



Evaluación microscópica de biopelículas mediante la aplicación de microsensores: Caso ELAN®

Andrés Gutiérrez-Pichel¹, Ángeles Val del Río¹, Alba Pedrouso-Fuentes¹, Nicolás Morales², José Ramón Vázquez-Padín², Ramón Méndez¹, José Luis Campos³, Anuska Mosquera-Corral¹

¹Departamento de Ingeniería Química, Instituto de Investigaciones Tecnológicas; ²EDAR Guillarei; ³Faculty of Engineering and Science

¹Universidad de Santiago de Compostela | www.usc.es ■ ²FCC Aqualia | www.aqualia.es ■ ³University Adolfo Ibáñez | www.uai.cl

Los procesos biológicos empleados para el tratamiento de las aguas residuales se pueden llevar a cabo tanto en sistemas de biomasa en suspensión como adherida. Cuando la biomasa se desarrolla de forma adherida crece en muchos casos sobre un material de soporte, formando una biopelícula que contiene una elevada concentración de biomasa, cuyas propiedades físicas (espesor, porosidad, distribución de zonas con presencia o ausencia de cada sustrato, densidad, etc.) dependen de las condiciones de operación del sistema en el que se desarrollan.

En general, la operación con material de soporte implica un mayor grado de complejidad del sistema y mayores costes de operación, ya que es necesario mantener este material confinado dentro de la unidad de operación (reemplazando periódicamente el que se haya podido perder) y aportar la energía necesaria para garantizar una buena mezcla, y por lo tanto una buena transferencia de materia. La principal ventaja, por otra parte, reside en su capacidad de retener grandes cantidades de biomasa en su interior, por lo que estos sistemas están recomendados en el caso de procesos en los que la biomasa tiene velocidades de crecimiento lentas.





Como alternativa a estos sistemas se puede aprovechar la capacidad de la biomasa de autoagregarse formando gránulos, que es un caso especial de biopelícula donde no se requiere de un material de soporte. La transferencia de sustratos y productos desde la zona externa hacia el interior del gránulo provoca la existencia de zonas internas con diferentes ambientes, así como condiciones heterogéneas dentro de los reactores biológicos. Así, en un único reactor biológico pueden tener lugar de forma simultánea diferentes procesos como la eliminación de materia orgánica, nitrógeno y fósforo (de Kreuk *et al.* 2005).

Dentro de los procesos de eliminación de nitrógeno, está despertando un gran interés en la actualidad la operación de sistemas con biomasa granular para la eliminación autótrofa mediante nitrificación parcial combinada con el proceso anammox (*ANAerobic AMMonia OXidation*), debido a las diversas ventajas que presenta frente a los procesos biológicos convencionales de nitrificación-desnitrificación (Vázquez-Padín *et al.* 2014; Morales *et al.* 2015a):

reducción en los requerimientos de aireación (42%), ahorro de un 100% en materia orgánica para desnitrificar, reducción en la producción de lodos (94%) y reducción en las emisiones de gases de efecto invernadero (7% de CO₂, 22% de N₂O).

En el sistema combinado de nitrificación parcial y anammox están implicadas dos poblaciones microbianas: las bacterias oxidantes de amonio (BOA), que llevan a cabo la oxidación parcial de amonio a nitrito en condiciones aerobias, y las bacterias anammox, que combinan el amonio y el nitrito en condiciones anóxicas para producir nitrógeno gas. Ambas poblaciones presentan una velocidad de crecimiento lenta, por lo que su agregación en forma de gránulos resulta muy apropiada debido a su buena velocidad de sedimentación y consecuente mejora en la retención de la biomasa dentro del sistema. Además, el empleo de biomasa granular permite tener ambos procesos en un mismo reactor aireado con control del oxígeno disuelto (OD), de manera que las BOA (bacterias aerobias) cre-

cen en las zonas más externas del gránulo donde el oxígeno está accesible, produciendo el sustrato para las anammox (bacterias anaerobias) que crecen en el interior, donde el oxígeno ya no está presente debido a su consumo previo por las BOA.

Esta estratificación de poblaciones microbianas dentro de la biomasa granular hace necesario el conocimiento a pequeña escala de los procesos que tienen lugar en las diferentes capas con el fin de evaluar el funcionamiento macroscópico de un reactor operando con esta biomasa. Para poder obtener datos fiables sobre los gradientes químicos y el metabolismo microbiano en cada una de las capas de estos sistemas granulares son necesarios sensores que no perturben ni destruyan la biopelícula durante el proceso de medida (Lee *et al.* 2013). Por tanto la mejor elección, más allá de los macrosensores convencionales, son los microsensors que, por su pequeño tamaño de punta (diámetros del orden de micras), permiten realizar medidas a distintas profundidades en el interior de la biopelícula granular.



La combinación de perfiles obtenidos con los microsensors permite obtener información sobre las concentraciones de sustratos presentes en las diferentes capas de la biomasa granular, al mismo tiempo que se determina la posible distribución de las poblaciones microbianas involucradas en los diferentes procesos biológicos. Toda esta información sobre fenómenos de transporte y actividades microbianas a nivel microscópico se podría extrapolar a la operación macroscópica real, diseñando estrategias de control avanzado más eficientes que garanticen la calidad del efluente del reactor biológico con independencia de las fluctuaciones en las características del agua residual a tratar.

