

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DE LAS BACTERIAS HETERÓTROFAS DEL PROCESO BIOLÓGICO DE UNA EDAR INDUSTRIAL MEDIANTE ENSAYOS RESPIROMÉTRICOS, TRAS UNA PARADA TÉCNICA

*Estela Olivas, *David Castell, *Juan Peralta y *Mairena García

**Cristina García y **Jessica Barreda

*Sociedad de Fomento Agrícola Castellonense, S.A (FACSA)

**British Petroleum España (BP)

Resumen

La respirometría es una técnica basada en la medición del consumo de oxígeno por parte de microorganismos que trabajan sobre un sustrato orgánico, el cual es degradado y oxidado a CO₂. Esta técnica está encontrando crecientes aplicaciones en la determinación de la cinética de la biodegradación. Los análisis respirométricos permiten adquirir datos sobre el consumo de oxígeno en respuesta al metabolismo de un sustrato por la respiración de microorganismos. La respirometría ahorra el tiempo y el trabajo asociados a los experimentos de agotamiento de sustratos y provee puntos de referencia de alta calidad para la valoración de parámetros biocinéticos.

En el presente trabajo se presenta un estudio de la evolución de los microorganismos del reactor biológico de la Planta de Tratamiento de Aguas Residuales (PTAR) de la refinería BP Oil de Castellón, sin aporte de sustrato, ante una parada técnica de las instalaciones de depuración durante un determinado periodo de tiempo.

Las paradas técnicas en el sector industrial son un caso especial de mantenimiento sistemático. En general, se llevan a cabo en instalaciones que por razones de seguridad o de producción deben funcionar de forma fiable durante largos periodos de tiempo. Así, refinerías, industrias petroquímicas o centrales eléctricas son ejemplos de instalaciones que se someten de forma periódica a paradas para realizar revisiones en profundidad. Otras empresas aprovechan determinados periodos de baja actividad, como las vacaciones estivales o los periodos entre campañas, para revisar sus equipos y disminuir así la probabilidad de fallo en los momentos de alta demanda de la instalación.

Al igual que en los procesos industriales de la industria en cuestión, las paradas técnicas afectan también a los procesos de depuración de las depuradoras industriales, como consecuencia de que no se generan corrientes residuales a tratar en la EDAR. Este hecho supone que el cultivo microbiano de los procesos biológicos de este tipo de EDAR, no disponen de la materia orgánica y nutrientes necesarios para desarrollar las funciones principales de los microorganismos en un cultivo biológico.

Mediante el presente estudio, se ha determinado mediante la realización de ensayos respirométricos, el tiempo de desaparición de la biomasa en condiciones endógenas, sin la presencia de alimento, así como el efecto posterior de la adición de materia orgánica (en forma de metanol) en el cultivo microbiano a estudio.

Palabra clave: respirometría; PTAR; fango; microorganismos; OUR

1. Introducción

El mecanismo de oxidación biológica aeróbica consiste en la asimilación de la materia orgánica biodegradable presente en las aguas residuales por los microorganismos, en presencia de oxígeno y de acuerdo con las reacciones siguientes:

Reacciones de síntesis (proceso asimilatorio)

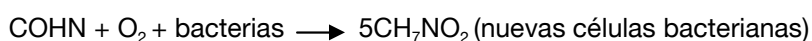
Consiste en la incorporación de materia orgánica al protoplasma de los microorganismos, produciéndose nuevo tejido celular, es decir, un crecimiento de la masa de organismos.



Donde COHN representa la materia orgánica presente en el agua residual. La fórmula $\text{C}_5\text{H}_7\text{NO}_2$ representa el tejido celular, es un valor que se usa con carácter generalizado obtenido de estudios experimentales.

Reacciones de oxidación (proceso disimilatorio)

Una parte de la materia orgánica se oxida dando lugar a productos finales. Este proceso se lleva a cabo para obtener la energía necesaria para la síntesis de nuevo tejido celular.



Respiración Endógena (autooxidación)

En ausencia de materia orgánica, el tejido celular será utilizado endógenamente produciendo productos gaseosos finales y energía para el mantenimiento de las células.



En los sistemas de tratamiento biológico estos tres procesos se dan de forma simultánea.

El control efectivo en que se desarrolla el tratamiento biológico del agua residual se basa en la comprensión de los principios fundamentales que rigen el crecimiento de los microorganismos. El modelo de crecimiento se aborda estudiando la variación con el tiempo de la masa de bacterias:

Fase de lactancia. Tras la adición de un inoculo a un medio de cultivo, las bacterias precisan de un cierto tiempo para aclimatarse al nuevo medio y comiencen a dividirse.

