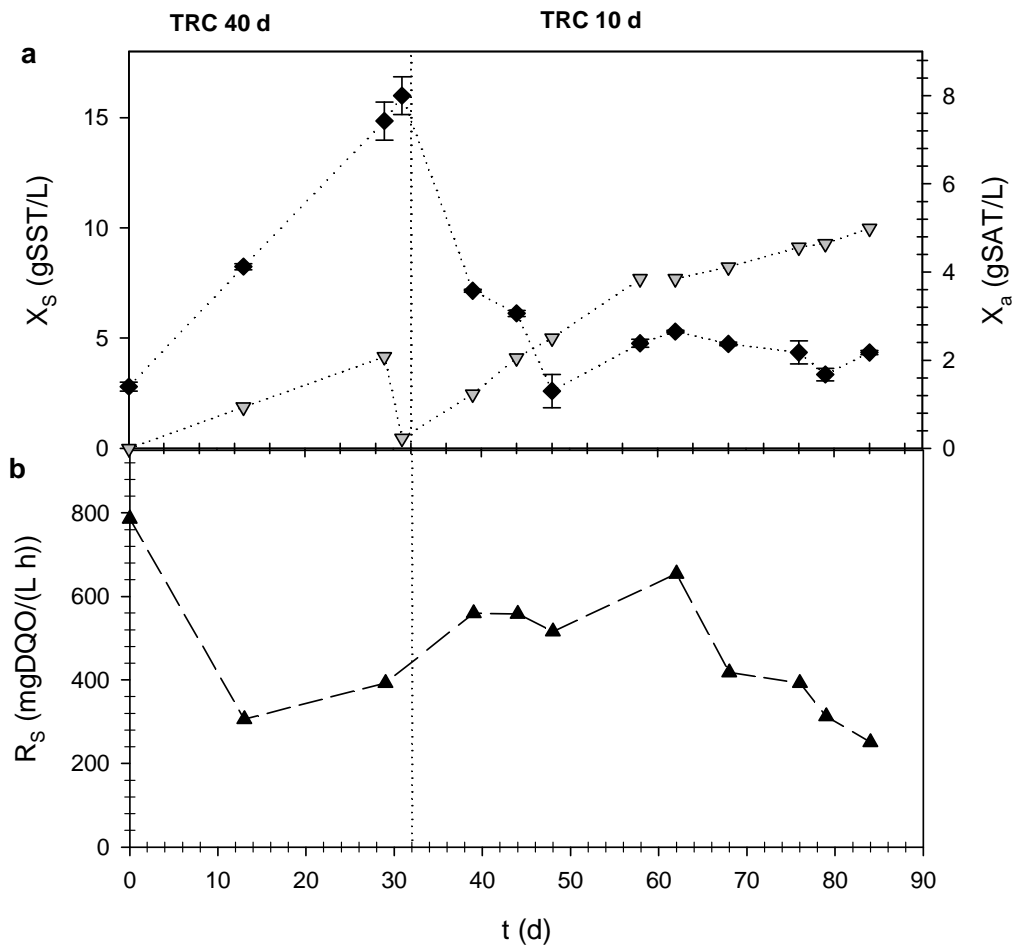


Figura 6.8. Perfiles de velocidad de degradación (R_S) y concentración de biomasa (X) en el reactor en diferentes θ_c para barros alimentados con suero de queso. **a.** Concentración de biomasa suspendida (X_S ; ◆) y adherida a los soportes (X_a ; ▼); **b.** Velocidad de degradación de suero de queso (R_S ; ▲).



Figura 6.9. Desarrollo de biomasa adherida sobre soportes Kaldnes K1 en barras activados alimentados con suero de queso. De izquierda a derecha: soportes sin contacto con barras activados, 29, 48, 64, 76, 79 y 86 días de operación del reactor

En la Figura 6.10 se encuentra la variación de concentración de sustrato en función del tiempo en un reactor híbrido (barras activados y soportes), uno que contenía solamente barras activados y otro solo con los soportes con biomasa adherida. Se determinó la velocidad de degradación de suero de queso (R_S) para los barras activados suspendidos y los barras activados adheridos al soporte en forma separada. Como puede observarse la mayor velocidad de consumo de sustrato se obtuvo para el sistema híbrido (barras activados + soportes), mientras que en el caso de los soportes solos se obtuvo la menor velocidad de degradación. En la Tabla 6.3 se encuentran los valores de concentración de biomasa (X_a , X_S y X_t), R_S y velocidad específica de degradación de suero (q_S) para el sistema híbrido, los barras activados y los soportes en forma individual. La Tabla 6.3 muestra que el menor valor de q_S correspondió al sistema compuesto solamente por los soportes con biomasa adherida; este bajo valor de q_S sugiere una restricción en la difusión del sustrato.

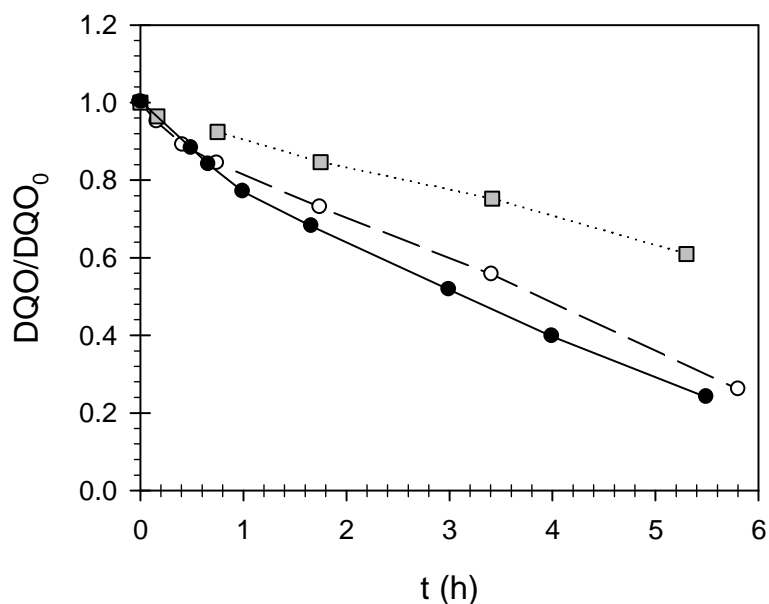


Figura 6.10. Variación de la fracción de DQO sobre DQO inicial (DQO/DQO_0) para suero de queso en el tiempo para el sistema híbrido (●), solo barras activadas (○) y solo barras activados adheridos a soportes (■). La concentración de DQO_0 en todos los ensayos fue de 2000 mgDQO/L. La concentración de biomasa total en el reactor híbrido fue de 7.99 gST/L, para barras activados 2.99 gSST/L y para barras adheridos 5.7 gSAT/L.

Tabla 6.3. Concentración de biomasa suspendida (X_s), adherida (X_a) y total (X_t), velocidad de degradación (R_s) y velocidad específica de degradación (q_s) de suero de queso para el reactor híbrido ($t = 76$ d)

| | X_s (gSST/L) | X_a (gSAT/L) | X_t (g/L) | R_s (mgDQO/L h) | q_s (mgDQO/gST h) |
|------------------------------|-------------------|-------------------|----------------|----------------------|------------------------|
| Reactor híbrido | 3.35 ± 0.28 | 4.64 | 7.99 | 384.51 | 48.12 |
| Barros activados suspendidos | 2.99 ± 0.03 | - | 2.99 | 217.62 | 72.8 |
| Barros adheridos al soporte | 0.71 ± 0.02 | 4.99 | 5.7 | 178.14 | 31.25 |

6.5. Estabilidad de la biomasa en el sistema híbrido frente a la modificación del sustrato de alimentación

6.5.1 Ensayo experimental

En el estudio de la variación de la biomasa en el reactor híbrido frente a una modificación en el sustrato de alimentación se utilizó el reactor híbrido descrito en la sección 6.4.2. En el tiempo de operación 90 d se modificó la alimentación del reactor por un medio de cultivo con fenol (sección 2.2, Capítulo 2) a lo largo de 39 días. Se midió la concentración de biomasa suspendida (X_s), adherida (X_a) y total (X_t), como se describió previamente en la sección 6.4.1. Los valores obtenidos de biomasa total fueron comparados con el sistema de barros activados convencional (en este caso $X_t = X_s$). El reactor de barros activados convencional fue el descrito en el Capítulo 3, sección 3.4.1. Los valores de biomasa empleados para la comparación fueron los correspondientes al cambio de alimentación entre la Etapa I (suero de queso) a la Etapa II (fenol) durante los primeros 40 días de la Etapa II (Capítulo 3, sección 4.3.2).

6.5.2 Variación de biomasa total en reactor híbrido y reactor de barros activados con fenol como sustrato

En la Figura 6.10 se encuentra la variación de la biomasa en el reactor híbrido alimentado con un efluente industrial simulado con 300 mg/L de fenol. Se observó que en los primeros 10 días de operación la biomasa suspendida disminuyó de 4.35 a 1.35 gSST/L. Sin embargo, la biomasa adherida se mantuvo aproximadamente constante en un valor de 4.12 gSAT/L. Transcurridos 10 días de operación del reactor híbrido la biomasa suspendida se incrementó levemente hasta alcanzar un valor de 2.58 ± 0.08 gSST/L, mientras que la concentración de sólidos adheridos disminuyó a un valor de 1.95 gSAT/L. Finalmente, en el día 39 de tiempo de operación la biomasa total en el reactor híbrido fue de 4.53 gST/L. En cambio para el sistema de barros activados convencional la biomasa total en el día 36 de operación con fenol fue 3.57 gSST/L. En la Figura 6.11 se encuentran fotografías de los soportes en el reactor híbrido alimentado con fenol (originalmente alimentado con suero de queso). La Figura 6.12 muestra que hubo un notorio desprendimiento de la biomasa adherida a partir de los 16 días de operación, consistente con la variación de dicha biomasa mostrada en la Figura 6.11. Aunque el

cambio de alimentación de suero de queso a fenol produjo una disminución de la biomasa total en ambos reactores, en períodos cortos de ingreso de fenol la biomasa adherida a los soportes en el reactor híbrido actuaría como inóculo y de esta forma podría recuperarse más rápidamente que un sistema tradicional con biomasa suspendida.