En concreto, la aplicación de microsensors para la determinación de oxígeno disuelto (OD), pH y óxido nítrico (NO) a distintas profundidades en el interior de los gránulos permite:

- Determinar las zonas correspondientes a la operación en condiciones aerobias y anóxicas en función de los perfiles de concentración de oxígeno y pH.
- Identificar los procesos en los que se generan productos intermedios de las reacciones biológicas en diferentes condiciones de operación.
- Evaluar la posibilidad de que ocurran fenómenos de precipitación de sales disueltas en función de la variación del pH.
- Determinar la producción de compuestos gaseosos como los óxidos de nitrógeno.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Biomasa granular

Los gránulos empleados en el presente estudio se han obtenido de un reactor a escala piloto donde tienen lugar de forma simultánea los procesos de ni-

trificación parcial y anammox (Figura 1) mediante la tecnología denominada ELAN® (Eliminación Autótrofa de Nitrógeno), desarrollada por la empresa FCC Aqualia en colaboración con la Universidad de Santiago de Compostela (Vázquez-Padín *et al.* 2014). Este reactor, operado en condiciones aerobias de forma secuencial (SBR), se encuentra situado en la EDAR de Guillarei (Galicia) y trata el efluente del digestor anaerobio de lodos. El diámetro de los gránulos utilizados fue de $2,5 \pm 0,5$ mm. Este diámetro se estimó utilizando el software Image ProPlus® y analizando las fotografías digitales de los gránulos utilizados. En la Figura 1 se muestra la distribución general para la biomasa granular responsable del proceso ELAN®.

2.2 Montaje experimental

En la Figura 2 se puede observar el montaje experimental utilizado para la obtención de perfiles en la biomasa granular utilizando microsensors. El microsensor se sujeta con un micromanipulador (1) que permite variar el movimiento del microsensor en los 3 ejes de movimiento, regulando la profundidad de penetración de la punta del microsensor (2) dentro del gránulo (3). El gránulo se fija sobre dos piezas (4, 5) dentro de la cámara de medición (6), y la señal generada por el microsensor durante el proceso de medida se registra mediante un multímetro (7) (Unisense Microsensor Multimeter). Esta señal se amplifica y traduce a valores reales del parámetro medido mediante la utilización de un software específico para la obtención de perfiles en tiempo real (Unisense SensorTrace Pro v3.0.2).

En este estudio se empleó como medio para el ensayo en la cámara de medición muestras de medio líquido del reactor piloto recogidas junto con la muestra de biomasa granular, con una concentración de amonio en torno a 200 ± 20 mg NH_4^+ L^{-1} . El aporte de



oxígeno disuelto proporcionado con un aireador se reguló mediante el ajuste de distintas proporciones de aire y argón. Se registraron diferentes perfiles de concentración con los microsensors a distintas profundidades en el interior de los gránulos para las diferentes condiciones experimentales mediante el micromanipulador, aproximando la punta del microsensor a la superficie del gránulo con un microscopio digital USB (Dino-Lite AM4113).

2.3 Microsensores

Se emplearon microsensors Unisense (Aarhus, Dinamarca) para medir los perfiles de valores de oxígeno disuelto (OD), óxido nítrico (NO) y pH en el interior de la biomasa granular. Estos microsensors se caracterizan por diámetros de punta en el rango 10-800 μm , una elevada resolución para la obtención de microgradientes, tiempos de respuesta rápidos y un bajo consumo del compuesto en la muestra.

Para el análisis del OD se utilizó un microsensor de O_2 Unisense OX-25 (Revsbech 1989), para el NO se utilizó un microsensor electroquímico de NO Unisense NO-100 (Schreiber *et al.* 2008), y para el análisis del pH se utilizó un microelectrodo de pH Unisense pH-25 (Revsbech & Jorgensen 1986). La calibración de los dos primeros es lineal y se realizó con dos puntos: para el cero de calibración se utilizó agua destilada libre de OD y NO mediante la utilización de Ar como gas inerte, mientras que el punto de saturación se obtuvo a partir de soluciones saturadas de aire y NO, respectivamente. La calibración del microelectrodo de pH también es lineal y se realizó con tres puntos, correspondientes a soluciones tampón de pH 4,01; 7,00 y 9,21.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se muestran diferen-



W-Tank®



Información actualizada en:
www.toroequipment.com
Tel.: +34 983 40 30 47

Depósitos y Decantadores

- Aguas residuales industriales.
- Aguas residuales urbanas.
- Agua potable.
- Desalinización.
- Productos secos a granel.

- Agricultura.
- Líquidos industriales.
- Bioenergía.
- Biodigestores.
- Separaciones en tanques existentes.



Volúmenes de 14 a 3.303 m³.

Tapas hasta 15,9 m de diámetro.

Fabricación con resinas de alta resistencia química.

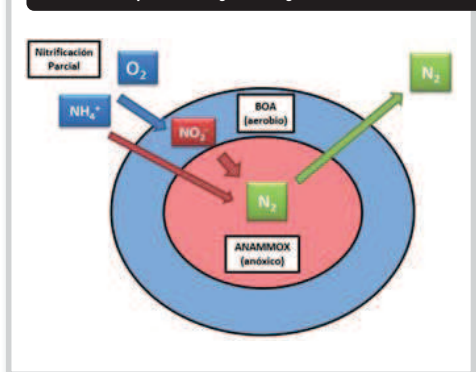
Diferentes tipos de placa.