Fase de crecimiento exponencial. Siempre que exista una cantidad en exceso de alimento alrededor de los microorganismos, la tasa de metabolismo y crecimiento solo es función de la capacidad de los microorganismos para procesar el sustrato.

Fase estacionaria. La tasa de crecimiento y en consecuencia la masa de bacterias disminuye como consecuencia de la limitada disponibilidad de alimento. Durante esta fase, la generación de células nuevas se compensa con la muerte de las células viejas.

Fase de muerte. Los microorganismos se ven forzados a metabolizar su propio protoplasma sin reposición del mismo, ya que la concentración de alimento disponible se encuentra al mínimo.

Actualmente, la forma más idónea de monitorizar el comportamiento de crecimiento de un fango activo son las respirometrías. Las técnicas respirométricas están basadas en la medida e interpretación del consumo biológico de oxígeno, debido a la respiración aerobia de la biomasa bajo unas condiciones determinadas. El consumo biológico de oxígeno está directamente relacionado con el crecimiento bacteriano y con el consumo de sustrato para la obtención de energía. Parte del sustrato consumido se utiliza para obtener energía, el resto pasa a la formación de nueva biomasa.

El consumo de oxígeno se considera asociado solamente al consumo de sustrato para obtener energía mediante la reacción de oxidación. La biomasa, durante su proceso de muerte, se divide en materia orgánica inerte (X_p) y materia orgánica lentamente biodegradable (X_s) que después de hidrolizarse puede ser utilizada para mantenimiento e incluso para el crecimiento de la biomasa. Así se explica que aun habiéndose consumido todo el sustrato extracelular aun exista un consumo de oxígeno llamado respiración endógena. En esta fase la cantidad de biomasa formada por la liberación de sustrato es menor a la cantidad de biomasa perdida en forma inerte debida a la lisis. Por tanto, una población de biomasa sin sustrato extracelular acabaría por desaparecer.

En el presente trabajo se muestran y describen los resultados obtenidos tras estudiar el comportamiento de un fango biológico procedente de una EDAR industrial (British Petroleum), al cual se le somete a un periodo de "hambre" simulando el efecto que tendría en el proceso biológico de la EDAR, una parada técnica en la refinería en cuestión.

2. Material y métodos

El estudio se ha realizado utilizando principalmente un respirómetro (Biocalibra). Un respirómetro es un instrumento que consiste en un pequeño reactor biológico que sirve para medir velocidades de respiración aerobia de una población microbiana en unas determinadas condiciones.

En la **figura 1** se muestra el montaje experimental utilizado para llevar a cabo el análisis respirométrico.

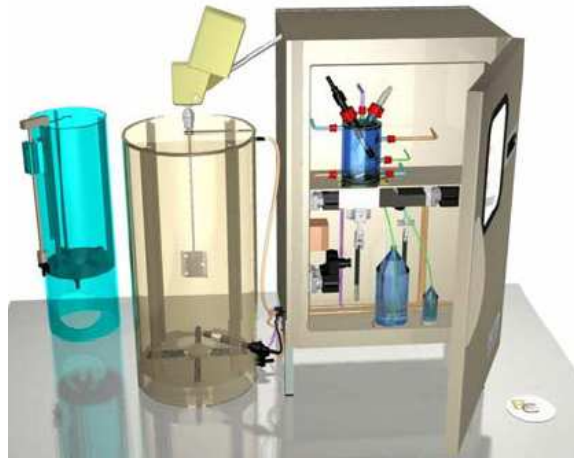


Figura 1. **Dispositivo BioCalibra**

El equipo BioCalibra se compone principalmente de los siguientes elementos:

1. Armario principal, donde se ubican todos los elementos fundamentales para el control automático del dispositivo y adquisición de datos: equipos de medida, controladores electrónicos, reactor de respirometrías encamisado, agitador magnético, cilindros inyectoros de sustrato
2. Tanque de almacenamiento de fango (Tanque 1)
3. Tanque de respiración endógena e Yh (Tanque 2)
4. Un agitador convencional de palas
5. Un sistema de recirculación (conectado a una bomba peristáltica)

Este dispositivo permite realizar de manera altamente automatizada los ensayos necesarios para la obtención del valor de los parámetros del modelo de fangos activados. Además, *BioCalibra* permite determinar si el agua residual es biodegradable, comprobar la existencia de compuestos tóxicos y determinar posibles interferencias potenciales en los procesos de tratamiento biológico.