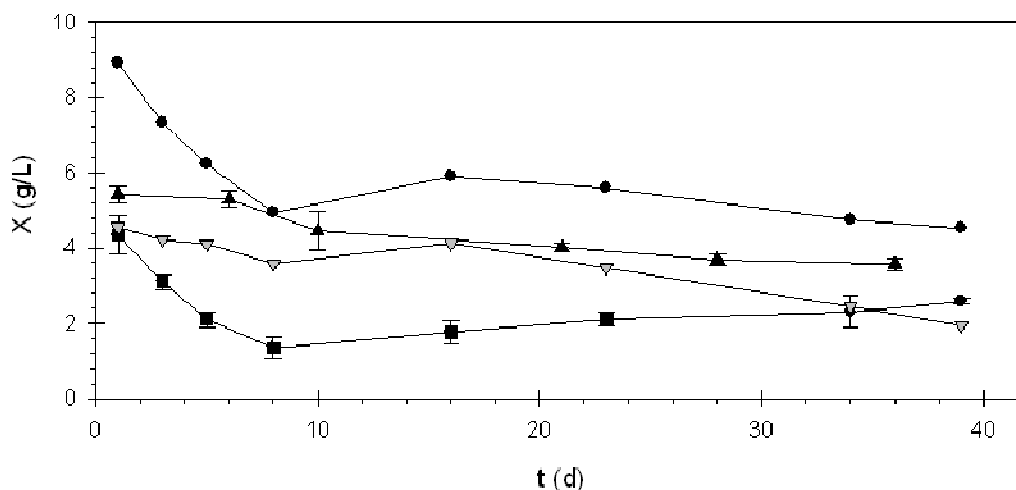


Figura 6.11. Comparación de concentración de biomasa (X , g/L) entre el reactor híbrido y el reactor de barras activados convencional durante la alimentación con fenol (originalmente alimentados con suero de queso). (\blacktriangle) X_s en reactor de barras activados (gSST/L); (\bullet) X_t en reactor híbrido (g/L); (\blacksquare) X_s en reactor híbrido (gSST/L); (\blacktriangledown) X_a (gSAT/L) en reactor híbrido.

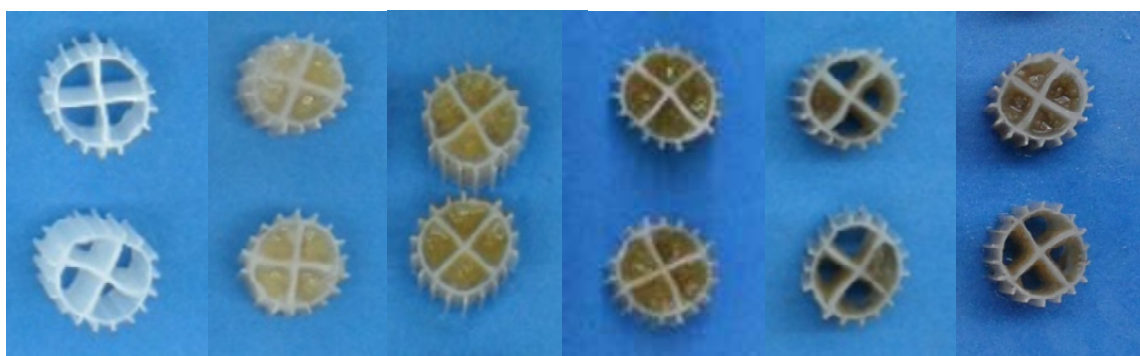


Figura 6.12. Soportes Kaldnes K1 con barras adheridos alimentados con fenol (originalmente alimentados con suero). De izquierda a derecha: soportes sin contacto con barras activados, 3, 8, 16, 34 y 39 días de operación del reactor híbrido alimentado con fenol.

6.6 Generación de biomasa adherida en reactor híbrido en diferentes tiempos de residencia celular para barros activados aclimatados a fenol

6.6.1 Ensayo experimental

El reactor híbrido empleado se operó como se describió en la sección 6.3.1 de “Diseño experimental”, con un volumen utilizable de 2 litros y 780 soportes Kaldnes K1. La aireación fue provista por la parte inferior del reactor con un caudal de 4 L/min.

En el desarrollo de biomasa adherida en reactores híbridos alimentados con fenol como fuente de carbono se utilizaron barros activados aclimatados a 300 mg/L de fenol obtenidos mediante el sistema convencional de barros activados (Capítulo 2 sección 2.2). La alimentación del reactor se realizó con el medio de cultivo descrito en la sección 2.2, Capítulo 2. El tiempo de residencia hidráulico (θ_H) fue de 3.3 días y los tiempos de residencia celular (θ_C) estudiados fueron 40 y 20 días.

La concentración de biomasa total (X_t) en el reactor se determinó como la suma de la biomasa suspendida (X_s) y la biomasa adherida al soporte (X_a). La concentración de X_s se determinó como sólidos suspendidos totales (gSST/L) mediante peso seco. La concentración de X_a se realizó empleando la técnica de sólidos adheridos totales (SAT, g/L) descrita en la sección 6.4.1. Se calculó la velocidad de degradación de fenol (R_F) como la pendiente de la curva de concentración de fenol en el tiempo. Finalmente, se calculó la velocidad específica de degradación de fenol (q_F) como el cociente entre R_F y la biomasa total (suspendida + adherida) presente en el reactor.

Para evaluar la actividad de los barros activados en el sistema híbrido se procedió a analizar la degradación de fenol en diferentes sistemas: a) reactor híbrido (barros activados y soportes), b) barros activados solos y c) soportes con barros activados adheridos. Se determinó R_F y q_F correspondiente a la biomasa adherida y en suspensión por separado; para ello, se dejó sedimentar la biomasa suspendida y se extrajeron los soportes del reactor. Luego, la biomasa suspendida fue colocada en un reactor de 2L de volumen total, con una aireación de 4 L/min. Se completó el volumen del reactor con medio fresco con 300 mgF/L y se determinó R_F y X_s . Paralelamente, se colocaron los soportes en el reactor híbrido nuevamente se adicionó medio fresco con 300 mgF/L y se midió R_F , X_a y X_s .

6.6.2 Variación de la velocidad de degradación de fenol y generación de biomasa adherida en reactores híbridos

En la Figura 6.13 se encuentran los perfiles de velocidad de degradación de fenol (R_F , mgF/(L h)), concentración de la biomasa en suspensión en el reactor (X_S , gSST/L), concentración de la biomasa adherida a los soportes (X_a , gSAT/L) y velocidad específica de degradación de fenol (q_F , mgF/(gST h)). Como puede observarse, para un tiempo de residencia celular (θ_c) de 40 días la generación de biomasa adherida en el reactor alimentado con fenol fue inferior a la obtenida en suero de queso (ver Fig. 6.8). Los barros activados aclimatados a fenol presentaron una menor adhesión al soporte empleado con relación a los barros alimentados con suero de queso. Transcurridos 56 días de operación del reactor se modificó el θ_c a 20 días (estrategia similar a la utilizada con suero de queso) para disminuir X_S y favorecer la adhesión de la biomasa al soporte tal como se observó para suero de queso (sección 6.4.2). Transcurridos aproximadamente 20 d de operación, se observó un leve incremento en la concentración de biomasa adherida al soporte. Sin embargo, este incremento en la adhesión no se vio reflejado en una mayor actividad específica de los barros para degradar fenol; bajo estas condiciones de operación la velocidad específica de degradación de fenol (q_F) se mantuvo aproximadamente constante en 44 ± 4 mgF/(gST h). Este valor es similar al valor promedio de q_F obtenido en la aclimatación a 300mgF/L de los barros activados en el sistema convencional (39.3 ± 1.3 mgF/(gSST h)).

En la Figura 6.14 se encuentran fotografías de los soportes en diferentes días de operación del reactor. Se puede observar un incremento entre los días 54 y 76 debido a la disminución del θ_c a partir del día 56 de operación del reactor. Por el contrario, la concentración de biomasa en suspensión disminuyó hasta un valor de 1.7 ± 0.5 gSST/L para el día 84. La concentración de biomasa adherida en el reactor entre los días 129-150 fue 0.95 ± 0.1 gSAT/L y se mantuvo aproximadamente constante. Por otra parte, la biomasa en suspensión disminuyó entre los días 56 a 75 de operación y a partir de los 130 días de operación se incrementó levemente de 1.65 a 1.84 gSST/L. En este período la biomasa adherida representó el 34% de la biomasa total en el reactor. Este porcentaje fue inferior al obtenido cuando el reactor híbrido fue alimentado con el modelo de agua residual de la industria láctea (43%, 3.9 ± 0.2 gSAT/L, Fig. 6.6). Finalmente, se pudo determinar que la concentración de biomasa total aclimatada a fenol en el sistema híbrido

para un θ_c de 20 días fue de 2.6 ± 0.2 gST/L similar a la obtenida en un sistema convencional de barros activados (2.5 ± 0.5 gSST/L; sección 6.3.2, ver Fig. 6.3).

En general, los valores obtenidos en el presente trabajo de Tesis correspondientes a la fracción de biomasa adherida a los soportes respecto del total de biomasa en el reactor fueron inferiores a los informados por otros autores. Por ejemplo, Jahren y col., (2002) informaron un 85% de biomasa adherida en un reactor híbrido empleado para el tratamiento de un agua residual compuesta principalmente por carbohidratos y lignina, proveniente de una industria productora de pulpa de papel.

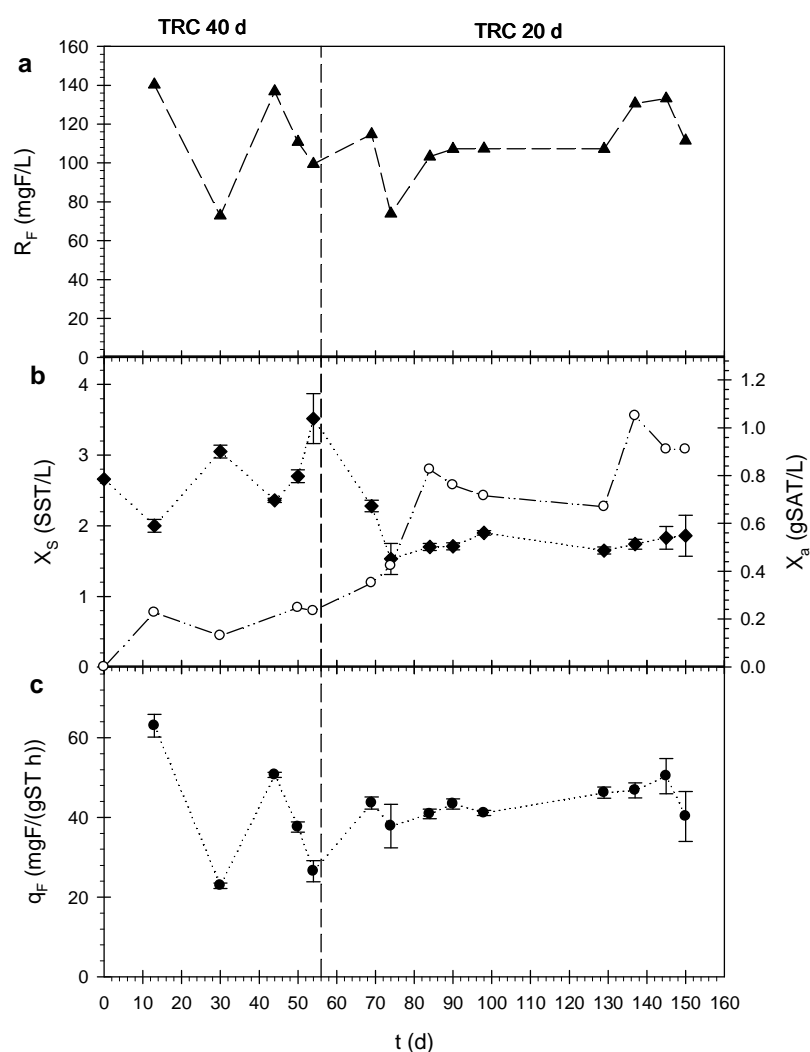


Figura 6.13. Perfiles de velocidad de degradación (R_F), concentración de biomasa suspendida (X_S) y adherida (X_a) en el reactor, y velocidad específica de degradación (q_F) para barros activados alimentados con 300 mgF/L en diferentes θ_c . **a** R_F (\blacktriangle); **b** X_S (\blacklozenge) y X_a (\circ) gSAT/L. **c.** q_F (\bullet).