Figura 1. Representación esquemática de los procesos biológicos que tienen lugar en un gránulo ELAN®

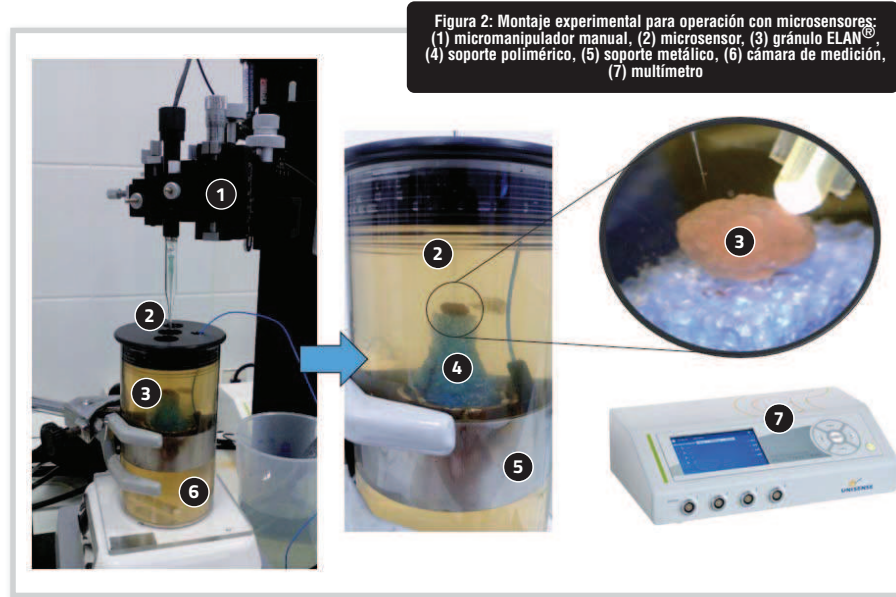


tes ejemplos de la determinación de perfiles de OD, NO y pH mediante microsensores en la biomasa granular procedente del proceso ELAN®. La información obtenida permite estimar la profundidad de la capa aerobia (perfil de OD), la producción de intermediarios de la reacción biológica (perfil de NO) y los posibles fenómenos de precipitación en el interior de los gránulos (perfil de pH).

3.1 Estimación de la actividad de la biomasa aerobia mediante perfiles de OD

El espesor de la zona aerobia de los gránulos viene determinado, entre otros parámetros, por la concentración de OD en el medio líquido exterior al gránulo, por lo que se pueden utilizar microsensores de OD para medir su dependencia con este parámetro. Para llegar a ser metabolizado por los microorganismos en la zona aerobia, el oxígeno ha de transferirse a través de dos interfases: la primera una interfase gas-líquido y la segunda líquido-sólido, para luego difundirse en el interior del gránulo (Figura 3).

Debido a que el consumo de oxígeno tiene lugar en la región donde se encuentran las BOA, este proceso aerobio solo tendrá lugar en la parte más externa del gránulo y no en todo el cuerpo del mismo. Para comprobar esta hipótesis se midieron perfiles de OD en diferentes gránulos y a distintas concentra-



ciones de OD en el medio líquido en un rango de 1 a 6 mg O₂ L⁻¹. En la Figura 4 se muestra el ejemplo de dos perfiles para las concentraciones de OD de 2,0 y 4,5 mg O₂ L⁻¹ en un gránulo de 2,5 mm. En el presente caso la resistencia a la transferencia externa (líquido-sólido-

do) es relevante, ya que se observa una disminución acusada en la concentración de OD desde el medio líquido hasta la superficie del gránulo. Esta resistencia se puede determinar en los casos en que se observa cambio de pendiente en el perfil de OD, siendo és-