Para llevar a cabo el estudio de respiración endógena se utilizó una técnica respirométrica partiendo con fango activo de la PTAR BP, en la cual se cuantifica el tiempo que puede soportar la biomasa microbiana de la PTAR sin aporte externo de sustrato.

3. Procedimiento experimental y resultados

En primer lugar, se llevó a cabo una caracterización físico-química general del fango biológico de la PTAR (muestra de referencia) desarrollando las técnicas experimentales propuestas en el Standard Methods, para el análisis de los parámetros que se muestran en la **tabla 1**, donde se presentan los resultados obtenidos en esta caracterización previa.

Tabla 1. **Resultados analíticos del licor mezcla**

| Parámetro | Valor | |
|----------------------------|-------|------|
| DQOt | 4.801 | mg/L |
| DQOs | 50,40 | mg/L |
| Sólidos en suspensión (SS) | 4.027 | mg/L |
| Sólidos Volátiles (SSV) | 3.147 | mg/L |
| Sólidos Volátiles (SSV) | 78,15 | % |

Con la misma muestra de fango, de la cual se analizaron los parámetros anteriormente mencionados, se comenzó la realización de la **primera fase del test respirométrico**. Para tal fin, el fango se colocó en el reactor mostrado en la figura 1. Al fango ubicado en el reactor se le suministraba oxígeno por medio de 4 difusores de burbuja fina que se encuentran instalados en la parte inferior del reactor. El oxígeno disuelto (OD) se determina a tiempo real, por medio de un oxímetro ubicado en la parte inferior del reactor.

El nivel de OD en el fango se mantuvo durante el procedimiento experimental en un intervalo de 6-5.5 mg/l. El almacenamiento de los datos se llevo a cabo por medio del programa del respirómetro Biocalibra, el cual registra los valores de oxígeno durante el periodo de trabajo.

El programa activa la aireación al registrar valores inferiores a 5.5 ppm de OD (límite inferior establecido) y la suspende al alcanzar el valor máximo de 6 ppm. Los datos obtenidos en el periodo en el cual no se airea, se emplean para calcular el valor de OUR (Oxygen Uptake Rate) tasa de consumo de oxígeno en el licor mezcla.

Los valores experimentales de esta OUR se muestran en la siguiente figura:

Evolución del fango en endógena

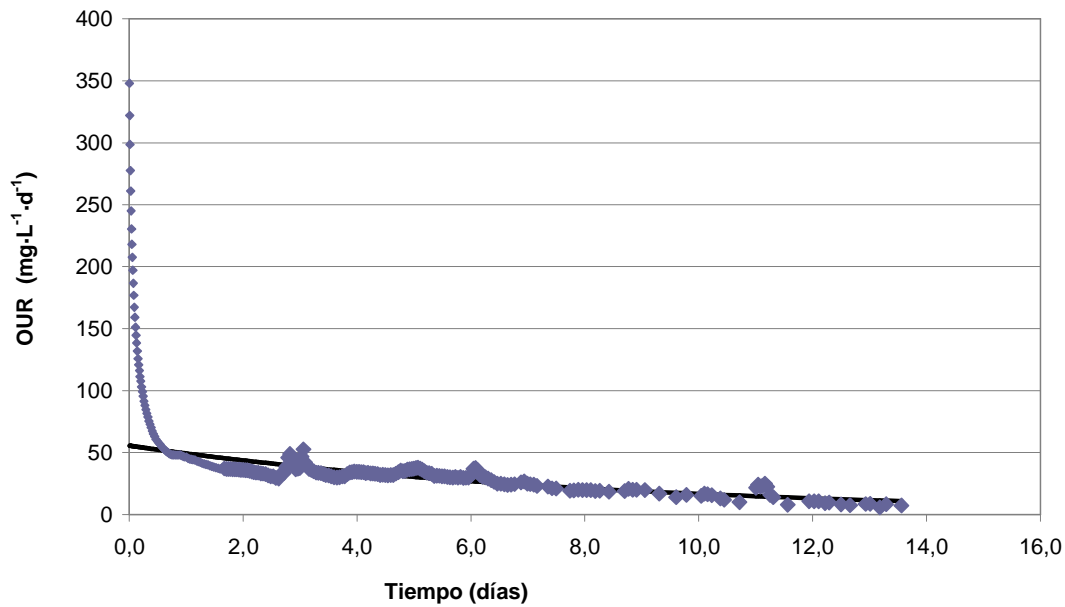


Figura 2. Evolución del fango en condiciones endógenas

En el caso que nos ocupa, OUR siguió la tendencia esperada (OUR descendente con el tiempo de forma exponencial debido al menor número de bacterias presentes). El motivo de las variaciones de OUR durante los últimos días, se debe a procesos de hidrólisis y posterior consumo de determinados compuestos orgánicos particulados que solo realizan las bacterias cuando se ven sometidas a un periodo largo de tiempo sin alimento.