Figura 6.14. Desarrollo de biomasa adherida sobre soportes Kaldnes K1 en barros activados alimentados con fenol. De izquierda a derecha: soportes sin contacto con barros activados; 31, 50, 54, 76, 84, 98 y 129 días de operación.

En la Figura 6.15 se encuentra la variación de la concentración de fenol (expresada como fracción fenol sobre fenol inicial, F/F_0) en función del tiempo correspondiente al sistema híbrido, barros activados suspendidos y biomasa adherida al soporte. Como puede observarse, la degradación de fenol fue más rápida para los barros activados en suspensión, mientras que para el reactor híbrido y la biomasa adherida la variación de la fracción F/F_0 en el tiempo fue similar. En la Tabla 6.3 se encuentran los valores de concentración de biomasa adherida (X_a), suspendida (X_s) y total (X_t), velocidad de degradación y velocidad específica de degradación de fenol (q_F) en el sistema de reactor híbrido y el sistema de barros activados suspendidos. Como puede observarse, la concentración de X_t en el sistema barros activados y para el ensayo de degradación de fenol para los barros adheridos al soporte fue similar. En el caso de los barros adheridos al soporte el valor X_s corresponde a un leve desprendimiento de la biomasa adherida. En cuanto a las velocidades de degradación (R_F) fueron similares para los barros activados adheridos al soporte y el reactor híbrido, 93 y 112 mgF/ (L h), respectivamente. Mientras que para el sistema de barros activados suspendidos se obtuvo un valor de R_F de 178 mgF/(L h). Para los barros activados suspendidos se obtuvo un valor de q_F superior al obtenido en barros adheridos al soporte y en el reactor híbrido, debido a la baja concentración de X_t en el sistema de barros activados suspendidos.

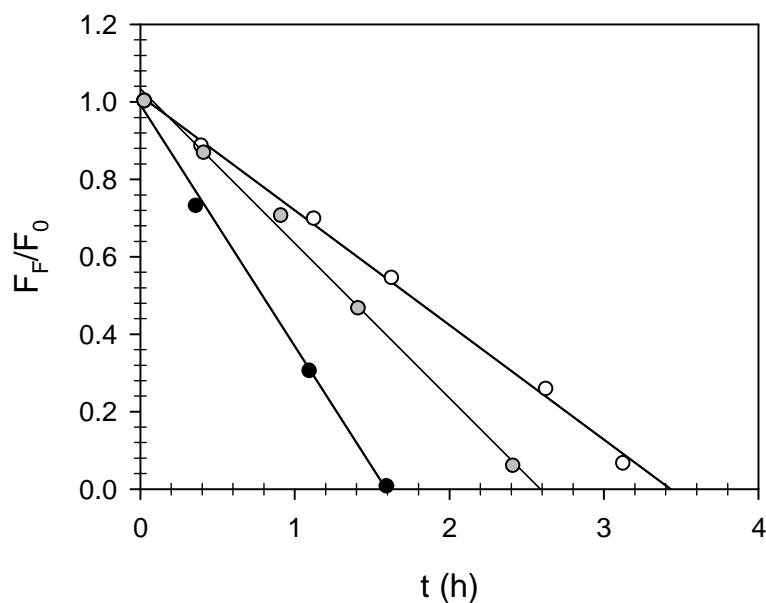


Figura 6.15. Variación de la fracción Fenol sobre Fenol inicial (F/F_0) en el tiempo para el reactor híbrido (●), sistema de barros activados suspendidos (●) y solo barros activados adheridos a soportes (○). La concentración de F_0 en todos los ensayos fue 300 mgF/L y la concentración de biomasa total en reactor híbrido fue de 2.8 gST/L, en barros activados suspendidos y para barros adheridos al soporte fue de 1.3 gSST/L.

Tabla 6.3. Concentración de biomasa adherida (X_a), suspendida (X_s) y total (X_t), velocidad de degradación y velocidad específica de degradación de fenol en el sistema de reactor híbrido y el sistema de barros activados convencional.

| | X_s (gSST/l) | X_a (gSAT/L) | X_t (gST/L) | R_F (mgDQO/Lh) | q_F (mgF/ (gSTh)) |
|------------------------------|-------------------|-------------------|------------------|---------------------|------------------------|
| Barros activados suspendidos | 1.3 | - | 1.3 | 179 | 138 |
| Barros adheridos al soporte | 0.3 | 1.04 | 1.3 | 93 | 72 |
| Reactor híbrido | 1.9 | 0.9 | 2.8 | 112 | 40 |

6.7. Comparación de la generación de biomasa y la capacidad de biodegradación de suero y fenol entre el reactor de barros activados y el reactor híbrido.

Se comparó la generación de biomasa y la velocidad de degradación de sustrato entre los reactores híbridos y el sistema de barros activados. En la Tabla 6.4 se encuentran los valores de concentración de biomasa suspendida y adherida, y los valores de velocidad de degradación obtenidos en ambos sistemas. Para la biodegradación de suero de queso se compararon los resultados obtenidos correspondientes a un θ_c de 10 días. Como puede observarse en la Tabla 6.4, para este tiempo de residencia celular la biomasa total fue 4 veces mayor en el sistema híbrido respecto al sistema barros activados. Sin embargo, la velocidad de degradación de sustrato en el sistema híbrido fue inferior al sistema de barros activados, esto pudo deberse a problemas de resistencia difusional del sustrato al interior de la biomasa adherida a los soportes. En cambio, para la biodegradación de fenol con un θ_c de 20 días se observó que la biomasa total obtenida en ambos sistemas fue similar, mientras que la biomasa suspendida fue menor en el reactor híbrido. En ambos casos se obtuvieron velocidades de degradación de fenol similares de 120.6 mgF/(L h) para el reactor híbrido y 114.3 mgF/(L h) para el sistema de barros activados.

En base a los resultados obtenidos se pudo establecer que en el reactor híbrido la generación de biomasa adherida fue mayor con suero de queso como fuente de carbono. No obstante, la elevada concentración de sólidos adheridos presentó problemas de transferencia de sustratos al interior de la biomasa adherida lo cual se evidenció en la disminución de los valores de velocidad de degradación de suero de queso. Por otro lado, la formación de biomasa adherida utilizando fenol como fuente de carbono fue menor y las velocidades de degradación de fenol en el reactor híbrido y el sistema de barros activados fueron similares.

Tabla 6.4. Comparación de la concentración de biomasa y velocidades de degradación para reactores híbridos y de barros activados alimentados con suero de queso para un θ_c de 10 días y alimentados con fenol para un θ_c de 20 días.

| | Sustrato | X_s (gSST/L) | X_a (gSAT/L) | X_t (gST/L) | R_s (mgDQO/Lh) ^a | R_f (mgF/L h) ^b |
|------------------|----------|-------------------|-------------------|------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Reactor híbrido | Suero | 4.4 ± 0.1 | 4.8 ± 0.2 | 9.2 ± 0.2 | 544 ± 24 | - |
| Barros activados | Suero | 2.6 ± 0.6 | - | 2.6 ± 0.6 | 914 ± 323 | - |
| Reactor Híbrido | Fenol | 1.8 ± 0.1 | 0.9 ± 0.2 | 2.7 ± 0.2 | - | 121 ± 1 |
| Barros activados | Fenol | 2.7 ± 0.5 | - | 2.8 ± 0.5 | - | 114 ± 8 |

^a y ^b valores de velocidad de degradación de sustrato correspondientes a 2 tiempos de residencia celular para a) tiempo de operación del reactor de 20 d y b) tiempo de operación del reactor de 40 días

Conclusiones del Capítulo

- Se comparó la influencia del tiempo de residencia celular (θ_c) sobre la concentración de biomasa en el reactor de de barros activados. Se observó que con una alimentación con suero de queso la disminución del θ_c de 45 a 40 días no afectó la concentración de biomasa en el reactor. Por el contrario, la reducción del θ_c de 40 a 20 días y de 20 a 10 días produjo un decrecimiento en la biomasa. Por otro lado, en barros activados alimentados con fenol la concentración de biomasa en el reactor se mantuvo aproximadamente constante para θ_c de 45, 40 y 20 días. Luego, la disminución del θ_c a 10 días produjo una marcada disminución en la concentración de biomasa. A pesar de esta disminución, al final de cada ciclo de operación no se detectó fenol en el efluente, indicando un consumo completo del mismo. Por lo cual, la baja concentración de DQO al final de cada ciclo de alimentación tanto con suero de queso o fenol se puede atribuir a la presencia de productos solubles microbianos.

- Se desarrolló un modelo matemático que permite calcular la evolución de la concentración de biomasa en función del número de ciclo de operación según las condiciones utilizadas en el reactor semicontinuo empleado en este trabajo de Tesis. Asimismo, el empleo de las ecuaciones planteadas permite el cálculo del rendimiento de biomasa observable (Y_{obs}) y el coeficiente de decaimiento endógeno (b), con un adecuado ajuste tanto para barros alimentados con suero de queso como con fenol.

- Por otra parte, se demostró que el sistema de reactores híbridos puede ser utilizado en la biodegradación de suero de queso y fenol. Sin embargo, se observó que la velocidad de degradación de estos sustratos disminuyó respecto de la obtenida en el sistema tradicional de barros activados.

- En los reactores híbridos alimentados con suero de queso y fenol se observó que la adhesión de la biomasa al soporte produjo un decrecimiento de la biomasa en suspensión. Además, se determinó que el suero de queso fue un sustrato más eficiente para la generación de biomasa adherida al soporte.

- Se estudió la influencia del θ_c y el tipo de sustrato sobre la concentración de biomasa en reactores híbridos. Se observó que utilizando alimentación con suero de queso y fenol, la disminución del θ_c produjo un decrecimiento en la concentración de biomasa en suspensión y favoreció el desarrollo de biomasa adherida sobre los soportes K1.

- Cuando se adicionó fenol al reactor híbrido alimentado con suero de queso la biomasa suspendida disminuyó mientras que la biomasa adherida se mantuvo aproximadamente constante en los primeros 16 días de operación. Debido a que la biomasa adherida actuaría como inóculo, la biomasa de reactores híbridos podría recuperarse más rápidamente luego de la descarga de fenol en el reactor.