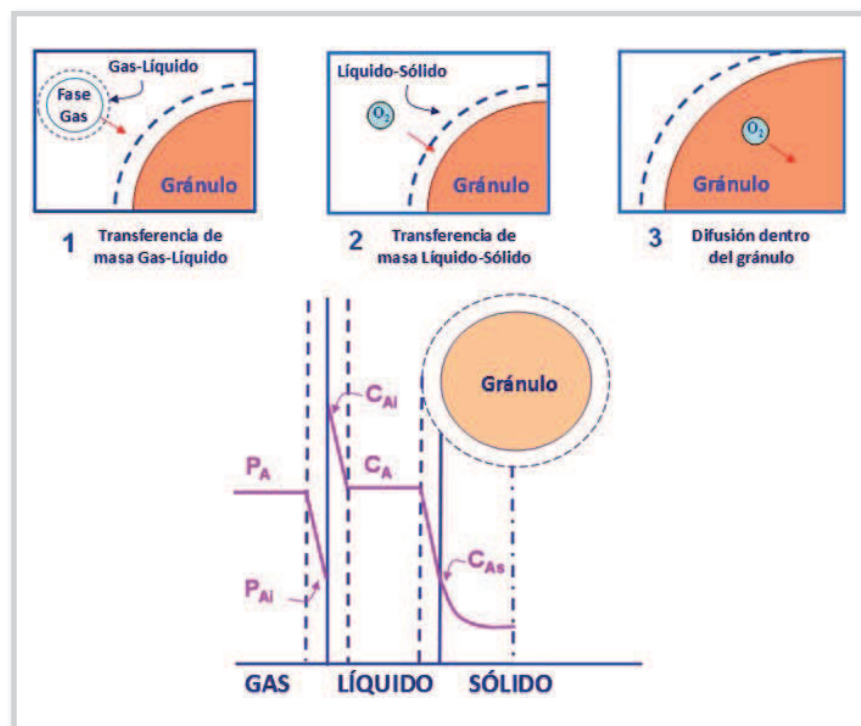


Figura 3: Transferencia de oxígeno a través de las interfases gas-líquido y líquido-sólido. P_A : concentración de O₂ en la fase gas; P_{A_i} : concentración de equilibrio de O₂ en la interfase gas-líquido; C_{A_i} : concentración de equilibrio de OD en la interfase gas-líquido; C_A : concentración de OD en la fase líquida; C_{A_s} : concentración de equilibrio de OD en la interfase líquido-sólido



ta más acusada dentro de la biopelícula al sumarse el efecto de la difusión de OD dentro del gránulo y su consumo. Este criterio permite estimar el ancho de la capa externa de difusión en $130 \pm 20 \mu\text{m}$ para los perfiles de la Figura 4. El oxígeno se consume rápidamente solo en la parte más externa del gránulo, confirmando de esta forma la presencia de una capa de microorganismos aerobios entre los que se encuentran las BOA. Además, se observa que a una profundidad aproximada de $100 \mu\text{m}$ desde la superficie del gránulo el oxígeno se ha consumido por completo, lo cual confirma también la existencia de una capa anóxica/anaerobia más interna a partir de dicha distancia.

Con estos datos se estima el espesor de la capa aerobia externa en torno a $110 \pm 20 \mu\text{m}$, comparable al observado por Vázquez-Padín *et al.* (2010) y Vlaeminck *et al.* (2008). Este espesor confirma las previsiones considerando el tamaño de los gránulos utilizados en el estudio ($2,5 \text{ mm}$), teniendo en cuenta que los sistemas que trabajan con gránulos más grandes ($> 1,5 \text{ mm}$) son más fáciles de controlar y más robustos con respecto a las posibles perturbaciones en la con-

centración de OD (Volcke *et al.* 2012; Morales *et al.* 2015b).

Con el espesor de la capa aerobia externa del gránulo se puede estimar la actividad específica de consumo de oxígeno teniendo en cuenta solo la biomasa activa en condiciones aerobias y no la biomasa total del gránulo, lo cual constituye una información de relevancia a la hora de estimar la capacidad

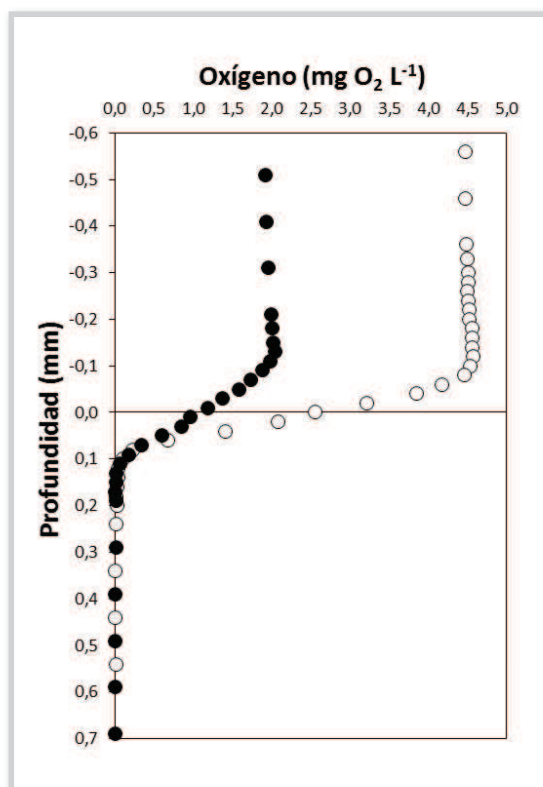


Figura 4: Perfiles de la concentración de oxígeno disuelto (OD) desde el medio líquido hacia el interior del gránulo (diámetro de $2,5 \text{ mm}$) para concentraciones en el medio líquido de $2,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ (●) y $4,5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ (○). Los valores negativos de la profundidad corresponden al exterior del gránulo mientras que los positivos al interior del mismo

máxima del sistema. Conociendo el tamaño del gránulo y el espesor de la zona aerobia, y asumiendo una forma esférica para los gránulos, se puede calcular el porcentaje de biomasa activa consumidora de oxígeno en el gránulo [Ec. 1].

$$\% \text{ biomasa activa} = (V_{\text{total}} - V_{\text{anóxico}}) / V_{\text{total}}$$

$$V_{\text{total}} = [r_{\text{gránulo}}^3 - (r_{\text{gránulo}} - \text{espesor capa aerobia})^3] / r_{\text{gránulo}}^3$$