Al mismo tiempo que se estudiaba el comportamiento de la OUR, se realizaron analíticas de SST, SSV para estudiar su tendencia. La siguiente tabla muestra los resultados analíticos obtenidos durante el período del estudio, en la que se expresan los mg/L de SST en función del volumen remanente en el reactor, teniendo en cuenta las pérdidas por evaporación con el transcurso de los días.

Tabla 2. Resultados analíticos obtenidos durante el periodo de estudio

| Día | DQOt (ppm) | DQOs (ppm) | SS (mg/L) | SSV (mg/L) | OUR (mgO ₂ /ld) | SOUR (mgO ₂ /g SSV d) |
|-----|------------|------------|-----------|------------|----------------------------|----------------------------------|
| 0 | 4.801 | 50,40 | 4.027 | 3.147 | 340 | 108 |
| 3 | 4.917 | 40,80 | 4.373 | 3.520 | 53 | 15 |
| 4 | 4.735 | 56,50 | 3.592 | 2.864 | 34 | 12 |
| 7 | 3.109 | 46,40 | 3.477 | 2.540 | 24 | 10 |
| 10 | 4.067 | 31,50 | 3.584 | 2.774 | 15 | 5 |
| 13 | 4.041 | 31,85 | 3.586 | 2.790 | 9 | 3 |
| 14 | 4.086 | 30,60 | 3.618 | 2.760 | 7 | 3 |

La **segunda fase del ensayo** consistió en adicionar una determinada concentración de materia orgánica para observar el tiempo de recuperación de los microorganismos, tras haber alcanzado la respiración endógena. En este caso el sustrato empleado como fuente de carbono fue metanol. Se adicionó 1 ml de una dilución 1: 5000 de CH₃OH, partiendo de una concentración inicial de 2.150.000 mg/l, que supone 430 mg/l DQO en el reactor.

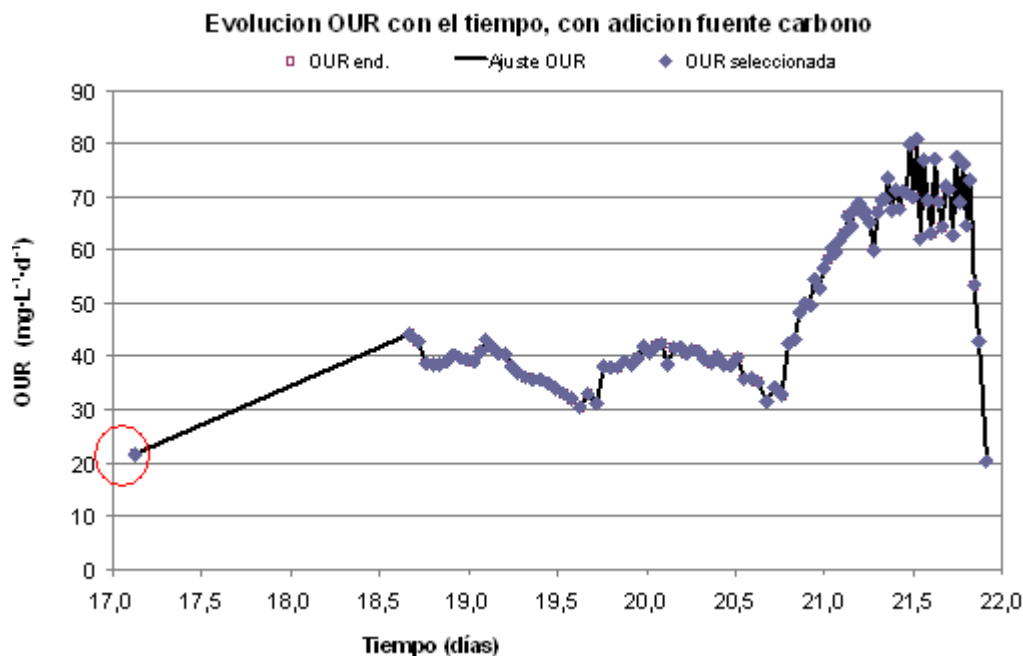


Figura 3. Evolución de la velocidad de consumo de oxígeno OUR con el tiempo, con la adición de fuente de carbono a los 17 días