CONCLUSIONES GENERALES

CONCLUSIONES GENERALES

Degradación de fenol, suero de queso y compuestos fenólicos por barros activados.

En los capítulos 3, 4 y 5 del presente trabajo de Tesis se analizaron diferentes aspectos relacionados a la remoción biológica de suero de queso, fenol y compuestos fenólicos. Las principales conclusiones se detallan a continuación:

- *Se determinó que los microorganismos presentes en los sistemas de barros activados pueden ser utilizados para la biodegradación de aguas residuales conteniendo fenol. Se estableció que el proceso de aclimatación es indispensable para desarrollar la actividad enzimática necesaria para degradar el compuesto y obtener los mayores valores de velocidad de degradación. Además, se observó que la velocidad de degradación disminuyó en función del incremento de la concentración inicial de fenol. Para una concentración 800 mgF/L la aclimatación en dos etapas fue una estrategia eficaz ya que el tiempo de adaptación fue menor al necesario en una aclimatación directa y los valores de velocidad específica de degradación obtenidos fueron mayores.*

- *Cuando se estudió la influencia de cambios de sustrato en etapas alternadas de alimentación del reactor con suero de queso y fenol, se demostró que los barros activados pueden adaptarse adecuadamente a variaciones en la composición del agua residual. En las etapas de alimentación con suero de queso la velocidad de degradación de este sustrato se mantuvo aproximadamente constante. En cambio, en las etapas de alimentación con fenol los valores de velocidad de degradación de sustrato se incrementaron en función del grado de aclimatación de los barros activados a fenol. Por otro lado, luego de un período de alimentación con suero de queso los barros activados disminuyeron su capacidad para biodegradar fenol. Sin embargo, los valores de velocidad de degradación para fenol se incrementaron en función del tiempo de operación del reactor con fenol, obteniéndose nuevamente barros activados aclimatados.*

- *La actividad respiratoria de los barros activados asociada a la degradación de suero de queso se correspondió con una cinética de tipo Monod, tanto en las etapas de alimentación con suero de queso como en las etapas con fenol. Por otro lado, se demostró que la actividad respiratoria asociada a la biodegradación de fenol se*

correspondió con una cinética de tipo Haldane durante las etapas de alimentación del reactor con fenol y en etapas posteriores con suero de queso. Cuando el reactor fue alimentado con fenol la actividad respiratoria para fenol se incrementó, mientras que en ausencia de fenol (alimentación con suero de queso) disminuyó. Finalmente, se pudo establecer que frente a variaciones de sustrato en el agua residual los barros activados pudieron ser aclimatados a fenol nuevamente.

- Dado el amplio uso de la respirometría para el estudio de parámetros cinéticos y estequiométricos que caracterizan la biodegradación de los sustratos presentes en aguas residuales, en este trabajo de Tesis se determinaron expresiones que permiten evaluar los errores asociados a la medida de velocidad de respiración. Asimismo, este estudio permite la selección de condiciones de medición adecuadas que minimicen los errores.

- Se aplicó la técnica de respirometría abierta para analizar la biodegradación de compuestos fenólicos. Los resultados indicaron que los barros activados aclimatados a fenol fueron capaces no solo de oxidar fenol, sino también otros compuestos fenólicos de mayor toxicidad como catecol, resorcinol, pirogalol e hidroquinona individualmente y en forma conjunta, como mezclas binarias de fenol con catecol, resorcinol o hidroquinona. Sin embargo, frente a la adición sucesiva de estos compuestos en forma individual se produjo un decrecimiento de la velocidad de degradación. La respirometría demostró ser una técnica adecuada para obtener coeficientes de oxidación de compuestos fenólicos. Mientras que el coeficiente de oxidación de fenol, resorcinol, pirogalol e hidroquinona permaneció constante, el coeficiente de oxidación para catecol se incremento en función de la adición de este sustrato.

- Cuando se adicionaron mezclas binarias de fenol con catecol o resorcinol no se observó una disminución de la actividad respiratoria debido a que las concentraciones estudiadas fueron menores a la concentración necesaria para reducir un 50% las velocidades de consumo de estos sustratos. Además, la adición de fenol pudo tener un efecto protector que contrarrestó la toxicidad de los otros compuestos. Si bien la adición de fenol puede ser empleada como estrategia para reducir el efecto tóxico de otros compuestos fenólicos también se debería analizar el efecto de la adición de concentraciones mayores.

- A partir del perfil respirométrico obtenido para las mezclas se observó que la presencia de un segundo sustrato sólo afecta a la cinética, pero no la estequiometría de la reacción de oxidación. Por ello, en todas las mezclas binarias analizadas se pudo calcular el oxígeno consumido como el producto entre la concentración acumulada de sustrato

adicionada y el correspondiente coeficiente de oxidación de cada compuesto en forma individual.

- Considerando que las aguas residuales poseen variaciones tanto en la composición como en la concentración de compuestos tóxicos, el estudio de la oxidación de los compuestos mencionados anteriormente puede ser de utilidad para prevenir un impacto negativo sobre la actividad de los microorganismos presentes en los sistemas biológico. Los parámetros calculados para la oxidación de suero de queso, fenol y compuestos fenólicos tienen influencia sobre el tratamiento de aguas residuales, debido a la variación que estas presentan en cuanto a su composición.

Variación de la concentración de biomasa en reactor de barros activados y reactor híbrido.

En el capítulo 6 se analizaron aspectos relacionados a la variación de la concentración de biomasa en función de la reducción del tiempo de residencia celular en un reactor de barros activados y un reactor híbrido.

Las principales conclusiones se detallan a continuación:

- En general se observó que tanto para suero de queso como para fenol cuando el reactor de barros activados fue operado con tiempos de residencia celular de 45, 40 y 20 días no se obtuvo una variación significativa de la concentración de biomasa. En cambio, la reducción a 10 días de tiempo de residencia celular produjo un decrecimiento en la concentración de biomasa en el reactor.

- En base a los resultados obtenidos se desarrolló un modelo matemático que permitió predecir la evolución de la concentración de biomasa en función del número de ciclo de operación según las condiciones utilizadas en el reactor semicontinuo empleado en este trabajo de Tesis. El modelo se ajustó satisfactoriamente a los datos experimentales y permitió calcular el rendimiento de biomasa observable y la constante de decaimiento endógeno.

- Por otro lado, se demostró que el sistema de reactores híbridos puede ser utilizado en la biodegradación de suero de queso y fenol. Para ambos sustratos se observó que la adhesión de la biomasa al soporte originó un decrecimiento de la biomasa en suspensión. Asimismo, se estableció que la reducción en el tiempo de residencia celular produjo un decrecimiento en la concentración de biomasa en suspensión y

favoreció el desarrollo de biomasa adherida sobre los soportes. Se determinó que con una alimentación con suero de queso se obtuvo una mayor adhesión de la biomasa. Sin embargo, se observó que la velocidad específica de degradación de este sustrato disminuyó respecto de la obtenida en el sistema tradicional de barros activados. Esto se debió principalmente a la menor actividad que presentó la biomasa adherida. Finalmente, frente a la modificación del sustrato de alimentación (suero de queso por fenol) se observó una menor reducción de la biomasa en el reactor híbrido, dado que este sistema permitió obtener una mayor concentración de biomasa.

NOMENCLATURA

| | |
|--------------------------|---|
| b | Constante de decaimiento endógeno (1/d) |
| b_{tw,Δt} | Pendiente de la regresión lineal de C en función de t evaluada dentro de la ventana t _w |
| C | Concentración de oxígeno disuelto (mmolO ₂ /L) |
| C₀ | Concentración de oxígeno disuelto para t = t ₀ (mmolO ₂ /L) |
| CA | Catecol |
| C_e | Concentración de oxígeno disuelto en equilibrio (mmolO ₂ /L) |
| C_i | Concentración de oxígeno disuelto para t = 0 (mmolO ₂ /L) |
| C_{min} | Concentración mínima de oxígeno disuelto durante la adición de un sustrato oxidable (mmolO ₂ /L) |
| C_s | Concentración de oxígeno disuelto de saturación (mmolO ₂ /L) |
| CVk_La | Coficiente de variación de k _L a |
| DBO | Demanda Bioquímica de Oxígeno |
| DQO | Demanda Química de Oxígeno |
| F | Fenol |
| F/F₀ | Concentración de fenol final/Concentración de fenol inicial |
| F+CA | Mezcla de fenol y catecol |
| F+HY | Mezcla de fenol e hidroquinona |
| F+RE | Mezcla de fenol y resorcinol |
| HY | Hidroquinona |
| IC₅₀ | Concentración de sustrato acumulada que produce 50% de inhibición |
| K_F | Coficiente de saturación de fenol (mgF/L) |
| K_i | Coficiente de inhibición (mgF/L) |
| k_La | Coficiente de transferencia de oxígeno |
| K_s | Constante de saturación de suero de queso (mgDQO/L) |
| m₀ | Peso del tubo de vidrio vacío (g) |
| m₁ | Peso del tubo de vidrio con biomasa (g) |
| OC | Oxígeno consumido (mmolO ₂ /L) |
| OC_{acum} | Oxígeno consumido acumulado (mmolO ₂ /L) |
| OC_{exp} | Oxígeno consumido acumulado experimental (mmolO ₂ /L) |
| OC_m | Oxígeno consumido máximo (mmolO ₂ /L) |
| OC_T | Oxígeno consumido total (mmolO ₂ /L) |

| | |
|-----------------------------------|---|
| OD | Oxígeno disuelto |
| PY | Pirogalol |
| Q_{AR} | Caudal de agua residual a tratar (L) |
| q_{en} | Velocidad específica de respiración endógena (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| q_{ex} | Velocidad específica de respiración exógena (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| q_{Ex} | Velocidad específica de respiración exógena para compuestos fenólicos (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| q_{Ex}[*] | Velocidad específica de respiración exógena máxima observable (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| q_F | Velocidad específica de degradación de fenol (mgF/(gSST h)) |
| qO_{2en} | Velocidad específica de respiración endógena (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| qO_{2F} | Velocidad específica de respiración exógena asociada al consumo de fenol |
| qO_{2Fm} | Velocidad específica de respiración exógena máxima asociada al consumo de fenol (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| qO_{2S} | Velocidad específica de respiración exógena asociada al consumo de suero de queso (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| qO_{2Sm} | Velocidad específica de respiración exógena máxima asociada al consumo de suero de queso (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| qO_{2T} | Velocidad específica de respiración total (mmolO ₂ /(gSST h)) |
| Q_P | Caudal de purga (L/h) |
| q_s | Velocidad específica de degradación de suero de queso (mgDQO/(sSST h)) |
| q_{Smedia} | Velocidad específica media de consumo de sustrato (mmolS/gSST h) |
| q_{Smedia1} | Velocidad específica media de consumo de sustrato en el primer pulso adicionado (mmolS/gSST h) |
| R | Velocidad de respiración (mmolO ₂ /(L h)) |
| RE | Resorcinol |
| R_{en} | Velocidad de respiración endógena (mmolO ₂ /(L h)) |
| R_{ex} | Velocidad de respiración exógena (mmolO ₂ /(L h)) |
| R_{exn} | Velocidad de oxidación exógena evaluada alrededor del punto n |
| R_F | Velocidad de degradación de fenol (mgF/(L h)) |
| R_S | Velocidad de degradación de suero de queso (mgDQO/(L h)) |
| R_T | Velocidad total de respiración total (mmolO ₂ /(L h)) |
| S | Sustrato |
| S[*] | Concentración crítica de sustrato (mmol/L) |