[Ec. 1]

donde $r_{\text{gránulo}}$ es el radio del gránulo, V_{total} el volumen total del gránulo y $V_{\text{anóxico}}$ el volumen correspondiente a la zona anóxica en el interior del gránulo. Teniendo en cuenta que el tamaño de los gránulos utilizados fue de $2,5 \pm 0,5 \text{ mm}$ y el espesor observado para la capa aerobia de $110 \pm 20 \mu\text{m}$, se determina que la zona donde tiene lugar el consumo de oxígeno representa el $24 \pm 4 \%$ del volumen total del gránulo, comparable al valor del 22% obtenido por Vázquez-Padín





Figura 5: Perfil de la concentración de óxido nítrico en el interior de un gránulo (diámetro de 2,5 mm) para concentraciones de oxígeno de $5,5 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ (●) y $7,0 \text{ mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ (○). Los valores negativos de la profundidad corresponden al exterior del gránulo mientras que los positivos al interior del mismo

et al. (2010) para gránulos de mayor tamaño. De esta forma, se estima que la actividad oxidante de amonio real de las BOA es 4,2 veces superior a la estimada teniendo en cuenta toda la biomasa presente en el sistema. Un conocimiento más exacto de la capacidad máxima del sistema en términos de consumo del OD es importante, ya que este parámetro supone un factor limitante de la actividad metabólica sobre el sustrato para gránulos de tamaño superior a $0,5 \text{ mm}$ (Li & Liu 2005), teniendo en cuenta además que la actividad y abundancia de las BOA disminuye al aumentar el tamaño de gránulo (Vlaeminck *et al.* 2010).

3.2 Determinación de compuestos intermedios

En los procesos de eliminación de nitrógeno es frecuente la producción de compuestos intermedios en fase líquida y gaseosa como el óxido nitroso (N_2O) y el óxido nítrico (NO) (Xiao *et al.* 2014), que están despertando un gran interés en la actualidad debido al efecto del N_2O sobre el calentamiento global (con una contribución como gas de efecto invernadero hasta 300 veces superior a la del CO_2), y a la influencia del NO en las reacciones de formación-destrucción del ozono atmosférico y en el fenómeno de la lluvia ácida. Además, el NO tiene un gran impacto biológico al ser un radical libre tóxico para un amplio rango de organismos.

Sin embargo, a pesar de conocerse la presencia de estos compuestos en

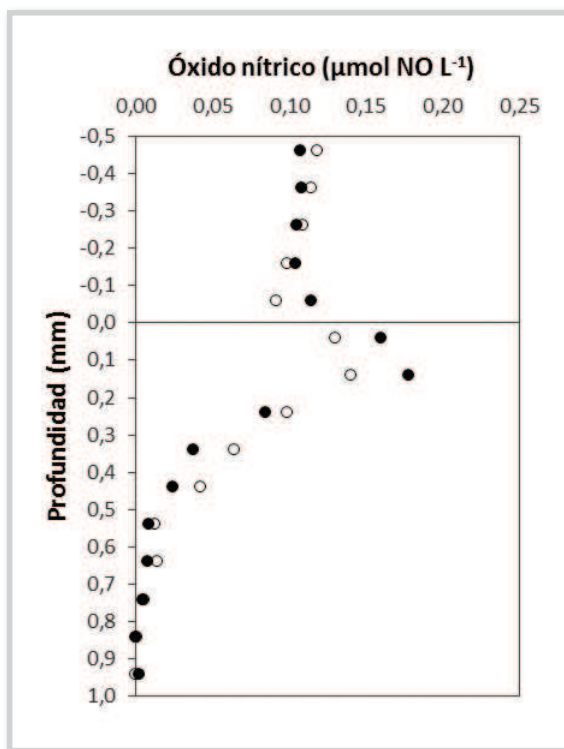


Figura 6: Fotografía de la biomasa granular con precipitados conteniendo azufre cubriendo la superficie del gránulo (color blanquecino)



determinadas rutas metabólicas, no está del todo claro qué poblaciones bacterianas y etapas biológicas son las responsables de su producción. Recientes estudios sitúan a las BOA, bacterias oxidantes de nitrito (BON) y microorganismos desnitrificantes como principales productores de N_2O y NO, pudiendo participar también las bacterias anammox en la producción de este último (Kampschreur *et al.* 2008; Kampschreur *et al.* 2009).

La evolución de la concentración de

estos óxidos de nitrógeno se puede evaluar mediante la aplicación de microsensors para obtener perfiles dentro del gránulo. En la Figura 5 se presenta un ejemplo de aplicación del microsensor de NO para estudiar su formación en el interior de los gránulos para diferentes concentraciones de OD en el medio líquido. Así, se observa la existencia de una capa límite de difusión en el exterior del gránulo cuyo ancho es de aproximadamente $110 \pm 20 \mu\text{m}$, próximo al determinado con el microsensor de OD. Por otro lado, se observa que el óxido nítrico se produce en el interior del gránulo en vez de consumirse como en el caso del OD. El NO difunde desde la zona de producción hacia el interior y hacia el medio líquido externo, produciéndose en el primer caso un incremento en la concentración que se extiende desde la superficie del gránulo hasta una profundidad de entre 100 y $150 \mu\text{m}$ (punto de máxima concentración). A partir de ese punto se aprecia en ambos perfiles una disminución en la concentración hacia la zona más interna del gránulo, donde se sitúa la biomasa anammox.