En la **figura 3** puede observarse como las bacterias, a partir de la adición de la fuente de carbono (metanol), comienzan a recuperarse después de 2 días, tras observar un repunte en el consumo de oxígeno, aumentando el parámetro OUR. Durante las primeras horas transcurridas después de la adición de metanol, se observa un ligero aumento de la constante OUR, pero a partir del cuarto día, es cuando se alcanza el valor máximo de consumo de oxígeno para la degradación del metanol adicionado en el ensayo. Transcurridos cinco días, el metanol aportado es consumido por las bacterias y la constante de OUR vuelve a valores de OUR endógena.

Tabla 3. Resultados analíticos tras adición de sustrato

| día | DQOt (ppm) | DQOs (ppm) | SS (mg/l) | SSV (mg/l) | OUR (mgO ₂ /ld) | SOUR (mgO ₂ /g SSV d) |
|-----|------------|------------|-----------|------------|----------------------------|----------------------------------|
| 17 | 3.875 | 82 | 3.415 | 2.611 | 22 | 8.3 |
| 20 | 3.586 | 87 | 3.495 | 2.736 | 39 | 14.3 |
| 21 | 3.343 | 30 | 3.354 | 2.560 | 41 | 15.9 |
| 22 | 3.300 | 23 | 3.250 | 2.482 | 20 | 8.2 |

4. Conclusiones

Mediante el presente estudio, se ha podido determinar que la realización de ensayos respirométricos es una herramienta muy útil para determinar el protocolo de actuación ante una parada técnica realizada en una industria, con respecto al proceso de depuración.

En la PTAR de BP estas paradas son habituales y se realizan una vez cada 5 años. En este caso se pudo determinar que la actividad de la biomasa continua activa tras el periodo de 15 días, periodo programado para este tipo de paradas, por lo que se pudo establecer que no era necesario realizar el vaciado de los reactores biológicos o la realización de una siembra del proceso previo a su puesta en marcha. Se determinó que era más rentable mantener una aireación mínima que permitiera mantener el proceso en condiciones endógenas, que realizar costosas operaciones de vaciado y siembra posterior del proceso.

Por otra parte, se pudo comprobar también que tras el arranque del proceso, existen 2 días en los que el sistema presenta cierta inhibición en la actividad del proceso, lo que se puede observar en el menor consumo de oxígeno durante los dos días posteriores al inicio de la alimentación por parte de las bacterias heterótrofas disponibles, respecto al consumo de oxígeno previo a la parada. Esto puede deberse a que las bacterias existentes tras los 15 días de parada técnica son las que se han podido adaptar a la cantidad de sustrato presente en el medio y cuyas necesidades de sustrato para mantener la actividad catabólica y metabólica es inferior a la de las bacterias que en las condiciones habituales proliferan en la PTAR de BP.

El análisis de todos los ensayos realizados permitió establecer el protocolo de actuación ante una parada técnica. Este protocolo debía garantizar la calidad del agua desde el primer momento que se realiza el vertido, manteniendo el menor coste de operación posible, durante esta parada técnica. Las actuaciones que se determinó ejecutar fueron las siguientes:

1. Parar la alimentación de sustrato y mantener aporte de aire mínimo requerido para condiciones endógenas (valores obtenidos en ensayos respirométricos).
2. Proceder a la dosificación de materia orgánica en forma de metanol dos días antes de la finalización de la parada técnica. A su vez se propuso el control adecuado de nutrientes para mantener la relación que permita la síntesis celular de los microorganismos, asegurando la correcta aclimatación de los microorganismos antes del arranque definitivo del proceso.
3. Alimentación progresiva del agua residual generada en la factoría de BP, aconsejando su alimentación progresiva durante los 5 primeros días. Siendo este periodo, determinado mediante respirometría, cuando el proceso biológico recuperaba su normal actividad.

Como conclusión, se puede afirmar que la realización de ensayos respirométricos es una herramienta adecuada para definir los procedimientos de actuación ante paradas técnicas de instalaciones de depuración en el sector industrial. Este estudio previo, permite reducir los costes derivados de las paradas y arranques de los tratamientos biológicos, evitando las posibles afecciones medioambientales derivadas de un mal funcionamiento del proceso de depuración, cuyas consecuencias puede ser muy graves debido al origen de las aguas depuradas en este tipo de instalaciones.