| | |
|-------------------------|--|
| S₀ | Sustrato inicial |
| S_{acum} | Concentración acumulada de sustrato (mmolS/L) |
| SAR | Concentración de sustrato en el agua residual |
| SAT | Sólidos adheridos totales (g/L) |
| S_F | Concentración de sustrato final |
| SST | Sólidos suspendidos totales (g/L) |
| ST | Sólidos totales (g/L) |
| Sum(OC) | Oxígeno consumido acumulado para mezclas binarias de compuestos fenólicos (mmolO ₂ /L). |
| Sum(S) | Concentración acumulada de sustrato para mezclas binarias de compuestos fenólicos (mmolS/L) |
| t | Tiempo |
| t₀ | Tiempo en el cual se inicia la aireación durante la determinación de k _L a por el método dinámico |
| t_C | Tiempo crítico |
| t_D | Tiempo total de degradación |
| t_R | Tiempo de reacción |
| t_T | Tiempo de duración total de cada ciclo de operación del reactor |
| t_w | Ventana de tiempo |
| V | Volumen máximo del reactor en condiciones de operación |
| V_M | Volumen de muestra (L) |
| V_P | Volumen de purga (L) |
| V_R | Volumen del reactor híbrido |
| V_S | Volumen de sobrenadante (L) |
| V_{Sop} | Volumen de soportes |
| X | Concentración de biomasa (gSST/L) |
| X₀ | Concentración inicial de biomasa (gSST/L) |
| X_{0E} | Concentración de biomasa en estado estacionario (gSST/L) |
| X_a | Concentración de biomasa adherida (gSAT/L) |
| X_{AR} | Concentración de biomasa en el agua residual (gSST/L) |
| X_d | Microorganismos degradadores |
| X_F | Concentración de biomasa final (gSST/L) |
| X_{max} | Concentración de biomasa máxima (gSST/L) |

| | |
|-----------|---|
| X_{nd} | Microorganismos no degradadores |
| X_S | Concentración de biomasa suspendida (gSST/L) |
| X_t | Concentración de biomasa total (gST/L) |
| $Y_{O/F}$ | Coefficiente de oxidación para fenol (molO ₂ /molF) |
| $Y_{O/S}$ | Coefficiente de oxidación de sustrato para compuestos fenólicos (molO ₂ /molS) |
| Y_{obs} | Rendimiento observable en biomasa (gSST/gS) |
| $Y_{X/S}$ | Rendimiento verdadero en biomasa (gSST/gS) |

Letras griegas

| | |
|------------------|---|
| Δt | Intervalo de tiempo entre dos datos sucesivos |
| σ_C | Desviación estándar de C |
| σ_b | Desviación estándar del término $b_{tw,\Delta t}$ |
| σ_C^2 | Varianza correspondiente a C |
| σ_{kLa}^2 | Varianza correspondiente a $k_L a$ |
| σ_{OCT}^2 | Varianza correspondiente a OCT |
| σ_{Rex}^2 | Varianza correspondiente a R_{ex} |
| σ_b^2 | Varianza correspondiente a b_{tw} |
| σ_{kLa} | Desviación estándar de $k_L a$ |
| θ_H | Tiempo de residencia hidráulico |
| θ_C | Tiempo de residencia celular |

BIBLIOGRAFÍA

- Abrash, H. I., Shih, D., Elias, W. y Malekmehr, F. (1989). "A kinetic study of the air oxidation of pyrogallol and purpurogallin." *International Journal of Chemical Kinetics* 21(6): 465-476.
- Abu-Salah, K., Shelef, G., Levanon, D., Armon, R. y Dosoretz, C. G. (1996). "Microbial degradation of aromatic and polyaromatic toxic compounds adsorbed on powers activated carbon." *Journal of Biotechnology* 51: 8.
- Ahuatzi-chacón, D., Ordorica-morales, G., Ruiz-ordaz, N., Cristiani-urbina, E., Juárez-ramírez, C. y Galíndez-mayer, J. (2004). "Kinetic study of phenol hydroxylase and catechol 1,2-dioxygenase biosynthesis by *Candida tropicalis* cells grown on different phenolic substrates." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20(7): 695-702.
- Aktas, O. (2012). "Effect of S0/X0 ratio and acclimation on respirometry of activated sludge in the cometabolic biodegradation of phenolic componuds." *Bioresource Technology* 111: 7.
- Al Zarooni, M. y Elshorbagy, W. (2006). "Characterization and assessment of Al Ruwais refinery wastewater." *Journal of Hazardous Materials* 136(3): 398-405.
- Amor, L., Eiroa, M., Kennes, C. y Veiga, M. C. (2005). "Phenol biodegradation and its effect on the nitrification process." *Water Research* 39(13): 2915-2920.
- Antizar-Ladislao, B. y Galil, N. I. (2004). "Biosorption of phenol and chlorophenols by acclimated residential biomass under bioremediation conditions in a sandy aquifer." *Water Research* 38(2): 267-276.
- Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria. (1997). "Catálogo Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental." Edición Argentina. AIDIS ARGENTINA. CIDIS 96/97.
- Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria. (2001). "Catálogo Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental " Edición Argentina. AIDIS ARGENTINA. CIDIS 2001/2003.
- Auge, M. P. (1986). "Hydrodynamic behavior of the Puelche aquifer in Matanza River Basin." *Groundwater*, Dublin, Ohio. 25: 8.
- Auge, M. y Bucich, N. (1995). "Manejo del agua subterránea en La Plata, Argentina." IV Jornadas Geológicas y Geofísicas Bonaerenses (Actas Vol. II). Junín. 229237.

- Autoridad de Cuenca Matanza-Riachuelo. (2007). "Informe correspondiente al plan integral de saneamiento ambiental de la cuenca hídrica Matanza-Riachuelo conforme requerimiento de la corte Suprema de Justicia de la Nación." <http://www.farn.org.ar/participacion/riachuelo/documentos/65preguntas091107.pdf> consultado noviembre 2013.
- Babcock, R., RO, K., Hsie, C. y Strenston, M. K. (1992). "Development of an of-line enriched reactor process for activated sludge degradation of hazardous wastes." *Water Environment Research* 64: 782-791.
- Bajaj, M., Gallert, C. y Winter, J. (2008). "Biodegradation of high phenol containing synthetic wastewater by an aerobic fixed bed reactor." *Bioresource Technology* 99(17): 8376-8381.
- Banco Mundial (1994). Banco Mundial. . Argentina: Water Supply and Sewerage Sector Note, Informe N° 12810AR.
- Barrionuevo, J., Bernavá, G., Brignoles, P., Caballero, L., Caro, A., Deyá, C., Gamarra, M., losquin, C., Mastrantonio, G., Morcelle, S., Giannuzzi, L. y Magariños, M. (1997). "Calidad de aguas subterráneas de La Plata y Berisso. Congreso Internacional sobre Aguas." Workshop sobre Química Ambiental y Salud. Buenos Aires, Argentina.
- Bayly, R. C. y Barbour, M. G. (1984). "The Degradation of Aromatic Compounds by the meta and Gentisate Pathways. In *Microbial Degradation of Organic Compounds*." Marcel Dekker Inc., (D.T. Gibson, Ed.). New York.: 41.
- Bernardes, R. S., Spanjers, H. y Klapwijk, A. (1999). "Modelling respiration rate and nitrate removal in a nitrifying-denitrifying SBR treating domestic wastewater." *Bioresource Technology* 67(2): 177-189.
- Bitton, G. (2005). *Wastewater Microbiology (3rd ed)* Wiley Series in Ecological and Applied Microbiology. . .
- Borghei, S. M. y Hosseini, S. H. (2004). "The treatment of phenolic wastewater using a moving bed biofilm reactor." *Process Biochemistry* 39(10): 1177-1181.
- Botkin, D. B. y Keller, E. A. (2000). *Environmental science Earth as a living planet*. Third Edition. John Wiley & Sons, INC. N.Y.
- Bromba, M. A. U. y Ziegler, H. (1981). "Application Hints for Savitzky-Golay Digital Smoothing Filters." *Analytical Chemistry* 53: 3.
- Buitrón, G. y Capdeville, B. (1995). "Enhancement of the Biodegradation Activity by the Acclimation of the Inoculum." *Environmental Technology* 16(12): 1175-1184.

- Buitron, G. y Gonzalez, A. (1996). Characterization of the microorganisms from an acclimated activated sludge degrading phenolic compounds. *Water Science and Technology*. 34: 289-294.
- Buitrón, G. y Moreno, J. (2004). "Modeling of the acclimation/deacclimation process of a mixed culture degrading 4-chlorophenol." *Water Science and Technology* 49(1): 79-86.
- Buitrón, G., Schoeb, M. E., Moreno-Andrade, I. y Moreno, J. A. (2005). "Evaluation of two control strategies for a sequencing batch reactor degrading high concentration peaks of 4-chlorophenol." *Water Research* 39(6): 1015-1024.
- Busca, G., Berardinelli, S., Resini, C. y Arrighi, L. (2008). "Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments." *Journal of Hazardous Materials* 160(2-3): 265-288.
- Buswell, J., A (1975). "Metabolism of phenol and cresols by *Bacillus stearothermophilus*." *Journal of Bacteriology* 124: 6.
- Caravelli, A., H., "Desarrollo y evaluación de métodos para el control de microorganismos filamentosos en barros activados". (2004). Tesis Doctoral. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
- Carvalho, G., Novais, J. M., Pinheiro, H. M. y Vanrolleghem, P. A. (2004). "Model development and application for surfactant biodegradation in an acclimating activated sludge system." *Chemosphere* 54: 8.
- Chandran, K. y Smets, B. (2000). "Applicability of two-step models in estimating nitrification kinetics from batch respirograms under different relative dynamics of ammonia and nitrite oxidation." *Biotechnology and Bioengineering* 70: 10.
- Chapman, P., J. y Ribbons, D., W (1976). "Metabolism of resorcinolic compounds by bacteria: alternative pathways for resorcinol catabolism in *Pseudomonas putida*." *Journal of Bacteriology* 125: 13.
- Cheng Sun , TorOve Leiknes , Ranveig Haukeland Fredriksen y Riviere, E. (2012). "Comparison of membrane filtration performance between biofilm-MBR and activated sludge-MBR." *Desalination and Water treatment* 48: 8.
- Chong, N. M. y Lin, T. Y. (2007). "Measurement of the degradation capacity of activated sludge for a xenobiotic organic." *Bioresource Technology* 98(5): 1124-1127.
- Chong, N. M., Huang, W. S. y Chen, Y. S. (2008). "Loss of degradation capacity of activated sludge for a xenobiotic after a period without its influent." *Bioresource Technology* 99(18): 8729-8734.