Esta curva cóncava corrobora la existencia de un proceso de producción de NO en el interior del gránulo. Teniendo en cuenta el espesor calculado a partir de los perfiles de OD para la capa aerobia externa, parece más probable que el NO se esté generando en la capa correspondiente a las BOA, difundiendo a partir de ahí en ambas direcciones. Por una parte, la disminución de la concentración de NO correspondiente con la difusión hacia dentro del gránulo se puede deber tanto a su transformación biológica en otros compuestos intermediarios como



al consumo por parte de alguna ruta metabólica. Por otra parte, en el exterior del gránulo se observa una concentración mayor que en el centro del mismo, un hecho que puede venir motivado bien por la difusión desde la capa aerobia hacia el medio líquido para alcanzar un equilibrio con este, o bien por efectos de desorción generados por la agitación dentro de la cámara de medición que favorecen la salida del NO gas. Los resultados obtenidos indican, por lo tanto, que la producción de NO proviene del proceso de nitrificación, mientras que éste no parece estar relacionado con la zona correspondiente a las bacterias anammox.

En este sentido, la utilización de un sistema de nitrificación parcial-anammox en una sola etapa en vez de un sistema en dos etapas presenta una doble ventaja: por una parte, permite reducir la producción de NO en comparación con el sistema convencional de nitrificación-desnitrificación, donde tiene lugar la nitrificación total y por lo tanto una mayor producción de NO; por otra parte, supone una ventaja frente a un sistema de nitrificación parcial-anammox en dos etapas, ya que al bajar la concentración de NO en la zona correspondiente a las bacterias anammox se evitaría en parte la desorción o liberación del NO desde la biomasa granular, reduciendo la cantidad de este gas generado por el reactor biológico.

3.3 Determinación de la evolución del pH

Los efluentes de digestores anaerobios se caracterizan por tener altas concentraciones de nitrógeno y fósforo, al no eliminarse estos durante el proceso anaerobio de degradación de la materia orgánica, por lo que es frecuente que en este tipo de efluentes se produzcan procesos de precipitación de compuestos de fósforo. En el presente trabajo, el medio utilizado para el estudio de la bio-

masa granular proviene de un reactor piloto que trata la corriente de salida de un digestor anaerobio en una EDAR urbana y, por lo tanto, puede contener concentraciones de compuestos de fósforo que provoquen procesos de precipitación. Este problema puede llegar a ser significativo cuando existen infiltraciones de aguas salinas o cuando se tratan influentes relacionados con agua de mar, como ocurre por ejemplo en las EDAR asociadas a la industria conservera. En la Figura 6 se muestra un ejemplo de formación de precipitados en la biomasa granular ELAN® tratando la salida de un digestor anaerobio en una EDAR de este tipo de industria. En este caso, un análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM, Scanning Electron Microscopy) mostró concentraciones significativas de azufre (S) en el precipitado, con un porcentaje en un rango del 22-46 % en peso.

La precipitación de compuestos asociada a la formación de biomasa granular es un fenómeno común, sobre todo en el caso de influentes con una elevada concentración de sales inorgánicas. En ese caso, el contenido en sales contribuye a la granulación de la biomasa al actuar como precursores o núcleos iniciales de crecimiento (Dapena-Mora 2007; van der Star 2008). La precipitación también puede tener lugar sobre la superficie de gránulos ya conformados, sin embargo si este proceso se da sobre gran parte de la superficie del gránulo podría suponer un problema al impedir el desarrollo correcto de los microorganismos, pudiendo obstaculizar o bloquear la transferencia de sustrato y/o productos en la interfase líquido/gránulo. Si la cantidad de precipitado formado es demasiado elevada la superficie del gránulo se puede ver cubierta de forma que se produzca una pérdida de actividad de la biomasa debido al incremento de la resistencia difusional (Trigo *et al.* 2006), algo especialmente relevante

para sistemas de crecimiento lento, como es el caso de la biomasa anammox.

Durante el proceso se establece un equilibrio de disolución-precipitación que está relacionado con el pH. Para el caso de sistemas operados con biomasa anammox es posible la precipitación de sales de calcio y fósforo que se ve favorecida para valores de pH inferiores a 9, además de la temperatura y la relación Ca:P, en función de la cual se establece el pH óptimo al cual tiene lugar la precipitación (Trigo *et al.* 2006). Teniendo en cuenta esto, la aplicación de microelectrodos de pH permitiría es-

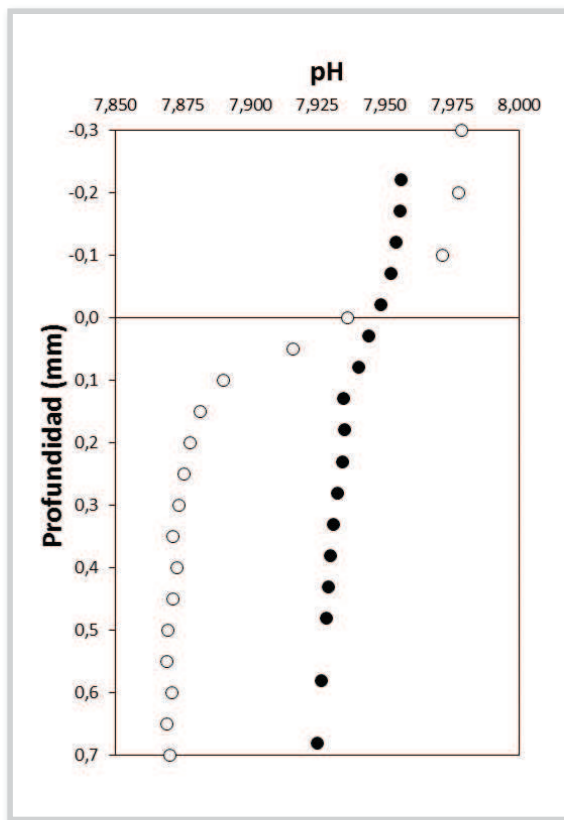




Figura 7: Perfiles de pH en el interior de un gránulo (diámetro de 2,5 mm) para concentraciones de oxígeno de 1 mg O₂ L⁻¹ (●) y 6 mg O₂ L⁻¹ (○)

timar de forma cualitativa la existencia de fenómenos de precipitación, tanto en la superficie de la biomasa granular como en las capas internas. Por otra parte, los microperfiles de pH permitirían confirmar la frontera entre las zonas aerobia y anóxica observada con los microsensors de OD, así como determinar posibles efectos de desnitrificación heterótrofa (producción de alcalinidad, aumento del pH) y nitrificación parcial a nitrito (consumo de alcalinidad, disminución del pH).

Así, se realizaron perfiles de concentración de pH en el interior de los gránulos para diferentes concentraciones de OD en el medio líquido. El ejemplo de la Figura 7 muestra la disminución inicial del pH en el exterior del gránulo, indicando un grosor de la capa externa de difusión de $150 \pm 10 \mu\text{m}$, ligeramente superior al observado en el caso de los microperfiles de OD (Figura 4). Por otra parte en condiciones de baja concentración de OD se observa una disminución menor del pH, mientras que en condiciones de alta concentración se observa una caída más acusada. Esto se debe a que en el segundo caso la mayor penetración de oxígeno provoca un aumento en la actividad nitrificante de las BOA, con un mayor porcentaje de bacterias activas. Con estos perfiles se puede estimar un grosor aproximado de $300 \pm 20 \mu\text{m}$ para la zona intragranular en la cual disminuye el pH (para esas condiciones de oxígeno disuelto) por lo que, teniendo en cuenta la distribución interna determinada a partir de los perfiles de OD, se concluye que la disminución del pH tiene lugar en este caso principalmente durante el proceso



de nitrificación parcial en la capa más externa del gránulo.

4. CONCLUSIONES

Los microsensors permiten obtener perfiles de concentración con los que se pueden caracterizar de forma detallada cualquier tipo de biomasa. Estos perfiles suministran información muy útil para la optimización de la operación macroscópica del sistema, para así desarrollar una estrategia de control avanzada que garantice la calidad del efluente con independencia de las fluctuaciones en las características del agua residual a tratar. En el caso práctico de estudio con biomasa granular ELAN®, los perfiles de oxígeno disuelto permiten definir las diferentes zonas microbianas presentes en el interior del gránulo, al igual que los perfiles de pH, con los que además se pueden evaluar fenómenos de precipitación dentro del gránulo. Por otra parte los perfiles obtenidos

con el microsensor de NO permiten establecer de forma cualitativa qué poblaciones bacterianas están involucradas en la producción y difusión de este gas intermediario, utilizando la distribución determinada anteriormente con los perfiles de OD.

Además, los microsensors también constituyen una potente herramienta aplicable al estudio de cualquier sistema con biomasa bacteriana susceptible de producir gases de efecto invernadero. Conociendo las poblaciones involucradas en la formación de estos gases, se puede definir mediante la técnica de microelectrodos una estrategia adecuada para disminuir su producción. Por otra parte, esta información podría servir también como herramienta para el modelado del proceso, con el cual se podría confirmar el funcionamiento real del mismo y predecirlo frente a cambios en las condiciones de operación.

AGRADECIMIENTOS

Esta publicación está enmarcada dentro del proyecto ITACA, financiado por el Ministerio de Economía de España a través del programa CDTI INNPRONTA (2011/CE525). Los miembros de la USC pertenecen al Grupo de Referencia Competitivo de Galicia GRC 2013-032, programa co-financiado por FEDER.

5. REFERENCIAS

- Dapena-Mora A. (2007). Wastewater treatment by anammox process: A short-circuit in the natural nitrogen cycle. Doctoral Thesis (Chemical Engineering), University of Santiago de Compostela, Santiago.
- de Kreuk M., Heijnen J. J. and van Loosdrecht M. C. M. (2005). Simultaneous COD, nitrogen, and phosphate removal by aerobic granular sludge. *Biotechnology and Bioengineering* 90(6), 761-9.
- Kampschreur M. J., Poldermans R., Kleerebezem R., van der Star W. R. L., Haarhuis R., Abma W. R., Jetten M. S. M. and van Loosdrecht M. C.