- Chong, N.-M. y Chen, Y.-S. (2007). "Activated sludge treatment of a xenobiotic with or without a biogenic substrate during start-up and shocks." *Bioresource Technology* 98(18): 3611-3616.
- Christen, P., Vega, A., Casalot, L., Simon, G. y Auria, R. (2012). "Kinetics of aerobic phenol biodegradation by the acidophilic and hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* 98/2." *Biochem. Eng. J* 62: 7.
- Chudoba, J., Cech, J., Farkac, J. y Grau, P. (1985). "Control of activated sludge filamentous bulking. Experimental verification of a kinetic selection theory." *Water Research* 19: 7.
- Coello Oviedo, M. D., López-Ramírez, J. A., Sales Márquez, D. y Quiroga Alonso, J. M. (2003). "Evolution of an activated sludge system under starvation conditions." *Chemical Engineering Journal* 94(2): 139-146.
- Cokgor, E. U., Karahan, O. y Orhon, D. (2008). "The effect of mixing pharmaceutical and tannery wastewaters on the biodegradation characteristics of the effluents." *Journal of Hazardous Materials* 156(1–3): 292-299.
- Comisión sobre el Desarrollo Sustentable. (1997 a). "Comprehensive Assessment of the Freshwater Resources of the World. Report of the Secretary General." United Nations Economics and Social Council. 170.
- Contreras, E. M., Albertario, M. E., Bertola, N. C. y Zaritzky, N. E. (2008). "Modelling phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques." *Journal of Hazardous Materials* 158(2–3): 366-374.
- Contreras, E. M., Ferro Orozco, A. M. y Zaritzky, N. E. (2011). "Biological Cr(VI) removal coupled with biomass growth, biomass decay, and multiple substrate limitation." *Water Research* 45(10): 3034-3046.
- Costerton, J. W., Irvin, R. T. y Cheng, K. J. (1981). "The Bacterial Glycocalyx in Nature and Disease." *Annual Review of Microbiology* 35: 25.
- Custodio, E. y Llamas, M. R. (1983). "Hidrología subterránea. Ed. Omega, 2ª edición. Barcelona."
- Dalin, N., M., y Kristofferson, R. (1974). "Physiological effects of a sublethal concentration of inhaled phenol on the rat" *ANN. Zool. Fenn* 11: 7.
- Delfino, F. y Dube, D., J (1976). "Persistent contamination of ground water by phenol." *Journal of Environmental Science and Health* 43.

- Dey, S. y Mukherjee, S. (2013). "Biodegradation kinetics of Bi-substrate solution of phenol and resorcinol in an aerobic batch reactor." *KSCE Journal of Civil Engineering* 17(7): 1587-1595.
- Divari, S., Valetti, F., Caposio, P., Pessione, E., Cavaletto, M., Griva, E., Gribaudo, G., Gilardi, G. y Giunta, C. (2003). "The oxygenase component of phenol hydroxylase from *Acinetobacter radioresistens* S13." *European Journal of Biochemistry* 270(10): 2244-2253.
- Ellis, L. B. M., Roe, D. y Wackett, L. (2006). "The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database: The First Decade." *Nucleic Acids Res* 34: 5.
- Enroth, C., Neujahr, H., Schneider, G. y Lindqvist, Y. (1998). "The crystal structure of phenol hydroxylase in complex with FAD and phenol provides evidence for a concerted conformational change in the enzyme and its cofactor during catalysis." *Structure* 6(5): 605-617.
- Eppink, M. H. M., Boeren, S. A., Vervoort, J. y Van Berkel, W. J. H. (1997). "Purification and properties of 4-hydroxybenzoate 1-hydroxylase (decarboxylating), a novel flavin adenine dinucleotide-dependent monooxygenase from *Candida parapsilosis* CBS604." *Journal of Bacteriology* 179(21): 6680-6687.
- Essam, T., Amin, M. A., Tayeb, O. E., Mattiasson, B. y Guieysse, B. (2010). "Kinetics and metabolic versatility of highly tolerant phenol degrading *Alcaligenes* strain TW1." *Journal of Hazardous Materials* 173(1-3): 783-788.
- Evaluación de la Gestión del Agua en Agricultura. (2007). "Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture. Water for Food, Water for Life: A Comprehensive Assessment of Water Management in Agriculture. London: Earthscan, and Colombo:." International Water Management Institute.
- Falás, P., Baillon-Dhumez, A., Andersen, H. R., Ledin, A. y la Cour Jansen, J. (2012). "Suspended biofilm carrier and activated sludge removal of acidic pharmaceuticals." *Water Research* 46(4): 1167-1175.
- Falletti, L. y Conte, L. (2007). "Upgrading of Activated Sludge Wastewater Treatment Plants with Hybrid Moving-Bed Biofilm Reactors." *Industrial & Engineering Chemistry Research* 46(21): 6656-6660.
- Fang, H. H. P. (1991). "Treatment of Wastewater from a Whey Processing Plant Using Activated Sludge and Anaerobic Processes." *Journal of Dairy Science* 74(6): 2015-2019.

- Fasce, M. (1982). "Regímenes y caudales fluviales. En: Atlas Total de la República Argentina." Centro Editor de América Latina, Buenos Aires, Argentina, vol. 24.
- Frigon, J. C., Breton, J., Bruneau, T., Moletta, R. y Guiot, S. R. (2009). "The treatment of cheese whey wastewater by sequential anaerobic and aerobic steps in a single digester at pilot scale." *Bioresource Technology* 100(18): 4156-4163.
- Gannoun, H., Khelifi, E., Bouallagui, H., Touhami, Y. y Hamdi, M. (2008). "Ecological clarification of cheese whey prior to anaerobic digestion in upflow anaerobic filter." *Bioresource Technology* 99(14): 6105-6111.
- Gavrilescu, M. y Macoveanu, M. (2000). "Attached-growth process engineering in wastewater treatment." *Bioprocess Engineering* 23(1): 95-106.
- Gernaey, K., Petersen, B., Dochain, D. y Vanrolleghem, P. A. (2002). "Modeling aerobic carbon source degradation processes using titrimetric data and combined respirometric–titrimetric data: Structural and practical identifiability." *Biotechnology and Bioengineering* 79(7): 754-767.
- Godbole, A. y Chakrabarti, T. (1991). "Biodegradation in upflow anoxic fixed film-fixed bed reactors of resorcinol, catechol and phenol in mono and binary substrates matrices." *Water Research* 25(9): 1113-1120.
- Gogate, P. R. y Pandit, A. B. (1999). "Survey of measurement techniques for gas–liquid mass transfer coefficient in bioreactors." *Biochemical Engineering Journal* 4(1): 7-15.
- González, N., Hernández, M. A. y Ruiz de Galarreta, V. A. (1999). "Investigación de la contaminación en el acuífero freático. Cuenca de los arroyos MartínCarnaval. Buenos Aires, Argentina." II Congreso Argentino de Hidrogeología y IV Seminario Hispano Argentino sobre Temas Actuales de la Hidrología Subterránea. En *Hidrología Subterránea* (Ed. Dr. Tineo). Serie de Correlación Geológica N° 13. Instituto Superior de Correlación Geológica - CONICET, Facultad de Ciencias Naturales e Instituto Miguel Lillo, Universidad Nacional de Tucumán. 195202.
- Goudar, C. T., Ganji, S. H., Pujar, B. G. y Strevett, K. A. (2000). "Substrate inhibition kinetics of phenol biodegradation." *Water Environment Research* 72: 6.
- Greenpeace (2013). "Las Aguas siguen bajando turbias. ." Análisis sobre la calidad de aguas superficiales en la Cuenca Matanza-Riachuelo Campañas ACUMAR 2008-2012.
- Groseclose, E. E. y Ribbons, D. W. (1981). "Metabolism of resorcinylic compounds by Bacteria new pathway resorcinol catabolism in *Azobacter vinelandii*." *Journal of Bacteriology* 146: 7.

- Guisasola, A., Baeza, J. A., Carrera, J., Sin, G., Vanrolleghem, P. A. y Lafuente, J. (2006). "The influence of experimental data quality and quantity on parameter estimation accuracy. Andrews inhibition model as a case study." *Education for Chemical Engineers* 1: 7.
- Gujer, W., Henze, M., Mino, T., van Loosdrecht, M., 1999. "Activated sludge model no. 3". *Water Science and Technology* 39 (1), 183-193.
- Gutiérrez, J. L. R., Encina, P. A. G. y Fdz-Polanco, F. (1991). "Anaerobic treatment of cheese-production wastewater using a UASB reactor." *Bioresource Technology* 37(3): 271-276.
- Guzik, U., Greń, I., Hupert-Kocurek, K. y Wojcieszńska, D. (2011). "Catechol 1,2-dioxygenase from the new aromatic compounds – Degrading *Pseudomonas putida* strain N6." *International Biodeterioration & Biodegradation* 65(3): 504-512.
- Harwood, C. S. y Parales, R. E. (1996). "The p-Ketoadipate Pathway and the Biology of Self-Identity. ." *Annual Reviewer in Microbiology*. 53: 67.
- Hernández, M. A., Fili, M. F., Auge, M. P. y Ceci, J. H. (1979). "Geohidrología de los acuíferos profundos de la Provincia de Buenos Aires." VI Congreso Geológico Argentino. Buenos Aires. 479500.
- Hernández, M. A., González, N., De Felippi, R. C. y Ruiz de Galarreta, A. (1992). "Reconocimiento geohidrológico ambiental en el área de Santa Catalina, Lomas de Zamora." *Actas de las 3as Jornadas Geológicas Bonaerenses*. La Plata, Argentina. 175181.
- Hill, G. A. y Robinson, C. W. (1975). "Substrate inhibition kinetics: Phenol degradation by *Pseudomonas putida*." *Biotechnology and Bioengineering* 17(11): 1599-1615.
- Hinteregger, C., Leitner, R., Loidl, M., Ferschl, A. y Streichsbier, F. (1992). "Degradation of phenol and phenolic compounds by *Pseudomonas putida* EKII." *Applied Microbiology and Biotechnology* 37(2): 252-259.
- Hsu, Y. C., Chen, J. H. y Yang, H. C. (2007). "Calcium enhanced COD removal for the ozonation of phenol solution." *Water Research* 41(1): 71-78.
- Informe de la Auditoria General de la Nación, A. (1995-2005). "La problemática ambiental de la cuenca hídrica MatanzaRiachuelo.Período 1995-2005.
- Ingle, A. O., Purohit, H. J., Dagainwala, H. F. (1985). "Studies on the biodegradation of resorcinol by indigenously isolated bacteria, mold and yeast". *Journal of Environmental Biology* 6 (1):45–55.

- Instituto Blacksmith y Cruz Verde Suiza. (2013). "The world worst 2013: the top ten toxic threats " <http://www.worstpolluted.org/docs/TopTenThreats2013.pdf> consultado noviembre 2013.
- Instituto de Investigaciones Médicas EEUU. (1999). ""Two-generation oral (drinking water) reproductive toxicity study of phenol in rats." " Chicago, IL. IITLI Project No L08657. Study No. 2 1.
- Instituto Nacional de Salud USA. (2012). "Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Pyrogallol (CAS No. 87-66-1) in F344/N Rats and B6C3F1/N Mice (Dermal Studies)". National Toxicology Program. US National Institutes of Health Publication No. 12-5916. Disponible en: http://ntp.niehs.nih.gov/Ntp/About_Ntp/Trpanel/2012/February/DraftTR574.pdf. Consultado en noviembre 2013
- Jahren, S. J., Rintala, J. A. y Ødegaard, H. (2002). "Aerobic moving bed biofilm reactor treating thermomechanical pulping whitewater under thermophilic conditions." *Water Research* 36(4): 1067-1075.
- Janczukowicz, W., Zieliński, M. y Dębowski, M. (2008). "Biodegradability evaluation of dairy effluents originated in selected sections of dairy production." *Bioresource Technology* 99(10): 4199-4205.
- Jianlong, W., Hanchang, S. y Yi, Q. (2000). "Wastewater treatment in a hybrid biological reactor (HBR): effect of organic loading rates." *Process Biochemistry* 36(4): 297-303.
- Johnson, C. H., Page, M. W. y Krohn, D. (2000). "Full scale results from refinery and slaughter house wastewater in moving bed biofilm reactor." *Proceedings of the Water Environment Federation* 2000(5): 248-260.
- Kawanishi, S., Inoue, S. y Kawanishi, M. (1989). "Human DNA damage induced by 1,2,4-benzenetriol, a benzene metabolite." *Cancer Research* 49: 5.
- Kirchner, U., Westphal, A. H., Müller, R. y Van Berkel, W. J. H. (2003). "Phenol Hydroxylase from *Bacillus thermoglucosidasius* A7, a Two-protein Component Monooxygenase with a Dual Role for FAD." *Journal of Biological Chemistry* 278(48): 47545-47553.
- Krastanov, A., Alexieva, Z. y Yemendzhiev, H. (2013). "Microbial degradation of phenol and phenolic derivatives." *Engineering in Life Sciences* 13(1): 76-87.
- Kumar, A. y Kumar, S. (2005). "Biodegradation kinetics of phenol and catechol using *Pseudomonas putida* MTCC 1194." *Biochemical Engineering Journal* 22(2): 151-159.

- Kumaran, P. y Paruchuri, Y. L. (1997). "Kinetics of phenol biotransformation." *Water Research* 31(1): 11-22.
- Kwon, K. H. y Yeom, S. H. (2009). "Optimal microbial adaptation routes for the rapid degradation of high concentration of phenol." *Bioprocess and Biosystems Engineering* 32(4): 435-442.
- Lagarde, F., Tusseau-Vuillemin, M.-H., Lessard, P., Héduit, A., Dutrop, F. y Mouchel, J.-M. (2005). "Variability estimation of urban wastewater biodegradable fractions by respirometry." *Water Research* 39(19): 4768-4778.
- Latkar, M., Swaminathan, K. y Chakrabarti, T. (2003). "Kinetics of anaerobic biodegradation of resorcinol catechol and hydroquinone in upflow fixed film–fixed bed reactors." *Bioresource Technology* 88(1): 69-74.
- Léonard, D. y Lindley, N. D. (1999). "Growth of *Ralstonia eutropha* on inhibitory concentrations of phenol: Diminished growth can be attributed to hydrophobic perturbation of phenol hydroxylase activity." *Enzyme and Microbial Technology* 25(3-5): 271-277.
- Lepik, R. y Tenno, T. (2011). "Biodegradability of phenol, resorcinol and 5-methyl resorcinol as single and mixed substrates by activated sludge." *Oil Shale* 28: 21.
- Lucas, D. D. y Prinn, R. G. (2005). "Parametric sensitivity and uncertainty analysis of dimethylsulfide oxidation in the clear-sky remote marine boundary layer." *Atmospheric Chemistry & Physics* 5: 21.
- Maeda-Yorita, K. y Massey, V. (1993). "On the reaction mechanism of phenol hydroxylase. New information obtained by correlation of fluorescence and absorbance stopped flow studies." *Journal of Biological Chemistry* 268(6): 4134-4144.
- Majumder, P. S. y Gupta, S. K. (2003). "Hybrid reactor for priority pollutant nitrobenzene removal." *Water Research* 37(18): 4331-4336.
- Malpartida, A. R. (2002). "La cuenca del río MatanzaRiachuelo. ." Universidad Tecnológica Nacional, Argentina.
- Mancuso, W. y Teran, J., C. (2012). "El sector lácteo argentino." XXI Curso Internacional de lechería para profesionales de América latina INTA: 10.
- Marsili-Libelli, S. y Tabani, F. (2002). "Accuracy analysis of a respirometer for activated sludge dynamic modelling." *Water Research* 36(5): 1181-1192.
- Matera, I., Ferraroni, M., Kolomytseva, M., Golovleva, L., Scozzafava, A. y Briganti, F. (2010). "Catechol 1,2-dioxygenase from the Gram-positive *Rhodococcus opacus*

- 1CP: Quantitative structure/activity relationship and the crystal structures of native enzyme and catechols adducts." *Journal of Structural Biology* 170(3): 548-564.
- Mayer, R. y Que, L. (1984). "18O studies of pyrogallol Cleavage by Catechol 1,2-Dioxygenase." *Journal of Biological Chemistry* 259: 5.
- Metcalf y Eddy (2003). *Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse*. . Mc Graw Hill, New York.
- Michałowicz, J. y Duda, W. (2007). "Phenols – Sources and Toxicity." *Polish Journal of Environmental* 16: 15.
- Ministerio de Agricultura Ganadería y Pesca. (2011). "Estadísticas subsecretaría de lechería." 2013.
- Momo, F., Cuevas, W., Giorgi, A., Banchemo, M., Rivelli, S., Feijoó, C. y Gómez Vázquez, A. (2000). "Evaluación de la calidad de aguas subterráneas. ." *Actas del XVIII Congreso Nacional del Agua*. Termas de Río Hondo. Santiago del Estero, Argentina. En CDROM.
- Moreno, G. y Buitrón, G. (2004). "Influence of the origin of the inoculum and the acclimation strategy on the degradation of 4-chlorophenol." *Bioresource Technology* 94(2): 215-218.
- Moreno-Andrade, I., Buitrón, G. y Vargas, A. (2009). "Effect of starvation and shock loads on the biodegradation of 4-chlorophenol in a discontinuous moving bed biofilm reactor." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 158(1): 222-230.
- Mosera, V., C. , Cheek, B., M. , y MacPhail, R., C. , (1995). "A multidisciplinary approach to toxicological screening: III. Neurobehavioral toxicity." 45: 40.
- Nakagawa, H. y Takeda, Y. (1962). "Phenol hydroxylase." *Biochim. Biophys. Acta* 62, 423-428.
- Neujahr, H. Y. y Gaal, A. (1975). "Phenol hydroxylase from yeast. Sulfhydryl groups in phenol hydroxylase from *Trichosporon cutaneum*." *European Journal of Biochemistry* 58: 8.
- Neujahr, H. Y. y Varga, J. M. (1970). "Degradation of phenols by intact cells and cells-free preparations of *Trichosporon cutaneum*." *European Journal of Biochemistry* 13: 7.
- Nuhoglu, A. y Yalcin, B. (2005). "Modelling of phenol removal in a batch reactor." *Process Biochemistry* 40(3-4): 1233-1239.
- Ødegaard., H., Rusten., B. y Westrum., T. (1994). "A New Moving Bed Biofilm Reactor Applications and Results." *Water Science and Technology* 29: 8.

- Organización Mundial de la Salud. (1994). "Phenol, Environmental Health Criteria-EHC 161." World Health Organization, Geneva.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). Informe de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos en el Mundo : Agua para todos, agua para la vida (2003). París, Nueva York y Oxford, UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura) y Berghahn Books.
- Organización Mundial de la Salud. y Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia. (2000). Informe "Global Water Supply and Sanitation Assessment Report. Geneva and New York, World Health Organization and United Nations Children`s Fund" Disponible en: <http://www.unicef.org/wash/files/gafull.pdf> Consultado Noviembre 2013
- Orhon, D. y Artan, N. (1994). "Modelling of activated sludge systems." Technomic Publishing Company, INC. Lancaster, USA 2da Edición.
- Orhon, D., Cokgor, E. U., Insel, G., Karahan, O. y Katipoglu, T. (2009). "Validity of Monod kinetics at different sludge ages – Peptone biodegradation under aerobic conditions." *Bioresource Technology* 100(23): 5678-5686.
- Orhon, D., Cokgor, E. U., Insel, G., Karahan, O. y Katipoglu, T. (2009). "Validity of Monod kinetics at different sludge ages – Peptone biodegradation under aerobic conditions." *Bioresource Technology* 100(23): 5678-5686.
- Orozco Barrenetxea, C., Pérez Serrano, A., González Delgado, M. N., Rodríguez Vidal, F. J. y Alfayate Blanco, J. M. (2002). "Contaminación ambiental. Una visión desde la química." Internacional Thomson Editores Spain Paraninfo S.A., España.
- Orozco, A. M. F., Contreras, E. M. y Zaritzky, N. E. (2008). "Modelling Cr(VI) removal by a combined carbon-activated sludge system." *Journal of Hazardous Materials* 150(1): 46-52.
- Orupöld, K., Maširin, A. y Tenno, T. (2001). "Estimation of biodegradation parameters of phenolic compounds on activated sludge by respirometry." *Chemosphere* 44(5): 1273-1280.
- Pasternack, G. B., Gilbert, A. T., Wheaton, J. M. y Buckland, E. V. (2006). "Error propagation for velocity and shear stress prediction using 2D models for environmental management." *Journal of Hidrology* 328: 14.
- Pawlowsky, U. y Howell, J. A. (1973). "Mixed culture biooxidation of phenol. I. Determination of kinetic parameters." *Biotechnology and Bioengineering* 15(5): 889-896.