EVALUACIÓN MICROSCÓPICA DE BIOPELÍCULAS MEDIANTE LA APLICACIÓN DE MICROSENSORES: CASO ELAN®

M. (2009). Emission of nitrous oxide and nitric oxide from a full-scale single-stage nitrification-anammox reactor. *Water Science and Technology* 60(12), 3211-7.

Kampschreur M. J., van der Star W. R. L., Wielders H. A., Mulder J. W., Jetten M. S. M. and van Loosdrecht M. C. M. (2008). Dynamics of nitric oxide and nitrous oxide emission during full-scale reject water treatment. *Water Research* 42(3), 812-26.

Lee W. H., Wahman D. G. and Pressman J. G. (2013). Amperometric carbon fiber nitrite microsensor for in situ biofilm monitoring. *Sensors and Actuators B: Chemical* 188, 1263-9.

Li Y. and Liu Y. (2005). Diffusion of substrate and oxygen in aerobic granule. *Biochemical Engineering Journal* 27(1), 45-52.

Morales N., Val del Río, A., Vázquez-Padín J. R., Méndez R., Mosquera-Corral A. and Campos J. L. (2015a). Integration of the Anammox process to the rejection water and main stream lines of WWTPs. *Chemosphere*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.058>. Volume 140, December 2015, Pages 99-105

Morales N., Val del Río, A., Vázquez-Padín, J.R., Gutiérrez, R., Fernández-González, R., Icaran, P., Rogalla, F., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Méndez, R. (2015b). Influence of dissolved oxygen concentra-

tion on the start-up of the anammox based process: ELAN®. *Water Science and Technology* (aceptado). <http://dx.doi.org/10.2166/wst.2015.233>

Revsbech N. P. (1989). An oxygen microsensor with a guard cathode. *Limnology and Oceanography* 34(2), 474-8.

Revsbech N. P. and Jorgensen B. B. (1986). Microelectrodes: Their use in microbial ecology. *Advances in Microbial Ecology* 9, 293-352.

Schreiber F., Polerecky L. and de Beer D. (2008). Nitric oxide microsensor for high spatial resolution measurements in biofilms and sediments. *Analytical Chemistry* 80(4), 1152-8.

Trigo C., Campos J. L., Garrido J. M. and Méndez R. (2006). Start-up of the Anammox process in a membrane bioreactor. *Journal of Biotechnology* 126(4), 475-87.

van der Star W. R. L. (2008). Growth and metabolism of anammox bacteria. Delft University.

Vázquez-Padín J.R., Mosquera-Corral A., Campos J. L., Méndez R. and Revsbech N.P. (2010). Microbial community distribution and activity dynamics of granular biomass in a CANON reactor. *Water Research* 44(15), 4359-70.

Vázquez-Padín J. R., Morales, N., Icaran, P., Gutiérrez, R., Fernández

González, R., Rogalla, F., Val del Río, A., Campos, J.L., Mosquera-Corral, A., Méndez, R. (2014). Implantación del sistema ELAN® para la eliminación sostenible de nitrógeno en la línea de retorno de la EDAR de Guillarei (Tui, Pontevedra). *RETEMA, Revista Técnica de Medioambiente*, nº Mayo-Junio 2014, páginas 60-66.

Vlaeminck S. E., Cloetens L. F. F., Carballa M., Boon N. and Verstraete W. (2008). Granular biomass capable of partial nitrification and anammox. *Water Science and Technology* 58(5), 1113-20.

Vlaeminck S. E., Terada A., Smets B. F., De Clippeleir H., Schaubroeck T., Bolca S., Demeestere L., Mast J., Boon N., Carballa M. and Verstraete W. (2010). Aggregate Size and Architecture Determine Microbial Activity Balance for One-Stage Partial Nitrification and Anammox. *Applied and Environmental Microbiology* 76(3), 900-9.

Volcke E. I. P., Picioreanu C., De Baets B. and van Loosdrecht M. C. M. (2012). The granule size distribution in an anammox-based granular sludge reactor affects the conversion - Implications for modeling. *Biotechnology and Bioengineering* 109(7), 1629-36.

Xiao P. Y., Cai Q., Zhang D. J., Yao Z. B. and Lu P. L. (2014). Characteristics of nitrogen removal and nitrous oxide production in CANON process. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 89(4), 552-8.



MASTER UNIVERSITARIO EN GESTIÓN, TRATAMIENTO Y VALORIZACIÓN DE RESIDUOS ORGÁNICOS

PREINSCRIPCIÓN

1º Plazo: Del 26 de marzo al 3 de julio de 2015.

2º Plazo: Del 24 de julio al 9 de septiembre de 2015.

Preinscripción on-line en: <http://estudios.umh.es/>

Web y email del título oficial: <http://masterresiduos.edu.umh.es/> • c.paredes@umh.es

Master oficial

El Master incluido dentro de los estudios del Espacio Europeo de Educación Superior, verificado por ANECA y con registro en el Ministerio de Educación.

Master con referencia científico-técnica

Master interuniversitario con sede en la Universidad Miguel Hernández de Elche.

Plan de Estudios

La modalidad de aprendizaje de este Master es semi-presencial con una duración de un año y una dimensión docente de 60 créditos ECTS.

Este Master está auspiciado por la Red Española de Compostaje y el profesorado participante procede de diferentes universidades públicas, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y de Organismos Autónomos de Investigación.