- Peter, F., Jones, E. y Johnson, K. (1973). "Estimation of Phenols by the 4-Aminoantipyrine Method. II. Products from para-Substituted Alkylphenols." *Canadian Journal of Chemistry* 51: 3733-3738.
- Petersen, B., Gernaël, K. y Vanrolleghem, P. A. (2001). "Practical identifiability of model parameters by combined respirometric-tritometric measurements." *Water Science & Technology* 43: 8.
- Plan de Gestión Ambiental. (1995). "Informe de la Auditoria General de la Nación. Anexo F. Argentina."
- Pramparo, L., Suárez-Ojeda, M. E., Pérez, J. y Carrera, J. (2012). "Kinetics of aerobic biodegradation of dihydroxybenzenes by a p-nitrophenol-degrading activated sludge." *Bioresource Technology* 110: 57-62.
- Prazeres, A. R., Carvalho, F. y Rivas, J. (2012). "Cheese whey management: A review." *Journal of Environmental Management* 110: 48-68.
- Puskeiler, R. y Weuster-Botz, D. (2005). "Combined sulfite method for the measurement of the oxygen transfer coefficient k_{La} in bioreactors." *Journal of Biotechnology* 120: 9.
- Ramallo, R. S. (1993). *Tratamiento de aguas residuales*. Reverté S.A. Barcelona, España.
- Rezouga, F., Hamdi, M. y Sperandio, M. (2009). "Variability of kinetic parameters due to biomass acclimation: Case of para-nitrophenol biodegradation." *Bioresource Technology* 100(21): 5021-5029.
- Ricco, G., Tomei, M. C., Ramadori, R. y Laera, G. (2004). "Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox®." *Water Research* 38(8): 2103-2110.
- Rivas, J., Prazeres, A. R. y Carvalho, F. (2011). "Aerobic Biodegradation of Precoagulated Cheese Whey Wastewater." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59(6): 2511-2517.
- Rivas, J., Prazeres, A. R., Carvalho, F. y Beltrán, F. (2010). "Treatment of Cheese Whey Wastewater: Combined Coagulation-Flocculation and Aerobic Biodegradation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(13): 7871-7877.
- Rivas, J., Prazeres, A. R., Carvalho, F. y Beltrán, F. (2010). "Treatment of cheese whey wastewater: Combined Coagulation - Flocculation and aerobic biodegradation." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(13): 7871-7877.
- Rodgers, M. y Zhan, X. M. (2003). "Moving-Medium Biofilm Reactors." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 2(2-4): 213-224.

- Ronco, A., Peluso, L., Jurado, M., Bulus Rossini, G. y Salibian, A. (2008). "Screening of Sediment Pollution in Tributaries from the Southwestern Coast of the Río de la Plata Estuary." *Latin American journal of sedimentology and basin analysis* 15: 67-75.
- Rozich, A. F. y Gaudy, J. A. F. (1985). "Response of Phenol-Acclimated Activated Sludge Process to Quantitative Shock Loading." *Journal of Water Pollution Control Federation* 57: 8.
- Rusten, B., Matteson, E., Broch-Due, A. y Westrum, T. (1994). "Treatment of pulp and paper industry wastewater in novel moving bed biofilm reactors." *Water Science and Technology* 30: 10.
- Rusten, B., Eikebrokk, B., Ulgenes, Y. y Lygren, E. (2006). "Design and operations of the Kaldnes moving bed biofilm reactors." *Aquacultural Engineering* 34(3): 322-331.
- Rusten, B., Hem, L. J. y degaard, H. (1995). "Nitrification of municipal wastewater in moving-bed biofilm reactors." *Water Environment Research* 67(1): 75-86.
- Rusten, B., Siljudalen, J. G. y Strand, H. (1996). "Upgrading of a biological-chemical treatment plant for cheese factory wastewater." *Water Science and Technology* 34(11): 41-49.
- Sala, J. M. (1969). "El agua subterránea en el nordeste de la Provincia de Buenos Aires, Argentina." *Reunión Geología del Agua Subterránea. CIC. La Plata, Provincia de Buenos Aires.* 2549.
- Saminathan, S. M., Galvez-Cloutier, R. y Kamal, N. (2013). "Performance and Microbial Diversity of Aerated Trickling Biofilter Used for Treating Cheese Industry Wastewater." *Applied Biochemistry and Biotechnology* 170(1): 149-163.
- Santos, A., Yustos, P. y García-Ochoa, F. (2004). "Evolution of toxicity upon wet catalytic oxidation of phenol." *Environmental Science and Technology* 38: 6.
- Saravanan, P., Pakshirajan, K. y Saha, P. (2008). "Growth kinetics of an indigenous mixed microbial consortium during phenol degradation in a batch reactor." *Bioresource Technology* 99(1): 205-209.
- Savitzky, A. y Golay, M. J. E. (1964). "Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures." *Analytical Chemistry* 36: 12.
- Serra, A. E., Toschi, N. O., Anvaría, O., Altieri, A., Orlando, A. M. y Bazán, J. M. (1994). "Río de La Plata. Calidad de Aguas Franja Costera Sur." *OSN-AGOSBA-SIHN, Argentina.*
- Sezgin, M., Jenkins, D. y Parker, D. S. (1978). "A unified theory of filamentous activated sludge bulking." *Journal of the Water Pollution Control Federation* 50(2): 362-381.

- Shen, Y., Zhao, W., Xiao, K. y Huang, X. (2010). "A systematic insight into fouling propensity of soluble microbial products in membrane bioreactors based on hydrophobic interaction and size exclusion." *Journal of Membrane Science* 346(1): 187-193.
- Sollfrank, U. y Gujer, W. (1990). "Simultaneous determination of oxygen uptake rate and oxygen transfer coefficient in activated sludge systems by an on-line methods." *Water Research* 24: 8.
- Spain, J. y Gibson, D. (1991). "Pathway for biodegradation of p-nitrophenol in *Moxarella* sp." *Applied Environmental Microbiology* 57: 7.
- Spanjers, H., Olsson, G. y Klapwijk, A. (1994). "Determining short-term biochemical oxygen demand and respiration rate in an aeration tank by using respirometry and estimation." *Water Research* 28(7): 1571-1583.
- Suarez-Ojeda, M. E., Guisasola, A., Baeza, J. A., Fabregat, A., Stüber, F., Fortuny, A., Font, J. y Carrera, J. (2007). "Integrated catalytic wet air oxidation and aerobic biological treatment in a municipal WWTP of a high-strength o-cresol wastewater." *Chemosphere* 66(11): 2096-2105.
- Tallur, P. N., Megadi, V. B. y Ninnekar, H. Z. (2008). "Biodegradation of Cypermethrin by *Micrococcus* sp. strain CPN 1." *Biodegradation* 19: 5.
- Vaillancourt, F. H., Labbe, G., Drouin, N. M., Fortin, P. D. y Eltis, L. D. (2002). "The mechanism-based inactivation of 2,3-Dihydroxybiphenyl 1,2-Dioxygenase by catecholic substrates." *Journal of Biological Chemistry* 277: 8.
- van Schie, P. M. y Young, L. Y. (2000). "Biodegradation of Phenol: Mechanisms and Applications." *Bioremediation Journal* 4(1): 1-18.
- Vanrolleghem, P. A., Daele, M. V. y Dochain, D. (1995). "Practical identifiability of a biokinetic model of activated sludge respiration." *Water Research* 29(11): 2561-2570.
- Vanrolleghem, P., Kong, A., Z, Rombouts, G. y Verstraete, W. (1994). "An on-line respirographic biosensor for the characterization of load and toxicity of wastewaters." *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 59(4): 12.
- Viggor, S., Heinaru, E., Kunnapas, A. y Heinaru, A. (2008). "Evaluation of different phenol hydroxylase-possessing phenol-degrading pseudomonads by kinetic parameters." *Biodegradation* 19: 10.
- Villaseñor, J., Reyes, P. y Pecchi, G. (2002). "Catalytic and photocatalytic ozonation of phenol on MnO₂ supported catalysts." *Catalysis Today* 76(2-4): 121-131.

- Vivo-Truyols, G. y Schoenmakers, P. J. (2006). "Automatic Selection of Optimal Savitzky-Golay Smoothing." *Analytical Chemistry* 78: 10.
- Wang, C.-L., You, S.-L. y Wang, S.-L. (2006). "Purification and characterization of a novel catechol 1,2-dioxygenase from *Pseudomonas aeruginosa* with benzoic acid as a carbon source." *Process Biochemistry* 41(7): 1594-1601.
- Wang, Z.-P. y Zhang, T. (2010). "Characterization of soluble microbial products (SMP) under stressful conditions." *Water Research* 44(18): 5499-5509.
- Water, W. C. o. (1999). "World's Rivers in Crisis Some are Dying; Others Couldie. World Water Council." World Commision on Water.
- WHO (1994). "Phenol, Environmental Health Criteria-EHC 161." World Health Organization, Geneva.
- Wiggins, B. A., Jones, S. H. y Alexander, M. (1987). "Explanations for the acclimation period preceding the mineralization of organic chemicals in aquatic environments." *Applied and Environmental Microbiology* 53(4): 791-796.
- Wigmore, G. J. y Bayly, R. C. (1974). "A mutant of *Pseudomonas putida* with altered regulation of the enzymes for degradation of phenol and cresols." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 60(1): 48-55.
- Winkler M., A. (1996). "Tratamiento biológico de aguas de desecho." Editorial Limusa S.A. México D.F.
- Xie, W. M., Ni, B. J., Seviour, T., Sheng, G. P. y Yu, H. Q. (2012). "Characterization of autotrophic and heterotrophic soluble microbial product (SMP) fractions from activated sludge." *Water Research* 46: 8.
- Xie, W.-M., Ni, B.-J., Seviour, T. y Yu, H.-Q. (2013). "Evaluating the impact of operational parameters on the formation of soluble microbial products (SMP) by activated sludge." *Water Research* 47(3): 1073-1079.
- Xing, X. H., Jun, B. H., Yanagida, M., Tanji, Y. y Unno, H. (2000). "Effect of C/N values on microbial simultaneous removal of carbonaceous and nitrogenous substances in wastewater by single continuous-flow fluidized-bed bioreactor containing porous carrier particles." *Biochemical Engineering Journal* 5(1): 29-37.
- Yang, P. Y., Zhang, Z. Q. y Jeong, B. G. (1997). "Simultaneous removal of carbon and nitrogen using an entrapped-mixed-microbial-cell process." *Water Research* 31: 8.
- Yoong, E. T., Lant, P. A. y Greenfield, P. F. (2000). "In situ respirometry in an SBR treating wastewater with high phenol concentrations." *Water Research* 34(1): 239-245.

- Zeng, H. Y., Jiang, H., Xia, K., Wang, Y. J. y Huang, Y. (2010). "Characterization of phenol degradation by high-efficiency binary mixed culture." *Environmental Science and Pollution Research* 17(5): 1035-1044.
- Zhang, S., Sun, W., Xu, L., Zheng, X., Chu, X., Tian, J., Wu, N. y Fan, Y. (2012). "Identification of the para-nitrophenol catabolic pathway, and characterization of three enzymes involved in the hydroquinone pathway, in *Pseudomonas* sp. ." *BMC Microbiology* 12: 15.